



Livro de resumos

ENCONTRO VIRTUAL DO GRUPO ARTHROMINT 2020
2ª EDIÇÃO

Organização do Livro: Daniele Castro | XXIII Arthromint |
11 a 12 de novembro de 2020

Livro de Resumos do
ENCONTRO VIRTUAL DO GRUPO
ARTHROMINT
2ª EDIÇÃO

Encontro realizado virtualmente em:

11 a 12 de novembro de 2020

Coordenadores do Encontro Virtual do Grupo Arthromint:
Andréa Fogaça (USP) e Itabajara da Silva Vaz Junior (UFRGS)

Colaboradores:

Daniele Pereira de Castro (IOC)

Secretaria:

Emerson de Avelar

Home page:

<http://www.grupoarthromint.net/main>

Os resumos contidos nesta publicação são de inteira responsabilidade de seus autores.

Financiado por:

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Entomologia
Molecular

Apresentação

O grupo de estudos Arthromint (Artrópodes e Helmitos) teve origem a partir de discussões entre pesquisadores durante o XXIV Encontro Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica (SBBq) em 1995. O grupo foi efetivamente implantado em 1997, ano em que começaram as reuniões anuais. A ideia original que tentamos conservar até hoje é o estímulo ao contato mais direto entre pesquisadores seniores com os estudantes, tanto de Pós-graduação como os de Iniciação Científica de diversas instituições brasileiras. Além disso, a presença de técnicos e agentes envolvidos com a promoção e a melhoria dos serviços de saúde do país tem apontado para a possibilidade adicional de integração da pesquisa acadêmica com a prática da saúde.

O encontro do grupo Arthromint é hoje um dos principais eventos científicos da área de entomologia e helmintologia realizado regularmente no Brasil. Abrange as mais diversas áreas de pesquisa, com destaque para a fisiologia, genética, evolução, ecologia, controle, sistemática, epidemiologia, interação parasito/hospedeiro, comportamento, entomologia molecular, dentre outras.

O Arthromint é uma excelente oportunidade para troca de conhecimento entre os estudantes e pesquisadores, o que tem gerado um efeito positivo nas mais diversas pesquisas. Em mesas de discussões os estudantes e pesquisadores pós doutores apresentam seus trabalhos que são discutidos com os demais colegas e com pesquisadores/docentes.

No ano de 2020 e impacto da pandemia do Covid-19 sobre o sistema de saúde brasileiro, seguimos as recomendações do Ministério da Saúde e OMS, optamos pelo adiamento de nosso encontro para garantir a segurança de todos os participantes. Mas para não ficarmos sem nos encontrarmos, foi criada a versão online para 2020: Encontro Virtual do Grupo Arthromint - com palestras e as mesas aleatórias virtuais. Nesse Livro de Resumo apresentamos o resumo dos trabalhos discutidos nas mesas de discussões aleatórias do Encontro Virtual do Grupo Arthromint de 2020 2ª Edição.

Comissão Organizadora

A organização do Arthromint Virtual da 1ª edição de 2020 foi realizada em maio e a 2ª edição em novembro. Em ambas as edições do Arthromint Virtual foram coordenadas por Andréa Fogaça (USP) e Itabajara da Silva Vaz Junior (UFRGS).

O evento contou também com os colaboradores Daniele Pereira de Castro (IOC) e na secretaria, Emerson de Avelar.

Dia	Horário	Atividade
	09:30h – 10:00h	Palestra Dr. Guilherme Marcondes Klafke – Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Eldorado do Sul, RS, Brasil Resistência a pesticidas em carrapatos
11/11 (quarta-feira)	11:00h – 12:00h	Palestra Dr. Michalis Kotsyfakis – Biology Centre CAS, Institute of Parasitology, Laboratory of Genomics and Proteomics of Disease Vectors, České Budějovice, República Tcheca Host homeostasis regulators of tick origin
	14:00h – 17:00h	Mesas Aleatórias (1ª Sessão)
12/11 (quinta-feira)	09:30h – 12:30h	Atividade: Mesas Temáticas
	14:30h – 17:00h	Mesas Aleatórias (2ª Sessão)

Sumário

Apresentação	2
Comissão Organizadora	3
Mesas Temáticas:	6
RESUMOS DOS PALESTRANTES	13
RESUMOS DOS PARTICIPANTES	16
GENÔMICAS	17
Daniele Silva de Oliveira Elisa Beatriz de Oliveira John Stephanie S de Carvalho	
BIOLOGIA CELULAR	21
Angélica Fernandes Arcanjo Cintia Nogueira Daniel Costa Santos João Vítor Costa da Silva	
BIOQUÍMICA	26
Carlos Renato de Oliveira Daumas Filho Daniela Saar Arêdes Fernando Allan Abreu Silva Giulia Scomparim Guilherme dos Santos Machado Lucas Gomes Bezerra Maiara do Valle Faria Gama Maria Fernanda Carvalho de Araujo Maria Luísa Corrêa Sampaio Nathália X Silva Rosângela Aparecida dos Santos Passos Rodrigo Valladão Samara Santos de Araujo Suellen Silva Cabral	
CONTROLE	41
Aurea Vieira Teixeira Bruno Gomes Gabriela A Sabadin Jean Paulo dos Santos Costa Jéssica E Fonseca João P. D. Simoni Juliana Welbert Kauara Brito Campos Luís Felipe Costa Ramos Luís Fernando Parizi Marina Dutra Lanzaro Orlando Salvador Neto Raul Opolinário Rayssa Oliveira Araújo	
EPIDEMIOLOGIA/ECOLOGIA	56
Cristina dos Santos Ingrid Marciano Alvarenga	

Priscilla Elias Ferreira da Silva	
FISIOLOGIA	60
Cíntia Melo dos Santos	
Jéssica Waldman	
Laura Costa Alvarez	
Mariana Cardoso Costa	
Mariana M. de Andrade	
Marina Amaral Xavier ¹	
Nathália Faro de Brito	
Tainá Neves Ferreira	
Ulli Barros Oliveira	
INTERAÇÃO PATÓGENO-VETOR	70
Bia Silvestre	
Erika Moutinho Costa	
Fernanda A. M. da Silveira	
Jessica Coraiola Nevoa	
Lúcia Aline Moura Reis	
INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO	76
Marcelly Bastos Nassar	
MICROBIOTA	78
Daniel B. Pavanelo	
João Miranda da Costa Baltar	
Lidiane Nascimento	
SISTEMA IMUNE	82
Cecília Stahl Vieira	
Ludmila Pereira	
Mylena MM Garcia	
Valdorion José da Cunha Klein-Junior	
PARASITOLOGIA	87
Giulliana Galdini Costa	

Mesas Temáticas:

ARTRÓPODES VETORES DE INTERESSE VETERINÁRIO: ONDE ESTAMOS E PARA ONDE PODEMOS IR

Coordenadores:

- Melissa Florêncio – UFRRJ
- Patricia Fampa Negreiros Lima – UFRRJ

O grupo de artrópodes vetores de importância veterinária é muito heterogêneo, incluindo carrapatos, e insetos. Os danos causados por esses organismos são imensuráveis e vão desde grandes prejuízos em ambientes de criação até a transmissão de agentes patogênicos para animais de companhia. Quando comparados à saúde humana, o mundo de vetores de interesse veterinário abrange um universo muito maior de patógenos que infectam muitas espécies de hospedeiros diferentes, tendo que levar em conta ainda os que transmitem patógenos causadores de zoonoses mas que também infectam seres humanos. As espécies ectoparasitas no cenário veterinário são de relevância em Saúde Única por conta justamente de interligar saúde humana, veterinária e meio ambiente. As limitações no controle desses vetores sugere a urgência no desenvolvimento de novas estratégias alternativas aos pesticidas convencionais, além da caracterização de vetores de patógenos emergentes ou re-emergentes e o desenvolvimento de ferramentas moleculares para entender melhor a fisiologia desses organismos. Ferramentas de genômica funcional, como obtenção de transcriptomas e proteomas, análise quantitativa de expressão gênica e silenciamento gênico por RNA de interferência já estão disponíveis para diferentes espécies de carrapato. Entretanto, os estudos para outros vetores, e aqui focaremos em insetos da ordem Diptera, são predominantemente de cunho epidemiológico e clínico. Apresentaremos algumas perguntas, principalmente relacionadas à fisiologia e interação com patógenos desses importantes vetores, que merecem ser respondidas.

BIOLOGIA DOS OVOS DE INSETOS: MUITO MAIS FASCINANTES DO QUE PARECEM

Coordenadores:

- Gustavo Lazzaro Rezende – UENF

Os ovos de insetos são um estágio de vida fascinante por conta dos desafios que a sua imobilidade impõe. Por serem pequenos e ficarem muitas vezes escondidos, são um estágio de vida que de forma geral é negligenciado pelos pesquisadores. O enciclopédico livro de Howard Hinton contendo mais de 1.000 páginas é datado de 1981 e muitos avanços no tema ocorreram desde então. O estudo dos ovos é importante para o controle de insetos vetores e pragas, bem como o entendimento de processos de biologia do desenvolvimento importantes até para humanos, além de

serem um excelente modelo para se testar e entender processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Apresentação de slides sobre estudos recentes realizados por grupos brasileiros e estrangeiros, sobre os seguintes temas: estudo da embriogênese e fisiologia de insetos "não- modelo", relações hídricas dos ovos, ecologia e evolução do tamanho e forma de ovos de mais de 6,700 espécies, padrões de coloração de ovos (coloração facultativa, cores aposemáticas, disruptivas, protetoras contra radiação UV), plasticidade fenotípica em ovos, etc.

COMPORTAMENTO EM INSETOS VETORES

Coordenadores:

- Luciana Ordunha Araripe – FIOCRUZ

Aspectos comportamentais de insetos vetores podem ser importantes determinantes da sua capacidade vetorial, com efeito sobre a expansão de doenças em populações humanas. Dentre esses aspectos podemos citar a busca por hospedeiros, a fase de atividade/repouso, o comportamento reprodutivo e a busca por sítios de oviposição. Encontrar maneiras de quantificar essas características e entender como sua variação é regulada geneticamente e ambientalmente constituem os objetivos básicos do estudo do comportamento, com a finalidade de contribuir para o melhoramento de estratégias de controle desses insetos. Nesta mesa temática vamos falar da importância do estudo do comportamento, citando trabalhos clássicos e recentes e discutindo novas perspectivas.

DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Coordenadores:

- Itabajara da Silva Vaz Junior – UFRGS

As doenças infecciosas sempre foram uma das principais causas da mortalidade e morbidade humana e animal. As vacinas são o meio mais prático e barato para controlar doenças. Como exemplos da eficiência das vacinas, podemos citar a erradicação da varíola humana e a quase erradicação da paralisia infantil, além do controle de diversas enfermidades. Classicamente, as vacinas foram baseadas em organismos atenuados, inativados ou partes de organismos. Grande parte das vacinas disponíveis e bem-sucedidas foi desenvolvida de modo empírico, antes de termos uma compreensão dos mecanismos imunes envolvidos. Nos últimos 50 anos grandes avanços foram obtidos no desenvolvimento de vacinas, o que resultou em novos produtos comerciais. Mais recentemente, foram desenvolvidas vacinas com antígenos

particulados, recombinantes, sintéticos e, mais recentemente, baseada na inoculação de DNA ou RNA. O uso destes antígenos, por ser menos imunogênico que organismos inteiros, levou a uma maior necessidade no estudo e uso de adjuvantes e co-estimuladores, que aumentam a resposta imune associada à vacina. O conhecimento dos mecanismos envolvidos na resposta imune humoral e celular também é fundamental para a melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na proteção, e também no desenvolvimento de novas vacinas. Nos últimos anos, a compreensão da apresentação e processamento de antígenos e da regulação da resposta imune forneceu bases teóricas para o desenvolvimento de novas vacinas. Devido ao COVID-19, o processo de desenvolvimento, testes clínicos de vacinas e uso de vacinas está sendo acompanhado, pela população, em tempo real. Entretanto, as informações reais estão acompanhadas por controvérsias e desinformação, utilizada com fins políticos e geopolíticos. Atualmente, centenas de projetos de pesquisas para o desenvolvimento e produção de novas vacinas estão sendo realizados em diversos países. Entretanto, a transformação de conhecimentos básicos em vacinas comerciais não é rápida e nem fácil, como consequência existe um grande número de doenças que não podem, ainda, serem controladas com o uso de vacinas. As doenças infecciosas sempre foram uma das principais causas da mortalidade e morbidade humana e animal. As vacinas são o meio mais prático e barato para controlar doenças. Como exemplos da eficiência das vacinas, podemos citar a erradicação da varíola humana e a quase erradicação da paralisia infantil, além do controle de diversas enfermidades. Classicamente, as vacinas foram baseadas em organismos atenuados, inativados ou partes de organismos. Grande parte das vacinas disponíveis e bem-sucedidas foi desenvolvida de modo empírico, antes de termos uma compreensão dos mecanismos imunes envolvidos. Nos últimos 50 anos grandes avanços foram obtidos no desenvolvimento de vacinas, o que resultou em novos produtos comerciais. Mais recentemente, foram desenvolvidas vacinas com antígenos particulados, recombinantes, sintéticos e, mais recentemente, baseada na inoculação de DNA ou RNA. O uso destes antígenos, por ser menos imunogênico que organismos inteiros, levou a uma maior necessidade no estudo e uso de adjuvantes e co-estimuladores, que aumentam a resposta imune associada à vacina. O conhecimento dos mecanismos envolvidos na resposta imune humoral e celular também é fundamental para a melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na proteção, e também no desenvolvimento de novas vacinas. Nos últimos anos, a compreensão da apresentação e processamento de antígenos e da regulação da resposta imune forneceu bases teóricas para o desenvolvimento de novas vacinas. Devido ao COVID-19, o processo de desenvolvimento, testes clínicos de vacinas e uso de vacinas está sendo acompanhado, pela população, em tempo real. Entretanto, as informações reais estão acompanhadas por controvérsias e desinformação, utilizada com fins políticos e geopolíticos. Atualmente, centenas de projetos de pesquisas para o desenvolvimento e produção de novas vacinas estão sendo realizados em diversos países. Entretanto, a transformação de conhecimentos básicos em vacinas comerciais não é rápida e nem fácil, como consequência existe um grande número de doenças que não podem, ainda, serem controladas com o uso de vacinas.

DIGESTÃO EM INSETOS

Coordenadores:

- Adriana Rios Lopes – Instituto Butantan
- Fernando Ariel Genta – IOC

Oficina de discussão em grupos de aspectos fundamentais e projetos sobre a digestão de aracnídeos e insetos. O melhor trabalho receberá um prêmio a ser divulgado durante a sessão.

EPIGENÉTICA EM PARASITAS HELMINTOS E SEUS HOSPEDEIROS: O QUE, COMO E PARA QUE?

Coordenadores:

- Fernanda Janku Cabral – UNICAMP

Os mecanismos epigenéticos na interação parasita-hospedeiro; os métodos experimentais para o estudo (ChIP, ChIP-Seq e espectrometria de massas) e qual a consequência do conhecimento desses mecanismos na patogênese, infecção, progressão do ciclo de vida e manutenção do parasitismo e perspectivas para tratamento e diagnóstico

INTERAÇÃO DE TRIPANOSSOMATÍDEOS COM ARTRÓPODES

Coordenadores:

- Angela Hampshire de Carvalho Santos Lopes – UFRJ

Sabidamente, milhões de pessoas adquirem doenças transmitidas por artrópodes todos os anos. No caso de tripanossomatídeos, milhões de pessoas são infectadas com *Leishmania* spp. (várias leishmanioses), *Trypanosoma brucei* (tripanossomíases africanas, que podem causar doenças e mortes em gado, cavalos e humanos (doença do sono)) e *Trypanosoma cruzi* (doença de Chagas). Além das doenças animais e humanas, os tripanossomatídeos podem causar doenças em plantas (*Phytomonas* spp.). Assim, o estudo de aspectos biológicos, morfológicos, bioquímicos e genéticos das interações entre tripanossomatídeos com seus hospedeiros insetos é de suma importância, já que um melhor entendimento sobre essas interações pode levar ao desenvolvimento métodos de controle da transmissão desses protozoários. Pelo exposto, poderão ser submetidos à esta mesa redonda, trabalhos que versem sobre

variados aspectos das interações de quaisquer trypanossomatídeos com seus hospedeiros insetos.

MINIATURIZAÇÃO DOS ORGANISMOS MODELO: NEMATOIDES COMO EXEMPLO

Coordenadores:

- Carlos Eduardo Winter – USP

A manutenção do organismo modelo que usamos em nossas pesquisas pode consumir tempo e dinheiro. Em épocas de ‘vacas magras’ responder questões e testar hipóteses em ‘organismos pequenos’; pode ser surpreendentemente eficiente e barato. Foi assim que a Biologia Molecular foi estabelecida. As perguntas sobre os mecanismos moleculares comuns a todos os seres vivos (qual a natureza química do material genético? Como são produzidas as proteínas? etc.) foram inicialmente respondidas utilizando organismos muito simples (vírus e bactérias). Uma vez estabelecidos esses princípios, perguntas mais sofisticadas precisaram ser respondidas (como se estabelece o padrão durante a embriogênese? Por que algumas células morrem durante o desenvolvimento? Como ocorre o controle da expressão gênica que permite a diferenciação celular? Como funciona o sistema nervoso? etc.) e organismos mais complexos passaram a ser utilizados. Nesta mesa os participantes poderão discutir como poderiam responder suas perguntas experimentais utilizando *Caenorhabditis elegans*, ou outros nematóides de vida livre, como modelos biológicos.

MONITORAMENTO DE COMPORTAMENTO COMPLEXO DE VETORES COM O SOFTWARE ETHOFLOW EM AMBIENTES HOMOGÊNEOS E HETEROGÊNEOS BASEADO EM INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Coordenadores:

- Gustavo Ferreira Martins – UFV
- Rodrigo Bernardes – UFV

Nesta mesa, será discutida análise de comportamento animal, com foco em insetos no programa Ethoflow (DOI: 10.1101/2020.07.23.218255) . Serão tratados temas como mensurações cinemáticas do comportamento, heurísticas para geração de dados, módulos de inteligência artificial para avaliação de comportamento em ambiente heterogêneo e análise de comportamento complexo.

O SISTEMA IMUNE DE INSETOS NA INTERAÇÃO COM OS PATÓGENOS

Coordenadores:

- Cecilia Stahl Vieira – IOC
- Daniele Pereira de Castro – IOC

Com o avanço do conhecimento do sistema imunológico dos insetos, percebemos sua complexidade, especificidade e até durabilidade (memória). Dessa forma, novos fatores associados ao desenvolvimento de patógenos nos insetos vetores estão sendo desvendados. Além da ação da microbiota que possui um papel importante na imunidade basal do inseto afetando assim o desenvolvimento do patógeno. Portanto, pretendemos nessa mesa temática estimular os participantes a compartilhar conhecimento sobre os principais avanços na pesquisa da interação patógenos, insetos e microbiota no contexto do sistema imune nos diferentes modelos.

O USO DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL EM ARTRÓPODES HEMATÓFAGOS

Coordenadores:

- Simone Michaela Simons – Instituto Butantan

Muitas espécies de animais hematófagos são mantidos e criados em laboratórios para diversos fins de pesquisa, como taxonomia, ecologia, biologia, infecção experimental de microorganismos, métodos de controle e bioprospecção. E que são alimentados em animais convencionais de laboratório, como coelhos e roedores. Contudo, com a evolução do pensamento e comportamento ético em relação ao uso de animais em experimentação, que está ocorrendo na atualidade, tem-se procurado desenvolver técnicas que promovam métodos alternativos de alimentação, que visam substituir ou diminuir em pelo menos em algum estágio do ciclo de vida (dos artrópodes hematófagos) o uso de animais vivos como hospedeiros.

RESISTÊNCIA A INSETICIDAS

Coordenadores:

- Ademir de Jesus Martins Junior – IOC

Embora tenhamos novas e promissoras estratégias para controle de vetores, os inseticidas e acaricidas têm o potencial de rapidamente diminuir a densidade destes vetores, quando corretamente aplicados. Contudo, a resistência aos compostos permissivos para uso em saúde pública é uma ameaça global, especialmente em mosquitos dos gêneros Aedes e Anopheles. Portanto, precisamos melhor entender o fenômeno da resistência, não somente pela beleza de sua natureza biológica, mas

também para que possamos evitar o desperdício de uma importante ferramenta contra os vetores. Nesta edição online do Arthromint vamos discutir teorias e exemplos de transformações fisiológicas que levam populações naturais e linhagens de laboratório ao status de resistentes a inseticidas, quando submetidas à pressão de seleção com estes compostos. Exemplos de seus estudos serão muito bem vindos para serem discutidos entre os colegas participantes desta mesa.

RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA EM ANIMAIS DE CRIAÇÃO

Coordenadores:

- Josiana Gomes de Andrade –UENF

Doenças causadas por nematoides parasitas representam perdas econômicas na criação de animais devido aos danos gerados por hábitos hematófagos ou por obstruções intestinais. Dessa forma, a presença elevada desses nematoides podem acarretar no desenvolvimento de anemia, contribuindo na redução do peso dos animais, além de provocarem diarreias e esfoliações da mucosa do trato digestório. No combate às nematodioses algumas classes de anti-helmínticos, como benzimidazóis, imidazotiazóis e lactonas macrocíclicas, vêm sendo utilizadas de formas inadequadas e descontroladas, acarretando na resistência à essas drogas. Nessa mesa temática serão apresentadas algumas espécies de nematoides parasitas e os danos causados por elas em animais de criação, assim como o modo de ação das principais classes de anti-helmínticos e seus mecanismos de geração de resistências. Serão apresentadas ainda, algumas formas de diagnósticos de resistência anti-helmíntica e as alternativas que vem sendo pesquisadas para o controle de nematodioses.

RESUMOS DOS PALESTRANTES

Pesticide resistance in ticks

Guilherme Marcondes Klafke

Departamento de Pesquisa Agropecuária. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. Centro de Pesquisa em Saúde Animal (IPVDF), Eldorado do Sul, RS, Brazil.

Since the late 19th century chemical acaricide treatment of cattle remains the main method of controlling the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, worldwide. Populations of *R. microplus* have developed resistance to every acaricide chemical class since the first report of resistance to arsenicals in the 1940s. Synthetic pyrethroids, organophosphates, amitraz, fipronil, macrocyclic lactones, and fluazuron are generally marketed in Brazil and resistance to all these chemical classes have already been reported in the states of Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Goiás and Mato Grosso do Sul. In a scenario of absence of novel molecules with different modes of action, multiple resistance to acaricides is the major obstacle for sustainable *R. microplus* control. Good practices of acaricide treatments and resistance detection are the core of sustainable control ticks. Resistance can be diagnosed with toxicological bioassays that are simple, low-cost laboratory procedures aimed at the detection of resistance individuals (adults or larvae) in a given tick population. Bioassays have the disadvantage of taking four to six weeks to completion, and time can be critic for decision making in terms of acaricide choice and treatment of animals. Molecular detection in the other hand can be performed quickly with any development stage of the tick. However, it depends on high-cost equipment and there are no molecular markers for all the acaricides available in the market. In the past ten to twenty years there was a remarkable increase in the number of studies describing the mechanisms of resistance to acaricides in *R. microplus* and other tick species. PCR-based techniques are already available to detect mutations associated to resistance to synthetic pyrethroids, amitraz and fipronil. The mechanism of resistance to macrocyclic lactones seems to be related to overexpression of ATP-binding cassette transporters, however, a molecular marker of macrocyclic lactone resistance detection is yet to be developed. Further studies are needed to comprehend and develop markers associated with metabolic resistance. This information can be used to develop a high-throughput method to genotype and detect allele-specific mutations in cattle tick populations to inform acaricide resistance management strategies.

Financial support: CNPq, FAPERGS, CAPES, FAPESP, INCT-EM, USDA-ARS, ORISE.

Host homeostasis regulators of tick origin

Michalis Kotsyfakis

Biology Centre CAS, Institute of Parasitology, České Budějovice Czech Republic.

We demonstrate that the hard tick *Ixodes Ricinus* serves as a model organism to apply a systems-based and multimodal approach to discover tick effectors determining blood feeding success. The produced data, in turn, forms the conceptual basis to understand which vertebrate host proteolytic cascades are regulated by tick salivary secretion at sites of tick infestation and how salivary constituents facilitate blood meal uptake and successful completion of the tick lifecycle. Another goal is to test the pharmacological action(s) of recombinant tick salivary proteins and non-coding RNAs (long non-coding and microRNAs) and their mechanism of action in the vertebrate host at the molecular, cellular, and organismal level to expedite drug development.

Our overall aim is to:

- i) Explore basic mechanisms of tick blood feeding success as the conceptual basis for the future development of novel methods/tools (e.g., anti-tick vaccines and diagnostic kits to monitor exposure of vertebrate hosts to arthropod disease vectors) to control tick populations.
- ii) Demonstrate the pharmacological action of tick salivary proteins and non-coding RNAs in the regulation of vertebrate host homeostasis (hemostasis, vascular biology, immunity, neuromodulation) and test their potential for drug development, ideally in the near future.

RESUMOS DOS PARTICIPANTES

GENÔMICAS

Análise proteômica das antenas de *Rhodnius prolixus*

**Oliveira, D.S.¹; Brito, N.F. ¹; Nogueira, F.C.S. ¹; Moreira, M.F. ¹; Leal, W.S.²;
Soares, M.R. ¹; Melo A.C.A.¹**

¹DBq-IQ-UFRJ; ² Universidade da Califórnia-Davis, Departamento de Biologia Molecular e Celular, Davis, CA, USA

O inseto *Rhodnius prolixus* é um dos vetores da doença de Chagas. Nos últimos anos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado pesquisas científicas destinadas ao controle de insetos vetores, que não agridam o meio ambiente. Neste contexto, o estudo de proteínas envolvidas na olfação pode ser um potencial alvo para interromper a comunicação química de insetos. Quando as moléculas de odor alcançam as antenas, elas se ligam às proteínas ligadoras de odor (OBPs) e são transportadas através da linfa sensilar até atingir os receptores olfativos (ORs). Técnicas que possam interferir com o sistema olfativo e perturbar a percepção de mensagens químicas podem ser desenvolvidas para o controle destes insetos. O objetivo deste trabalho foi descrever o perfil proteômico das antenas de fêmeas (AF) e machos (AM) de *R. prolixus*, para desvendar todo o repertório de proteínas olfativas deste inseto. Usando as abordagens proteômica *shotgun* e eletroforese em gel bidimensional seguidas por nano cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem LTQ Velos Orbitrap, foram identificadas 581 proteínas únicas nas antenas. Dentre estas, foram identificadas proteínas diretamente envolvidas com a olfação, incluindo 17 OBPs, 6 proteínas quimiossensoriais, 2 ORs, 3 receptores transitórios de canais de cátion e 1 receptor gustativo. Proteínas envolvidas em funções celulares gerais, como precursores metabólicos, geração de energia e catabolismo foram expressos em níveis elevados. Além disso, proteínas que participam da transdução do sinal, ligação de íons e resposta ao estresse, atividade de quinase e oxidoreductase foram identificadas nas antenas de ambos os sexos. Este estudo descreve, pela primeira vez, o perfil proteico das antenas de *R. prolixus*, abrindo novas perspectivas de pesquisa para a área de comunicação química em insetos vetores. Esses achados não apenas aumentam nossa compreensão do processo olfativo em espécies de triatomíneos, mas também identificam potenciais alvos moleculares a serem explorados para o controle populacional de tais insetos vetores.

Palavras-chave: antena, *Rhodnius prolixus*, proteômica, OBP, olfação.

Apoio financeiro: CNPq, INCTEM/CNPq, FAPERJ e CAPES. Área: Ecologia química de insetos.

Venomics and structural biology studies on peptides derived from *Bothriurus bonariensis* venom

Elisa Beatriz de Oliveira John¹; Marina Amaral Xavier¹; Célia Regina Carlini², Carlos Termignoni¹

¹Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre/Brazil; ²Instituto do Cérebro, PUCRS, Porto Alegre/Brazil

Bothriurus bonariensis (Bothriuridae) is a scorpion species with a broad distribution in the Pampas biome in South America, causing low severity sting accidents each year. Possibly due to minor clinical interest, *B. bonariensis* venom has not been fully characterized concerning its molecular composition and may constitute an underestimated source of compounds with e. g. antimicrobial and insecticidal activities, valuable in drug discovery research. This work intends to provide an analysis of the components in the venom of specimens captured in Southern Brazil, using transcriptomics and proteomics approaches (collectively called "venomics"), as well as molecular modeling, in order to find molecules with biotechnological applications. The functional annotation of the obtained sequences through RNA-seq revealed the presence of many ion channel modulators, proteases, protease inhibitors, and antimicrobial peptides among the transcripts (alongside with proteins implicated in common cellular processes important for venom gland function), indicating the potential of this venom as a source of molecules with biotechnological relevance. This transcript database was used as basis for the annotation of peptides in mass spectrometry measurements (top-down proteomics) of the venom. For the toxins identified so far, several peptides were investigated using homology modeling, revealing some structural motifs that can be used to predict their activities. These results provide valuable information concerning the diversity of molecules present in *B. bonariensis* venom, encouraging further exploration of venoms from neglected taxa in the prospecting of novel compounds.

Keywords: venom gland transcriptome, scorpion venom, *Bothriurus bonariensis*

Acknowledgments: CNPq, CAPES and FAPERGS

***Aedes aegypti* post-emergence transcriptome: Unveiling the molecular basis for the hematophagic and gonotrophic capacitation**

Stephanie S de Carvalho^{1,2}; Cynara de Melo Rodovalho³; Alessandro Gaviraghi¹; Maria Beatriz S Mota²; Willy Jablonka¹; Carlúcio Rocha-Santos³, Rodrigo D. Nunes^{1#}; Thayane da Encarnação Sá-Guimarães²; Daniele S Oliveira²; Ana C A Melo^{2,4}; Monica F Moreira^{2,4}; Patrícia Fampa⁵; Marcus F. Oliveira^{1,4}; Mario Alberto C da Silva-Neto^{1,4,†}; Rafael D Mesquita^{2,4}; Georgia C Atella^{1,4}.

1 Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis/UFRJ, RJ -Brazil

2 Departamento de Bioquímica, Instituto de Química/UFRJ, RJ - Brazil

3 Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores/ IOC, RJ – Brazil

4 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular/UFRJ, RJ - Brazil

5 Departamento de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde/ UFRJ, RJ - Brazil

#Current address: Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland - USA

†*in memoriam*

The adult females of *Aedes aegypti* mosquitoes are facultative hematophagous insects but they are unable to feed on blood right after pupae emergence. The maturation process that takes place during the first post-emergence days, hereafter named hematophagic and gonotrophic capacitation, comprises a set of molecular and physiological changes that prepare the females for the first gonotrophic cycle. Notwithstanding, the molecular bases underlying mosquito hematophagic and gonotrophic capacitation remain obscure. Here, we investigated the molecular and biochemical changes in adult *Ae. aegypti* along the first four days post-emergence, prior to a blood meal. We performed a RNA-Seq analysis of the head and body, comparing male and female gene expression time courses. A total of 811 and 203 genes were differentially expressed, respectively in the body and head, and both body parts showed early, mid, and late female-specific expression profiles. Female-specific up-regulation of genes involved in muscle development and the oxidative phosphorylation pathway were remarkable features observed in the head. Functional assessment of mitochondrial oxygen consumption in heads showed a gradual increase in respiratory capacity and ATP-linked respiration as a consequence of induced mitochondrial biogenesis and content over time. This pattern strongly suggests that boosting oxidative phosphorylation in heads is a required step towards blood sucking habit. Several salivary gland genes, proteases, and genes involved in DNA replication and repair, ribosome biogenesis, and juvenile hormone signaling were up-regulated specifically in the female body, which may reflect the gonotrophic capacitation. This comprehensive description of molecular and biochemical mechanisms of the hematophagic and gonotrophic capacitation in mosquitoes unravels potentially new targets for vector control.

Palavras-chave: Hematophagic and gonotrophic capacitation; Post-emergence, Oxidative Phosphorylation

Apoio financeiro: CNPq, FAPERJ and INCT

BIOLOGIA CELULAR

Estabelecimento e caracterização de células embrionárias de *Aedes aegypti* infectadas com *Wolbachia pipientis*

Angélica Fernandes Arcanjo¹, Cristiano Calixto², João Vitor Costa da Silva¹, Cíntia Lopes¹, Luciano Moreira³ e Carlos Logullo^{1,2}.

1. Laboratório de Bioquímica de Artrópodes, Instituto de Bioquímica Médica (IBqM), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 2. Laboratório Integrado de Bioquímica Hatisaburo Masuda (LIBHM), Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade (NUPEM), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Brasil. 3. Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Wolbachia sp. são bactérias intracelulares simbiotes que vivem em mais de 60% dos insetos. Apesar de serem comumente encontradas em muitas espécies de mosquitos, estão ausentes e, alguns com importância na transmissão de patógenos à humanos, como o *Aedes aegypti*. O *Aedes aegypti* é o principal vetor dos vírus causadores da dengue, zika e chicungunha. Como não existem vacinas eficazes para esses vírus, a prevenção de casos em humanos depende quase que exclusivamente do controle do mosquito vetor. Nos últimos anos, a bactéria *Wolbachia sp.* está sendo utilizada, em diversas partes do mundo, como uma abordagem inovadora para controlar a transmissão de patógenos transmitidos por mosquitos. A cepa wMel de *Wolbachia pipientis* tem sido utilizada em ensaios de campo com mosquitos *Aedes aegypti*, tendo atingido e permanecido em uma frequência populacional muito alta e esses mosquitos mostram susceptibilidade ao DENV bastante reduzida vários anos depois. Os mecanismos por trás desse fenótipo de inibição permanece incerto. Baseado nesses dados o nosso grupo tem como objetivo estudar a relação parasita-hospedeiro do ponto de vista metabólico. Para isso, células embrionárias de *Aedes aegypti*, infectadas ou não com *Wolbachia pipientis*, estão sendo estabelecidas e serão caracterizadas. Além disso, os seus perfis metabólicos serão avaliados a fim de elucidar quais são as consequências que a infecção pela bactéria *Wolbachia pipientis* no mosquito *Aedes aegypti* e o quanto essas possíveis consequências contribuem para o perfil de baixa transmissão da dengue.

Palavras chaves: *Wolbachia pipientis*. *Aedes aegypti* e células embrionárias.

Suporte financeiro: INCT, Capes, CNPq e FAPERJ.

Controle Gliconeogênico em células embrionárias do carrapato *R. microplus* linhagem BME26

Cintia Nogueira¹; Angélica Arcanjo¹; Barbara Pitta ¹; Carlos Logullo¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Carrapatos são ectoparasitas hematófagos obrigatórios e possui características muito peculiares em seu ciclo de vida. Como larva, na ausência de hospedeiro, conseguem sobreviver a longos períodos de jejum, aproximadamente 60 dias. Para garantir a sua sobrevivência, ocorre uma remodelação metabólica em que são mobilizadas reservas energéticas para garantir a sua sobrevivência. Embora muitas pesquisas tenham sido realizadas sobre o metabolismo do carrapato *R. microplus*, os mecanismos pelos quais a regulação do metabolismo energético ocorre por um longo período na completa ausência de nutrientes permanecem desconhecidos. Neste trabalho, está se investigando mecanismos pelos quais células embrionárias do carrapato *R. microplus*, condicionadas a um jejum prolongado, são capazes de sobreviver. Observa-se que as células sobrevivem mesmo na ausência total de nutrientes. Inicialmente se realizou análise transcricional dos principais genes envolvidos no metabolismo de glicose. Observou-se que a transcrição da PEPCK, uma das principais enzimas gliconeogênicas, aumenta significativamente após 6h e 24h em jejum. Além disso, é possível evidenciar por microscopia uma alteração conformacional muito sutil dessas células após o jejum, apresentando uma retração citoplasmática. Evidenciou-se ainda um aumento da granularidade, nas mesmas condições, por citometria de fluxo. Já a quantificação do glicogênio nessas células não apresentou diferença significativa na resposta ao jejum. O conjunto de resultados até o momento indicam que essas células são capazes de resistir a períodos prolongados de jejum por meio de uma fina rede de adaptações metabólicas. Esses achados contribuirão para um melhor entendimento da regulação do metabolismo no carrapato *R. microplus*, bem como em outros artrópodes, uma vez que essas vias tendem a ser altamente conservadas entre os vetores de doenças, dando-nos maior conhecimento para o desenvolvimento de estratégias no bloqueio da transmissão de patógenos.

Palavras chaves: Gliconeogênese, *R. microplus*, Metabolismo

Apoio financeiro: Capes, CNPq, FAPERJ

ESTUDO DA VIABILIDADE E PROLIFERAÇÃO DAS CÉLULAS AAG2 APÓS DESAFIO OXIDATIVO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Daniel Costa Santos, Angélica Arcanjo, Bárbara Della Noce, Carlos Logullo

Laboratório de Artrópodes Hematófagos/IBQM, CCS - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), (RJ, Brasil).

Este trabalho pretende investigar os mecanismos de adaptação metabólica e tolerância em células embrionárias do mosquito *Aedes aegypti*, (linhagem Aag2) tolerantes ao desafio oxidativo com peróxido de hidrogênio. No recente trabalho publicado pelo nosso grupo, foi observado um perfil comparativo de sobrevivência celular ao H₂O₂ em diferentes tipos celulares (Della Noce et al, 2019). As células do mosquito *Aedes aegypti*, linhagem Aag2, exibiram alta tolerância à exposição entre 62,5 - 1000 µM de H₂O₂, assim como também foi observado, a tolerância ao H₂O₂ na linhagem celular do carrapato *R. microplus*, BME26, sendo ambas linhagens de células embrionárias de artrópodes. Contudo, as células Aag2 exibiram um aumento do número de células de aproximadamente 30% mais células na faixa de concentração 125 - 250 µM de H₂O₂. Efeitos citotóxicos foram observados somente na maior concentração testada, de 1000 µM (1mM) de H₂O₂, causando uma letalidade para 20% das células Aag2. Em comparação as culturas de células de mamífero testadas, linhagem de cultura primária de macrófagos do camundongo BLACK6 e linhagem de células epiteliais renais de macaco Rhesus (LLMCK2), o H₂O₂ induziu efeitos citotóxicos promovendo redução na viabilidade celular, atingindo a DL₅₀ na faixa de concentração entre 125 -250 µM H₂O₂. Trabalhos de outros grupos que também demonstraram a sensibilidade de células de mamíferos ao estresse oxidativo causado pelo H₂O₂, reforçam o interesse do nosso grupo em expandir nosso conhecimento sobre a possível tolerância/ ou resistência ao H₂O₂ em células Aag2. Foi observado em cultura de HUVEC (células endoteliais de veia umbilical humana) uma exposição por 18 horas ao H₂O₂ (250 – 1000 µM) resultou em perda grave de viabilidade celular com uma diminuição de 80% com 1mM (1000 µM) de H₂O₂ (Li et al., 2012). Dash e colaboradores também demonstraram a sensibilidade ao H₂O₂ em cultura de fibroblasto epitelial (linhagem AH927), onde a viabilidade celular diminuiu notavelmente de forma dependente da concentração (0,1 – 1 mM), com uma DL₅₀ de 200 µM de H₂O₂ após 24 horas de exposição. Deste modo, pretendemos induzir o desafio oxidativo em células embrionárias do mosquito *Aedes aegypti* (Aag2) com H₂O₂, em concentrações diferentes, para verificar a viabilidade e proliferação celular. Para isso, neste projeto usaremos, as 3 concentrações de H₂O₂: 125µM, 500µM e 1000µM, respectivamente relacionadas a proliferação celular, neutro e redução aproximadamente em 20% da viabilidade. Para testar no curso temporal de 2, 6, 12 e 24 horas, a contagem celular e viabilidade por MTT. Com intuito, de observar a proliferação dessas células após o tratamento, será realizada a marcação da proteína Ki67 por núcleo DAPI, e avaliação da transcrição das CDKs.

Palavras-chave: H₂O₂, tolerância e Células embrionárias de artrópodes.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq e CAPES.

**Estabelecimento e caracterização de uma linhagem de células embrionárias de
Rhodnius prolixus.**

João Vítor Costa da Silva¹, Angélica Fernandes Arcanjo¹, Cristiano Calixto² e Carlos Logullo¹.

¹ Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ² Laboratório Integrado de Bioquímica Hatisaburo Masuda (LIBHM), Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade (NUPEM), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Brasil.

O estudo da doença de Chagas se torna de suma importância pois estima-se que aproximadamente 12 milhões de pessoas estão infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* sendo de 5 a 6 milhões só no Brasil. O *T. cruzi*, considerado o agente etiológico dessa doença, faz uso de insetos denominados “barbeiros” como hospedeiros intermediários, sendo esses os transmissores da Chagas. Estudar o funcionamento desse inseto bem como a interação com o protozoário é vista como uma forma de obtenção de novos dados científicos e futuramente um maior entendimento da doença, o que possibilita a descoberta de um controle eficaz. Um bom modelo de estudo da interação inseto vetor/patógeno é o uso de células. Esse modelo é considerado uma alternativa extremamente idônea para tais tipos de pesquisa, isso porque permite um maior controle de ambiente e homogeneidade de amostra, quando comparada ao uso de animais. Além disso, é um modelo de estudo econômico. De acordo com as Comissões de Ética para Uso de Animais em Pesquisa (CEUA) é o principal método alternativo para a substituição de cobaias animais. As células de inseto facilitam a adaptação para o crescimento em cultura, isso porque são mais robustas quanto ao cultivo, manutenção e por apresentarem maior resistência ao estresse provocado como alteração de osmolaridade e pH sendo assim, compreende-se que é de vital importância que tal animal seja usado como modelo experimental ainda levando em consideração que embora haja diversas linhagens celulares de inúmeras espécies de insetos estabelecidas, a linhagem embrionária de *R. prolixus* ainda não foi estabelecida tampouco caracterizada. Baseando-se nesse propósito, o seguinte trabalho busca estabelecer e caracterizar morfológica e molecularmente uma linhagem de células embrionárias de *Rhodnius prolixus*.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*; cultura celular; células embrionárias.

BIOQUÍMICA

The Study of *Aedes aegypti* Protein Tyrosine Phosphatase (PTP) Lar after Mosquito Emergence

Carlos Renato de Oliveira Daumas Filho²; Jhenifer Nascimento da Silva²; Ronald Sodré Martins³; Carlos Jorge Logullo de Oliveira²; Luciana Araripe⁴; Rafaela Vieira Bruno⁴; Rafael Dias Mesquita¹.

¹Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ, Brazil.

²Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, UFRJ, Brazil.

³Computational Biophysics and Molecular Modeling, IOC, Brazil

⁴Laboratório de Biologia Molecular de Insetos, IOC, Brazil.

Mosquitoes are vector of many pathogens, as malaria, dengue (DENV), West Nile Virus (WNV) etc., causing many deaths every year due to the poorly effectiveness of existing treatments. This happens when females feed on the blood of an infected host, and then the infected female bites the next vertebrate, transmitting the pathogen and perpetuating the cycle. To be able to feed on blood, females need to face an entire maturation process after emergence, that allows them to seek and feed on the host. The study of Protein Tyrosine Phosphatases (PTPs) have been used to understand many diseases, of metabolic or genetic origin mainly, and this background can be applied in the vector control studies. The PTP Lar was first studied in *Drosophila melanogaster*, and its role as a negative regulator of the Insulin Receptor, can help us to understand molecular and biochemical features important for this maturation process, once the Insulin Signaling pathway (IIS) is important to foraging, egg development, circadian clock etc. We injected double-strand RNA for the PTP Lar (AeLar) in 5h post-emergence female *A. aegypti* mosquitoes, and then we analyze the flight-locomotor activity for 7 days after injection, the amount of females willing to feed on blood 72h after injection, the amount of eggs laid 96h after blood meal, and the amount of viable eggs. Then, we measured the level of pAKT by Western Blotting in the Head, Flight Muscle, Fat Body, Midgut, and Ovary, as well as a glycogen quantification in the mosquitoes Fat Body and Flight Muscle 72h after injection, to address the activation changes of the IIS after AeLar knockdown. The AeLar knocked down females showed a reduction in the locomotor/flight activity and an impairment in the circadian rhythm once the females were less efficient to anticipate the nighttime. Less females were willing to feed on blood and the fed females laid less eggs, than the control ones. At the molecular level, the dsAeLar mosquitoes showed an increasing in the pAKT levels and a reduction in the amount of glycogen stored in the Flight Muscle and Fat Body. Now, we are investigating how these changes are important in the mosquito maturation process after emergence.

Key words: Mosquito, PTP, Insulin, Emergence

Financial Support: CNPq, FAPERJ, INCT

Caracterização da enzima lipase Brummer e sua importância na fisiologia e bioquímica do inseto *Rhodnius prolixus*

Daniela Saar Arêdes; Katia Calp Gondim

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos – Universidade Federal do Rio de Janeiro

O *Rhodnius prolixus* é um inseto obrigatoriamente hematófago da ordem Hemiptera e subfamília Triatominae, apontado atualmente como um importante vetor da Doença de Chagas, transmitida pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Os lipídeos provenientes da dieta são digeridos no lúmen intestinal do inseto através de enzimas lipases, liberando ácidos graxos livres. Os ácidos graxos são então absorvidos pelas células intestinais e utilizados para a formação de lipídeos mais complexos como triacilglicerol e fosfolipídeos. Os lipídeos armazenados no corpo gorduroso estão majoritariamente na forma de triacilglicerol, que podem ser mobilizados em situações de baixa energia e demanda energética, como nos processos de ovogênese e voo. Através desse processo, chamado lipólise, ácidos graxos são liberados, podendo ser utilizados em processos de síntese ou degradação de lipídeos. A mobilização das moléculas de triacilglicerol das gotículas lipídicas ocorre através da lipase brummer, enzima que é ortóloga da triacilglicerol lipase de mamíferos chamada ATGL (“adipose triglyceride lipase”). Os estudos envolvendo as enzimas lipases em insetos são escassos, revelando assim a importância de novos projetos que ajudem a entender seu papel em um inseto vetor. Sendo assim, o objetivo do atual trabalho é caracterizar a enzima lipase brummer e analisar sua importância no metabolismo e fisiologia do inseto *Rhodnius prolixus* através de RNA de interferência. Até o atual momento, os dados obtidos mostram a expressão gênica da lipase brummer com níveis mais elevados no corpo gorduroso, intestino médio anterior e intestino médio posterior, quando comparados a outros órgãos. Devido aos atuais problemas, novos experimentos estão em andamento para dar continuidade ao projeto. Após a inibição da expressão gênica por RNA de interferência, os seguintes fenótipos serão analisados: verificar os efeitos da inibição da expressão gênica na fisiologia e metabolismo de lipídeos do inseto como, por exemplo, conteúdo de triacilglicerol nos órgãos de interesse, taxa de ovoposição, eclosão e sobrevivência, capacidade de voo, análise do perfil de outras classes lipídicas mediante a inibição da expressão gênica, morfologia e tamanho das gotículas lipídicas através de microscopia confocal, entre outros. Sendo assim, este projeto visa analisar se há relevância da proteína para o metabolismo e fisiologia do inseto, ajudando na elucidação de novas vias metabólicas neste vetor.

Palavras-chave: *Rhodnius*, metabolismo, fisiologia

Apoio financeiro: CNPq, CAPES e FAPERJ.

**Caracterização bioquímica de uma esfingomielinase D – like do carrapato
Rhipicephalus (Boophilus) microplus.**

Fernando Allan Abreu Silva¹; Aparecida Sadae Tanaka¹

¹ - Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita responsável por grandes prejuízos para a pecuária brasileira, gerando impacto de maneira direta e indireta na economia e perdas estimadas em 3,24 bilhões de dólares por ano no Brasil. A Esfingomielinase D (smase D) é o principal componente do veneno da *Loxosceles latea* e é responsável por diversos efeitos associados à sua picada, como dermonecrose, hemólise e a indução da agregação plaquetária. Em carrapatos uma smase D – like de *Ixodes scapularis* foi relacionada como importante para modulação da resposta imune e para transmissão de vírus para hospedeiro. Uma Esfingomielinase D – like foi identificada no transcriptoma do carrapato *Rhipicephalus microplus*, clonada e expressa em bactéria. A sequência da smase D identificada revelou a ausência de um resíduo importante para sua atividade catalítica, entretanto a literatura descreve fosfolipases que possuem atividade biológica mesmo com sua capacidade catalítica comprometida. Alterações nos resíduos importantes para atividade catalítica diminuem a taxa de hemólise, mas não há estudos sobre o efeito na agregação plaquetária. Como uma pseudo-enzima, estamos sugerindo que a smase D de *R. microplus* possa se ligar a membrana das plaquetas, mas como não possui um dos resíduos responsáveis pela atividade catalítica não poderá causar as alterações na membrana das plaquetas que induzem a agregação, atuando assim como um anticoagulante e facilitando o processo de alimentação do carrapato. O objetivo é verificar se esfingomielinase D de *R. microplus* é capaz de interferir na agregação plaquetária. Para atingir tal fim, estamos trabalhando para expressar smase D – like recombinante na sua forma solúvel para em seguida fazer a sua caracterização bioquímica e verificar o seu efeito na agregação plaquetária.

Palavras-chave: *Rhipicephalus microplus*; Esfingomielinase; Caracterização; Agregação plaquetária.

Apoio financeiro: CAPES, FAPESP, CNPq, INCT-EM

**Caracterização bioquímica do inibidor de serinoproteases putativo da família tipo Kazal
(AaKz211) modulado em mosquitos *Aedes aegypti* infectados com vírus Dengue 2**

Giulia Scomparim, Verônica M. Manzato, Ricardo J. S. Torquato e Aparecida S. Tanaka

O *Aedes aegypti* é o principal vetor responsável pela transmissão de arboviroses (como o vírus da dengue, Zika vírus, febre chikungunya e febre amarela) e o combate do vetor ainda é a melhor estratégia de controle e prevenção dessas doenças. A replicação viral no mosquito acontece em condições específicas, e sua eficiência depende de respostas celulares controladas e de proteínas do próprio vetor. Cada proteína viral pode interagir com mais de uma proteína do mosquito, colaborando para a progressão da infecção. Portanto, a identificação de proteínas que atuem inibindo o ciclo viral e ou inibidores de enzimas virais pode ser importante para o desenvolvimento de agentes antivirais. Recentemente, identificou-se a presença de um inibidor do tipo Kazal (AAEL000211) no genoma de *Aedes aegypti*, uma sequência gênica que se encontra modulada negativamente durante a infecção do mosquito com vírus DENV2 (em experimentos de *microarray*). Os inibidores do tipo Kazal são descritos principalmente em animais hematófagos, atuando como inibidores de enzimas digestivas e fatores de virulência codificados por patógenos, além de estarem envolvidos em outras vias. Estudos indicam que algumas serinoproteases são limitantes na infecção viral, e quando silenciadas ou inibidas nas células, há uma redução da infecção. Assim, seus inibidores podem estar interagindo tanto com serinoproteases do mosquito, quanto do vírus, envolvidas na infecção, ou sendo modulados pelo próprio vírus. Portanto, o presente projeto tem como objetivos: a clonagem, expressão e caracterização do inibidor putativo tipo Kazal (AAEL000211) de *Ae. aegypti*. Até o presente momento, realizamos a clonagem e sequenciamento do fragmento de DNA que codifica o inibidor tipo Kazal AaKz211, em vetor de expressão pPIC9 para levedura. Posteriormente, fizemos a transformação de leveduras *Pichia pastoris* com a construção vetorial contendo a sequência de DNA de AaKz211. Selecionamos alguns clones de levedura com níveis elevados de expressão da proteína AaKz211. Um dos clones com alta expressão foi utilizado para a expressão em maior escala. A proteína recombinante presente no sobrenadante de cultura de leveduras apresentou atividade inibitória para a subtilisina A. As perspectivas do projeto são: purificar a proteína recombinante expressa e testar a inibição para outras serinoproteases.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, inibidores de serinoproteases, arboviroses, proteína, infecção viral

Apoio financeiro: FAPESP, CNPq, CAPES e INCT-EM

Estudo das alterações no metabolismo e transporte de lipídeos em *Rhodnius prolixus* durante a infecção por *Trypanosoma rangeli*

Guilherme dos Santos Machado e Georgia Correa Atella

Laboratório de Bioquímica de Lipídios e Lipoproteínas, IBqM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

A espécie *Rhodnius prolixus* é vetor de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, na Venezuela e Colômbia. Esses insetos hematófagos são modelos para estudos de fisiologia, interação parasito-vetor. Portanto, o metabolismo de diversas substâncias e nutrientes no organismo desses insetos vem sendo investigada. Nos insetos e *R. prolixus*, os lipídeos são uma importante fonte nutricional, sendo utilizados em atividades importantes para manutenção do ciclo de vida, fonte nutricional para produção de ovos e como fonte energética durante o voo. Após a digestão, os lipídeos são transportados através de proteínas carreadoras de lipídeos reutilizáveis, denominadas lipoforinas, que realizam o transporte de lipídeos entre os diferentes tecidos. Neste inseto, o corpo gorduroso e o intestino são os principais sítios de abastecimento de lipídeos das lipoforinas. De modo contrário, outros tecidos, como ovários e músculos de voo, captam os lipídeos a partir da lipoforina circulante. Além de vetor de *T. cruzi*, *R. prolixus* é também vetor de *Trypanosoma rangeli*, sendo fonte de isolamento de diversas cepas. *Trypanosoma rangeli* causa diversos efeitos patogênicos em seus insetos vetores, impedindo ou causando atrasos no processo de muda, invadindo e danificando diversos tecidos e órgãos, como músculos, corpo gorduroso, ovários e glândula salivar. A infecção causa ainda um aumento em certos aminoácidos livres na hemolinfa de *R. prolixus* e decréscimo de outros. Em *R. prolixus*, experimentos *in vitro* demonstraram que *T. rangeli* é capaz de utilizar a lipoforina como fonte de lipídios e, possivelmente, modular o metabolismo de lipídeos deste inseto. Dessa forma, estamos investigando através de métodos bioquímicos e moleculares, possíveis alterações no metabolismo de lipídeos de fêmeas de *R. prolixus*.

Palavras-chave: Metabolismo, lipídios, interação parasito vetor, *Rhodnius prolixus*, *Trypanosoma rangeli*.

Apoio financeiro: FAPERJ, INCT de Entomologia Molecular e CNPQ

Clonagem, expressão e caracterização de uma proteína tipo microplusina de carrapato *Rhipicephalus microplus*

Lucas Gomes Bezerra, Verônica M. Manzato, Gabriel C. A. Costa e Aparecida S. Tanaka

O carrapato *Rhipicephalus microplus* é o principal ectoparasita do bovino, responsável por grandes perdas econômicas no setor agropecuário em todo o mundo. O impacto econômico causado pelo *R. microplus* no Brasil chega a 3,24 bilhões de dólares ao ano. O controle deste ectoparasita ainda é realizado principalmente por acaricidas, que contaminam o meio ambiente e deixam resíduos nos produtos derivados de bovinos, além de levar a seleção de cepas de carrapatos resistentes. A vacina seria um método alternativo de controle de *R. microplus*, mas infelizmente não existe uma vacina com eficácia para o rebanho brasileiro, visto a escassez de informações bioquímicas e fisiológicas deste ectoparasita. Portanto, na tentativa de contribuir para esta área do conhecimento, este projeto tem como objetivo geral estudar bioquimicamente a proteína similar ao peptídeo antimicrobiano microplusina, denominada RmSEI e identificada em um transcriptoma de intestino do carrapato *R. microplus*. Para alcançar este objetivo, a proteína RmSEI será expressa em sistema de expressão de levedura *P. pastoris*. E a proteína recombinante será purificada e caracterizada bioquimicamente. Os resultados obtidos permitirão analisar o potencial desta proteína como um possível alvo para vacina.

Palavras-chave: Carrapatos, *Rhipicephalus microplus*, microplusina, proteína, peptídeo antimicrobiano

Apoio financeiro: FAPESP, CNPq, CAPES e INCT-EM

Caracterização da α -fucosidase de *Rhodnius prolixus*

Maiara do Valle Faria Gama^{1*}; Cecília Stahl Vieira¹; Daniele Pereira de Castro¹;
Fernando Ariel Genta¹.

¹Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

A doença de Chagas tem como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi*. Que pode ser transmitido através das fezes e urinas contaminadas de triatomíneos. O *Rhodnius prolixus* é um triatomíneo considerado um importante modelo de estudo e um dos principais transmissores da doença de Chagas. Dentre as diferentes enzimas que atuam no compartimento intestinal de *R. prolixus*, podemos destacar a α -fucosidase (EC 3.2.1.51) que é uma glicosídeo hidrolase da família 29 (GH29) responsável pela hidrólise de ligações glicosídicas em fucosídeos e glicoconjugados, podendo desempenhar um importante papel na digestão. Além disso, como parte do ciclo do parasita ocorre no tubo digestório do inseto, e *T. cruzi* possui uma extensa rede de glicoconjugados de membrana, essa enzima pode também estar envolvida na interação parasita-vetor. A fim de anuir a participação da α -fucosidase no processo digestivo, avaliamos os mecanismos de indução através do emprego de dietas distintas (sangue, plasma, fração celular, PBS) e notamos a indução da atividade de α -fucosidase no intestino médio anterior conteúdo (IMAc) e não nos demais tecidos (IMPc/IMPe/IMAc). No IMAc o plasma corresponde a atividade majoritária em relação a fração celular, embora não haja diferença significativa. Utilizamos sangue desfibrinado, citratado, heparinado e PBS nos ensaios, e pudemos concluir que o sangue desfibrinado de coelho não é uma boa opção para separação do plasma, devido a lise das hemácias; o citrato usado como anticoagulante inibe a atividade de alfa fucosidase; e a indução da alfa fucosidase pela alimentação é uma resposta específica as proteínas presentes na alimentação. Através da técnica de RNA de interferência obtivemos um ótimo silenciamento da expressão gênica em todos os tecidos (GS, IMA, IMP e IP) em 2, 7 e 42 dias após a injeção, com o êxito do silenciamento comparamos as atividades dos insetos controle e silenciados e observamos a queda na atividade (μ U/inseto), nos insetos silenciados em todos os tecidos. Agora, pretendemos verificar alterações sobre os parâmetros fisiológicos do inseto e na interação parasita-vetor além de analisar a capacidade tripanolítica da α -fucosidase sobre *T. cruzi*, compreendendo melhor sua importância no processo digestivo e sua modulação frente a interação do vetor com o parasito.

Palavras-chave: α -fucosidase, RNAi, *Rhodnius prolixus*, *Trypanosoma cruzi*.

Apoio financeiro: IOC, CNPq, FAPERJ e CAPES

Study of phospholipase A₂ in *Rhodnius prolixus* midgut

Maria Fernanda Carvalho de Araujo, Lívia Silva Cardoso,

George Eduardo Gabriel Kluck, Georgia Correa Atella

Laboratory of Biochemistry of Lipids and Lipoproteins,

Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis, UFRJ, RJ-BRASIL.

Rhodnius prolixus is a hematophagous insect of the Hemiptera order and Triatominae subfamily. As other triatomines, *R. prolixus* is a known vector of a parasite named *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas's disease. Fighting against the vector is still the best way to prevent this disease and, because of that, finding molecules that are crucial for the infection is necessary. In this scenario, previous studies from our group demonstrated the involvement of a lysophospholipid, lysophosphatidylcholine (LPC), in different aspects of the infection. Thus, the aim of this work was to study a superfamily of enzymes that can promote the release of this lysophospholipid, phospholipases A₂. In the present study, phospholipase A₂ activity of different classes of PLA₂ from the lumen and epithelium of anterior and posterior midgut was analyzed days after insect's feeding using enzymatic assay. In anterior and posterior midguts it was possible to observe activity of secreted PLA₂ (sPLA₂) and platelet activating factor acetylhydrolases (PAF-AH), whereas calcium independent PLA₂ (iPLA₂) activity was only detected in the anterior midgut epithelium and posterior midgut lumen. To verify the possible roles of two genes of sPLA₂, RpPLA₂ 4037 and 9995, insects were injected with dsRNA for silencing and feeding performance was analyzed, showing that these insects ingested significantly less blood. To determine if silencing these genes would result in the alteration of phospholipase A₂ activity of sPLA₂, the midgut of these insects were submitted to enzymatic assay and the expression of other sPLA₂ were analyzed. It was not possible to observe significant difference in the activity and, when the gene expression of other sPLA₂ were analyzed, there was a trend of increase expression of the gene RpPLA₂ 8617 in anterior midgut and RpPLA₂ 8619 in posterior midgut when the gene RpPLA₂ 4037 was silenced, while when RpPLA₂ 9995 gene was silenced, the expression of RpPLA₂ 8619 gene tends to increase in the anterior midgut and is significantly higher in posterior midgut.

Keywords: *Rhodnius prolixus*, phospholipase A₂, midgut.

Financial support: CAPES, CNPq, FAPERJ.

Sinalização de um Fator Induzido Por Hipóxia em Células Embrionárias do Carrapato Bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Maria Luísa Corrêa Sampaio, Angélica Arcanjo, Carlos Logullo, Leonardo Araujo de Abreu

Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade – NUPEM/ Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Bioquímica Médica/ Centro de Ciências e Saúde/ Universidade Federal do Rio de Janeiro

A via do fator transcrição induzido por hipóxia (HIF) se relaciona com o controle transcricional de enzimas glicolíticas e de processos da mitocôndria, dentre os mecanismos de adaptação à uma menor disponibilidade de oxigênio. De modo a avaliar a participação da via do HIF na linhagem de células BME26, foram investigadas possíveis adaptações metabólicas e celulares a partir do desafio frente a diferentes indutores químicos de hipóxia, e avaliação da viabilidade celular (ensaio de MTT). Adicionalmente, o metabolismo anaeróbico foi estudado baseado na determinação da atividade de Lactato Desidrogenase (LDH) e do conteúdo de Lactato. A partir da identificação e amplificação (reação de PCR) das sequências de transcritos de duas hidroxilases [PHD (Prolil hidroxilase) e FIH (inibidor da via do HIF)] que atuam como sensores de oxigênio, e de um alvo regulado positivamente [PDK (Piruvato Desidrogenase Quinase)] pela via do HIF, espera-se iniciar a caracterização funcional desta via em células BME26 (RT-qPCR e silenciamento gênico por RNAi). Tanto o conteúdo de glicogênio como a eventual participação da via do HIF na expressão e/ou atividade de enzimas glicolíticas, e na função mitocondrial serão investigados. Dada a importância do metabolismo de carboidratos nas células BME26, os resultados obtidos aqui ampliam a compreensão dessa rota metabólica, e inauguram uma abordagem relativa à homeostase de oxigênio neste modelo.

Palavra-chave: Hipóxia; BME26; Metabolismo

Apoio financeiro: CNPq

Atividade de transglicosidase de uma α -glicosidase digestiva em adultos de *Lutzomyia longipalpis*

Silva, N. X.¹, Genta, F.A.¹, Costa-Latgé, S. G.¹

¹Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro

Lutzomyia longipalpis é o vetor do parasito *Leishmania infantum*, causador da leishmaniose visceral nas Américas. Estes vetores exploram diferentes fontes alimentares nos diferentes estágios de seu desenvolvimento. Os adultos possuem uma dieta rica em açúcares, essencial para atender às demandas energéticas necessárias ao desenvolvimento; as fêmeas, também se alimentam de sangue. α -glicosidases, são enzimas envolvidas na digestão de açúcares e em altas concentrações de substrato podem realizar uma reação de transferência, a transglicosilação. A transglicosilação é um mecanismo adaptativo que visa diminuir o estresse osmótico causado às células do epitélio intestinal, em insetos que se alimentam de altas concentrações de açúcares. Este trabalho possui como objetivo a caracterização da atividade de transglicosidase da α -glicosidase digestiva de *L. longipalpis*. A atividade de α -glicosidase foi determinada utilizando sacarose como substrato. O ensaio enzimático foi incubado a 30 °C e as reações foram interrompidas em diferentes intervalos de tempo. A quantificação foi realizada utilizando amostras do intestino médio de fêmeas alimentadas com sacarose 70% (p/v) por três dias. A fração obtida a partir do intestino médio foi enriquecida com α -glicosidases de membrana a partir de extração com Triton X-100 1 %, testando diferentes tempos de incubação com o detergente. A quantificação de proteínas foi realizada pelo método do ácido bicinonínico. Para determinação da atividade de transglicosidase, ensaios foram realizados utilizando diferentes concentrações de sacarose (10-1400mM) e a reação foi incubada durante 1h a 30 °C. Amostras obtidas a partir de ensaios realizados com 1400mM de sacarose foram analisados por HPLC e coletadas após cromatografia para a quantificação de açúcares totais pelo método fenol sulfúrico. O presente trabalho mostra que a α -glicosidase de *L. longipalpis* não segue a cinética clássica de Michaelis-Menten sendo inibida em altas concentrações de substrato. Esta inibição pode ser explicada por uma reação de transglicosilação, visto que após análise da reação por HPLC, observamos a formação de outros produtos, além dos formados pela hidrólise da sacarose. O entendimento do mecanismo que leva a inibição da atividade enzimática digestiva em *L. longipalpis* e a caracterização da atividade de transglicosilação nos permite a obtenção de informações bioquímicas e fisiológicas desse vetor e possível caracterização de alvos para controle de flebotômíneos transmissores de *Leishmania*.

Palavras-chave: α -glicosidase, *L. longipalpis*, Transglicosilação, HPLC

Apoio financeiro: CNPQ, FIOCRUZ

Avaliação preditiva estrutural das serino peptidases de aranhas: as relações evolutivas e de estrutura/função.

Rosangela Aparecida dos Santos Passos; Adriana Rios Lopes

Escola Superior do Instituto Butantan - ESIB

Em geral, em um genoma, as enzimas proteolíticas representam de 2 a 4% do número total de genes. As serino peptidases emergiram ao longo da evolução como o grupo mais abundante e funcionalmente mais diverso. Serino peptidases são enzimas envolvidas no processamento proteico presente em praticamente todos os organismos vivos e envolvidos nos mais diversos processos fisiológicos como a digestão, coagulação sanguínea, fibrinólise, desenvolvimento, fertilização, apoptose e imunidade (Di Cera, 2009). Dentre as serino peptidases envolvidas no processo digestivo estão as tripsinas e quimotripsinas. Os diversos processos fisiológicos presentes em aranhas incluindo a produção de veneno e a composição deste, alimentação, sistema imunológico, dentre outros dependem da expressão e síntese de peptidases. Recentes e crescentes estudos utilizando técnicas de ômica em aranhas indicam uma abundância de serino peptidases nos diversos tecidos e processos fisiológicos em aranhas. Entretanto, ainda são desconhecidas as alterações estruturais (mutações, presença de SPHs, adição de domínios, organização de motivos) e a correlação destas com a evolução das aranhas bem como com suas especificidades e funcionalidades. Desta forma, este projeto propõe uma avaliação preditiva das diversas estruturas de serino-peptidases presentes nos diversos grupos de aranhas através de análises in silico, do estudo de expressão destas enzimas nos diversos tecidos de diferentes espécies de aranhas e de um estudo combinado in silico e bioquímico da especificidade destas enzimas em aranhas para elucidação da importância fisiológica destas enzimas, principalmente na comparação entre envenenamento e processo digestivo e envenenamento e defesa nestes organismos.

Palavras-chave: serino peptidases, tripsinas, enzimas, aranhas, fisiológico, digestão, domínios, envenenamento.

Comparative analysis of the digestive system and the envenomation system in spiders: physiological and molecular aspects

Valladão, R.^{1,2}, Gonzaga, M. O.³, Hui, F. W.⁴, Mathias, T. C.⁴, Vivian, A.V. A.⁴, Coelho, G. R.¹, Beraldo-Neto, E.¹, Silva, D. L.¹, Pimenta, D. C.¹, Bento, O.^{1,2}, Lopes, A. R.¹

1- Laboratory of Biochemistry, Instituto Butantan

2- Institute of Ambiental Chemistry and Pharmaceutical Science, Federal University of São Paulo

3- Institute of Biology, Federal University of UMBERLÂNDIA

4- Laboratory of Arthropods, Instituto Butantan

Pharmacological and biotechnological potential of spiders has been extensively explored with the characterization of the venoms of these organisms and the identification of a series of molecules. However, little has been evaluated about the nutritional physiology of these animals and the impact of obtaining nutrients from different diets and the consequences of the digestive process of food for venom production. Most digestion in spiders occurs extracorporeally, which makes it possible for a large predator to consume large prey. In order for the digestion of the prey to occur, spiders inject the venom in order to promote prey's paralysis and then regurgitate in the prey the digestive fluid produced by the intestine to promote digestion. As a result of these two events: envenomation and digestion, there is still a discussion in the literature as to the importance of envenomation and digestive fluid for processing prey. Enzymatic studies and early comparative proteomic analysis of the venom and digestive system of spiders from different families that have different envenomation resources, including from the Uloboridae family (Uloborus), which lost secondarily over the course of evolution as venom glands, to the families with complex venoms with a harmful effect on human health, such as the Sicariidae (Loxosceles) and Ctenidae (Phoneutria) families indicate different compositions of both their venoms and the composition of the digestive system, corroborating the data that this system is a rich and still unexplored source of molecules with insecticidal potential. Thus, in this project, we will use a combination of transcriptomics and proteomics techniques to understand the role of these spider secretions (venom and digestion) and explore their potential applications.

Keywords: Spider, Enzymes, Digestion, Venom

Financial Support: CNPq (133680/2020-7)

Estudo do papel da autofagia para a mobilização de lipídeos em *Rhodnius prolixus*.

Samara Santos de Araujo

Filiação institucional: UFRJ

A autofagia é uma das principais vias catabólicas intracelulares, conhecida classicamente como uma via de degradação de proteínas, organelas danificadas, entre outros materiais. Nesse projeto, abordamos a lipofagia, a degradação de gotículas lipídicas via autofagia, ocorrendo a liberação de ácidos graxos livres, que, na mitocôndria, podem ser direcionados à via de beta-oxidação. Já foram descritas mais de 30 proteínas relacionadas à autofagia, cada qual com a sua função bem determinada. O objetivo desse projeto foi realizar o estudo do papel da autofagia para a mobilização de lipídeos em *Rhodnius prolixus*. Para isso, a metodologia utilizada foi a inibição da expressão gênica de RhoprAtg6 e RhoprAtg8, proteínas essenciais para o processo autofágico, através da técnica de RNA de interferência, utilizando-se fêmeas adultas em jejum. Atg6 participa do complexo fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Esse complexo gera fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P), cujo acúmulo sinaliza para a continuidade do fluxo autofágico. Já Atg8, conhecida como LC3 em mamíferos, é utilizada como marcador de autofagossomos, auxiliando no alongamento e fechamento da mesma. A inibição da expressão desses genes foi comprovada por qPCR, e provocou uma menor mobilização lipídica, evidenciada pelo maior conteúdo de triacilglicerol no corpo gorduroso das fêmeas. Do mesmo modo, gotículas lipídicas maiores foram encontradas nesses insetos. No corpo gorduroso, os conteúdos de proteínas totais dos corpos gordurosos também foram alterados após a inibição da expressão gênica de RhoprAtg6 e RhoprAtg8, sendo maiores do que nos insetos controles. Entretanto, esse perfil não foi encontrado no músculo de voo. A inibição acarretou ainda na diminuição da taxa de sobrevivência durante o jejum, do tempo de voo até a exaustão, e da atividade locomotora desses insetos. O silenciamento de RhoprAtg6 e RhoprAtg8 também alterou a expressão gênica de importantes genes do metabolismo lipídico, medido por qPCR, como a lipase Brummer, e o receptor do hormônio adipocinético. A ativação autofágica de Atg8 foi avaliada por Western blotting, e ela mostrou-se maior no 7o e 14o dias após a alimentação e não no jejum como era o esperado, tanto no corpo gorduroso como no músculo de voo. Os fenótipos encontrados suportam a hipótese de que a lipofagia é importante em momentos de jejum, e que a sua inibição pode provocar alterações fisiológicas relevantes para o inseto.

Palavras-chave: Autofagia, Lipofagia, Atg6, Atg8, *Rhodnius prolixus*, Lipídios,

Metabolismo

Apoio financeiro: CAPES

Estudo do Metabolismo de Lipídios de Caramujos *Biomphalaria glabrata* durante a infecção por *Schistosoma mansoni*

Suellen Silva Cabral¹; Clélia Melo Silva²; Georgina Correa Atella¹

¹Laboratório de Bioquímica de Lipídios e Lipoproteínas – Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – (UFRJ)

²Laboratório de Promoção à Saúde Ambiental – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada que afeta mais de 200 milhões de pessoas no mundo. É causada pelo parasito trematódeo, o *Schistosoma mansoni* que possui diferentes estágios no seu ciclo vida e para desenvolvê-los, requer dois hospedeiros: um hospedeiro definitivo, os mamíferos, e um hospedeiro intermediário, o caramujo *Biomphalaria glabrata*. Para o desenvolvimento do ciclo deste parasito requer a captação e uso de macromoléculas advindas dos seus hospedeiros, como carboidratos, proteínas e lipídios. Lipídios são macromoléculas envolvidas em diversos processos celulares e metabólicos. Os parasitos não possuem as vias de síntese e degradação dessa macromolécula completas, logo captam dos seus hospedeiros. Assim, o objetivo deste trabalho é determinar alterações no perfil lipídico da hemolinfa, da glândula digestiva do caramujo *B. glabrata* durante a infecção com o *S. mansoni*. Os lipídios da hemolinfa apresentaram um perfil similar, com todas as classes apresentando uma redução em seu conteúdo em todas as semanas analisadas, com exceção dos ácidos graxos que apresentaram um aumento na segunda semana após a infecção nos grupos de animais infectados. Em relação à glândula digestiva foi possível observar um aumento de forma significativa nos triacilgliceróis na quarta semana após a infecção, aumento nos ácidos graxos na terceira e quarta semanas após a infecção. Em uma abordagem paralela, analisamos a distribuição das proteínas hemolinfáticas em gradiente de KBr, eletroforese em gel de poliacrilamida, HPLC. Observamos a presença de uma lipoproteína, com massa molecular 550 kDa, composta de duas subunidades (250 e 80kDa), com a composição lipídica consistindo de colesterol esterificado e hidrocarbonetos, triacilgliceróis, um lipídio não determinado, ácidos graxos, colesterol, diacilgliceróis e fosfolipídios. A partir dos resultados obtidos, concluímos que houve alteração do metabolismo de lipídios em caramujos *B. glabrata* infectados com *S. mansoni*. Além disso, pela primeira vez na literatura, a caracterização bioquímica da lipoproteína deste caramujo foi feita, o que poderá ser de suma importância para compreensão dos efeitos da infecção e obtenção de lipídios pelo parasita *S. mansoni*.

Palavras-chave: *B. glabrata*, *S. mansoni*, lipídios, esquistossomose

Apoio Financeiro: CNPq, Capes, Faperj

CONTROLE

Estações de Iscas como ferramenta para o controle de *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE): Avaliação de modelos e componentes de iscas atraentes tóxicas açucaradas (ATSB) em laboratório.

Aurea Vieira Teixeira¹; Alyne Cunha Alves Dias¹; Alexandre de Almeida e Silva^{1,2}
Pós Graduação em Biologia Experimental¹
Universidade Federal de Rondônia-Unir²

O *Aedes aegypti* é um importante transmissor de arboviroses como Dengue, Febre Amarela, Chikungunya e Zika e a ausência de vacinas e outros tratamentos, torna o controle vetorial a principal alternativa para reduzir a transmissão dessas doenças. Dessa maneira o controle químico, um dos métodos empregados, é um aliado para o controle dessa espécie, e tem envolvido novas abordagens, dentre elas, as Iscas Atraentes Tóxicas Açucaradas (ATSB). As ATSBs visam o fornecimento de um inseticida em solução açucarada atrativa e assim, explorando próprio hábito alimentar de machos e fêmeas, induz os mosquitos à ingestão da isca. Dentre as substâncias tóxicas já avaliadas para a ATSB, a ivermectina (IVM) foi testada contra mosquitos do gênero *Anopheles* e o Dinotefuran (DNT) contra gênero *Aedes e Culex*. A IVM é um endectocida que atua nos canais de cloreto, interferindo nas sinapses neuromusculares. O DNT é um neonicotinóide, age como agonista dos receptores de acetilcolina, provocando a hiperexcitação do sistema nervoso, ambos possuem relatos dos seus efeitos contra mosquitos, tendo impacto na sobrevivência e reprodução. Além da versatilidade dessa isca em relação à sua composição, alguns estudos indicaram o potencial da ATSB quando oferecidas por meio de estações de iscas (EIs), tornando-a ferramenta adicional prática e de baixo custo. Nosso objetivo é avaliar diferentes modelos de EIs que levem ao ingurgitamento das iscas por machos e fêmeas de *Ae. aegypti* e, posteriormente, avaliar o uso da IVM e do DNT isolados e combinados. Os modelos de EI descritos na literatura, utilizados foram: Planta artificial, garrafa pet, ovitrampa e caixa de repouso receberam a aplicação de dois tratamentos: 1. solução de sacarose a 10% (SB) e 2. solução de sacarose a 10% e suco de goiaba (ASB). Os experimentos foram realizados em gaiolas teladas com 100 mosquitos em jejum (24h machos e 48h fêmeas) durante 6 horas, posteriormente os mosquitos foram separados conforme o grau de ingurgitamento. Houve maior ingurgitamento de SB por ambos os sexos independentemente do tipo de EI. O uso de planta artificial resultou em maior frequência de graus intermediários de ingurgitamento (2 - +3) com o uso de SBs, sugerindo o seu uso como EI para os próximos testes. Os resultados foram pouco conclusivos para seleção de EIs com o uso de ASBs devido ao baixo ingurgitamento geral. O próximo passo do trabalho será responder o segundo objetivo na estação de isca modelo-Planta.

Palavras-chave: ATSB; Estação de Isca; Inseticidas Combinados.

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Capes

Yeast-encapsulated essential oils efficiency as larvicide and its impact on oviposition for Aedes mosquitoes

Bruno Gomes¹, Fabiane Brant¹, Camila P. Jesus¹, Juliana Welbert¹, Huarlen Ogélio², Michael J. Workman^{3,4}, Monique Costa⁵, José Bento Pereira Lima⁵, Ademir J. Martins^{5,6}, Marcelo Ramalho-Ortigao⁷, Ravi Durvasula⁸, Ivy Hurwitz³, Mariana R. David², Fernando A. Genta^{1,6},

1. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, IOC/Fiocruz, RJ, BR
2. Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, IOC/Fiocruz, RJ, BR
3. University of New Mexico Health Sciences Center, CGH, Albuquerque, NM, USA
4. Department of Chemical and Biological Engineering, UNM, Albuquerque, NM, USA
5. Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores, IOC/Fiocruz, RJ, BR
6. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, RJ, BR
7. Department of Preventive Medicine and Biostatistics, USU, Bethesda, MD, USA
8. Loyola University Stritch School of Medicine, Maywood, IL, USA

Control measures targeting aquatic environments are an important component for integrated mosquito management. They aim to stop larvae development by reducing breeding sites and/or the application of larvicides. Essential oils have been considered an environmentally friendly alternative for chemical larvicides, but they present challenges in their application (*e.g.* rapid degradation by UV radiation). Here, we explore the impact of the larvicide based on yeast-encapsulated orange oil (yeast-OO) in larvae of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Larvicide activity was tested in multiple populations of both mosquito species. The yeast-OO was highly effective ($LC_{50} < 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) against all 8 populations under laboratory conditions, regardless of their species, geographic origin or resistance phenotype for chemical insecticides. The LC_{50} values for *A. aegypti* vary between 8 – 26 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and they are consistently lower than those observed for *A. albopictus* (26 – 32 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). When we tested yeast-OO activity in *A. aegypti* larvae maintained in natural light and without temperature control, the larvicide was still highly effective ($LC_{50} < 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) but larvae of *A. aegypti* seem more tolerant for the yeast-OO. The larvicide activity of yeast-OO is consistent across multiple populations in different settings. Moreover, oviposition assays were carried inside BugDorm-2400 Insect Rearing Tent with one blood fed female (3 – 4 days) of *A. aegypti*. All valid assays had eggs in ovitraps with water whereas only 60% of assays had positive ovitraps with yeast-OO. Females seem to lay more eggs in ovitraps without yeast-encapsulated orange oil (Wilcoxon-ranked test: $W = -314$, $z = -3.57$, $P < 0.0004$). This indicates a potential secondary effect for the larvicide based on orange oil. The repelling action against *Aedes aegypti* oviposition may provide a strategy for reducing egg laying in primary breeding sites that cannot be removed by control agencies.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, Orange oil, breeding site management

Funding: This study was funded through contract #200-2017-93140 with the Centers for Disease Control and Prevention.

Role of organic anion transporting polypeptides in the transport and toxicity of acaricides in *Rhipicephalus microplus*.

Sabadin, Gabriela A.^{a, b, c} da Silva Vaz Jr, I.^{a, b, c}

^a Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM).

^c Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre, RS, Brazil.

Chemical acaricides are the mainly control method for *Rhipicephalus microplus* control. However, the remaining use of this strategy favors to select resistant ticks, leading to the main obstacle of parasite control. The influx transporter OATP (organic anion transporter polypeptides) is responsible to pick up compounds into the intracellular environment and play an important role in the xenobiotics uptake. Therefore, the aim of this work is to elucidate the potential role of OATPs in the acaricides transport and detoxification in *R. microplus* tick. The tetrazolium dye MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) was used to evaluate the Lopinavir (LOP) cytotoxicity and the effect of different ivermectin (IVM) concentrations in the absence or presence of LOP, an OATP transporter inhibitor, in BME26 cells after 24 hours. To evaluate the toxic LOP concentration *in vivo*, fully engorged females were injected with LOP between 63 mM and 630 μ M concentrations, and after 10 days egg mass (mg) were measured. Effects of IVM and OATP inhibitor on tick engorgement and reproduction were evaluated throughout partially engorged female blood artificial feeding with 0,02 mg/mL IVM, after LOP 100 μ M or just blood artificial feeding. RNA from ovary and Malpighian tubes of these ticks, and from midgut, fat body, salivary glands and ovary from non-treated ticks and from BME26 cells were collected to quantification of 5 OATP transcriptional gene levels by qPCR. The highest non-toxic concentration of LOP in BME26 cells was 10 μ M. This concentration was chosen to be used to evaluate IVM toxicity in presence or abstinence of LOP. BME26 cells showed decreased levels of viability in IVM at 1 μ g/ml and 3 μ g/ml in presence of LOP 10 μ M compared with cells without LOP. LOP at 5 μ M was also able to decrease cell viability with IVM at 5 μ g/ml compared with cells without LOP. Injected LOP at 63 mM concentration was able to decrease egg laying mass in fully engorged females. Partially engorged females feed with LOP and IVM showed highest egg laying index than females that feed just IVM. OATP transcriptional gene levels showed to be highest in ovary and midgut of non-treated ticks. One of 5 OATP genes showed to be transcriptionally up regulated when ticks feed on blood plus IVM. In conclusion, OATP inhibition by LOP showed to increase IVM toxicity in BME26 cells, but it increased the tick egg laying capacity.

Keywords: *Rhipicephalus microplus*, tick, resistance, transporter, OATP.

Acknowledgements: INCT- Entomologia Molecular, CAPES, CNPq, FAPERJ and FAPERGS.

Óleos essenciais como larvicidas ambientalmente amigáveis para controle de mosquitos

Jean Paulo dos Santos Costa¹, Ivy Hurwitz², Fernando A. Genta^{1,3}, Bruno Gomes¹

1. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia dos Insetos – IOC / FIOCRUZ, RJ, BR.
2. University of New Mexico Health Sciences Center, CGH, Albuquerque, NM, USA
3. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, RJ, BR.

O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor das arboviroses que provocam a dengue, a chikungunya e a Zika. No controle deste mosquito, os inseticidas químicos têm um papel importante sendo utilizados pelos programas de controle e a população. No entanto o uso destes compostos tem alguns problemas: a toxicidade dos produtos, neurotoxinas e inibidores do crescimento que podem representar um risco significativo para as comunidades, e a emergência de resistência aos inseticidas nos insetos. O desenvolvimento de produtos ambientalmente amigáveis com ação inseticida e baixo custo são essenciais para diversificar as estratégias de controle. Este trabalho tem como objetivo principal caracterizar potencialidade de alguns óleos essenciais no manejo de fontes larvais (MFL), e identificar um novo OE com propriedades larvicidas para aplicar no processo de encapsulamento com levedura otimizado pelo consórcio do projeto com OE de laranja. Nos ensaios para determinar concentrações letais (CL), nós usamos nove concentrações de OE e dois controles negativos (com água e etanol), com quatro réplicas técnicas de 25 larvas L3 por cada concentração. Mortalidade foi verificada 24h após o início do ensaio. Os ensaios foram realizados com dois volumes finais diferentes (*i.e.* 25 ml e 100 ml). Todos os óleos essenciais testados apresentaram atividade larvicida contra *Ae. aegypti*, contudo esta atividade variou entre cada óleo essencial. O óleo OE_02 é considerado muito ativo (CL < 50 mg/L) e os demais (OE_01, OE_03-05) são ativos (CL < 100 mg/L). Este trabalho demonstra a ação larvicida de óleos essenciais e que estes são alternativas para o desenvolvimento de novos produtos de controle para *Ae. aegypti*.

Palavras-chave: Óleos essenciais, *Aedes aegypti*, larvicidas, mosquitos.

Apoio Financeiro: CNPq, CDC (contrato #200-2017-93140).

Efeito de Metabólitos Secundários de *Metarhizium* spp. em Insetos Vetores

Fonseca J. E.¹; Costa G.L.²; Castro D.P.;

1 Laboratório Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ

2 Laboratório de Taxonomia, Bioquímica e Bioprospecção de Fungos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz /RJ

Estratégias de controle de insetos vetores foram baseadas no uso de inseticidas químicos ao longo da história da vigilância entomológica, porém a pesquisa por novos meios de interrupção na transmissão de patógenos se faz necessário, visto a resistência dos insetos aos mesmos por uso contínuo e indiscriminado. Alternativas de controle por meio biológico são estratégias a serem investigadas como parte de um manejo integrado afim de diminuir a incidência das doenças de grande impacto na saúde pública nacional e mundial. A utilização de fungos entomopatogênicos, como os do gênero *Metarhizium* spp. é promissor, visto a sua capacidade de virulência, associada a produção de seus metabólitos secundários, como já testemunhado no controle de pragas agrícolas e sua diversidade genética, que é uma ótima zona de exploração de recursos sustentáveis para desenvolvimento de bioprodutos. Nesse projeto pretendemos avaliar o efeito de metabólitos secundários extraídos de fungos do gênero *Metarhizium* spp. na sobrevivência de diferentes espécies de insetos vetores como triatomíneos, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) (Stal), mosquitos, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Linnaeus) e flebotomíneos, *Lutzomya longipalpis* (Diptera: Psychodidae) (Lutz) e identificar quimicamente os principais metabólitos. Como já apontado na literatura, Donzelli e Krasnoff (2016), os metabólitos secundários estão relacionados com a capacidade de infectar e matar uma variedade de insetos. *Metarhizium* spp produzem uma variedade de metabólitos secundários em várias classes químicas, incluindo citocalasinas C e D, mirroridinas, destruxinas A, B e E, tirosinas e muitos outros. Esses metabólitos são tóxicos para uma variedade de animais, microorganismos e insetos. A maioria dos metabólitos foram isolados a partir de micélios, conídios ou extratos de fermentação. Com isso, em nosso trabalho iremos cultivar cepas fúngicas e obter por fermentação os metabólitos. Esse processo continuará com análise cromatográfica e fracionamento dos extratos por cromatografia líquida a vácuo para realizar diferentes aplicações sobre insetos que são mantidos nos insetários do laboratório.

Palavras-chave: Fungos entomopatogênicos, controle biológico, insetos vetores, *Metarhizium* spp.

Apoio financeiro: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

Desenvolvimento de silenciamento gênico por RNA de interferência em Larvas de *Lutzomyia longipalpis* através da alimentação.

João P. D. Simoni¹, Maiara V.F. Gama¹, Tainá N. Ferreira¹, Fernando A. Genta^{1,2},
Caroline S. Moraes¹.

1 Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro

2 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia, Entomologia Molecular, Rio de Janeiro

Lutzomyia longipalpis é um díptero de grande importância médica nas Américas por ser o principal vetor do agente etiológico da Leishmaniose Visceral. Apesar da existência de um grande número de estratégias para controle desse inseto, ainda há uma lacuna em estratégias específicas para o estado larval, devido ao desconhecimento sobre a biologia dessa fase. Esse cenário dificulta a aplicação de um controle integrado mais efetivo, essencial frente à grande ocorrência de casos da doença e à urbanização do vetor. Nesse sentido, pesquisas com RNA de interferência para larvas de *L. longipalpis* são interessantes como uma proposta de controle biotecnológica e podem oferecer subsídios para mais estudos sobre a biologia desse estágio. Com isso, esse projeto visa desenvolver silenciamento gênico através de RNAi em larvas de *L. longipalpis* através de métodos não invasivos como ingestão de RNA dupla fita (dsRNA). Primeiramente, padronizamos uma alimentação artificial contendo ágar 1% (p/v) mais azul de bromofenol 0,25% (p/v), que será utilizada em testes com dsRNA. Nossos resultados mostraram que as larvas não rejeitam a alimentação além de nenhum dos compostos apresentarem um efeito negativo sobre a mortalidade e a emergência de adultos em relação aos insetos da colônia. Para testes com dsRNA, três genes foram selecionados: ferritina (LLOJ008576), citocromo c oxidase (LLOJ006246) e epóxi hidrolase de hormônio juvenil (LLOJ00407). O silenciamento será avaliado por qPCR, para isso três pares de oligonucleotídeos correspondentes aos genes escolhidos foram padronizados para essa técnica. Até o momento, apenas a amplificação de LLOJ00407 apresentou uma boa eficiência. Dessa forma, somente a epóxi hidrolase de hormônio juvenil será testada futuramente para silenciamento por RNAi.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*, silenciamento gênico, RNA de interferência, alimentação com dsRNA, insetos vetores.

Apoio financeiro: CNPQ, CAPES, FAPERJ, FIOCRUZ.

Influência do óleo essencial de laranja encapsulado em levedura (OELE) na atividade enzimática de *Aedes aegypti*.

Juliana Welbert¹, Bianca S. Henriques¹, Ivy Hurwitz², Bruno Gomes¹, Fernando A. Genta^{1 3}

¹Laboratório de Bioquímica e Fisiologia dos Insetos – IOC / FIOCRUZ, RJ, BR.

²University of New Mexico Health Sciences Center, CGH, Albuquerque, NM, USA
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, RJ, BR.

O óleo essencial de laranja (OEL) apresenta evidente atividade larvicida contra a espécie *Aedes aegypti*. Nesse projeto, essa atividade tem sido explorada para elaboração de uma nova forma de aplicação desses promissores inseticidas: o encapsulamento. Ensaios prévios mostraram que o óleo essencial de laranja encapsulado em levedura (OELE) foi capaz de gerar alta mortalidade de larvas de *A. aegypti* no terceiro estágio de desenvolvimento. Por conseguinte, foi considerado analisar a capacidade do OELE interferir na atividade de enzimas digestivas das larvas estudadas. Essa fase do estudo está concentrada em medir a atividade enzimática de enzimas como quitinase e beta-1,3-glucanase, importantes na nutrição do inseto e na digestão da parede celular do fungo utilizado no encapsulamento, *Saccharomyces cerevisiae*, possibilitando a liberação do OEL no interior do intestino da larva que o ingeriu. Os primeiros dados obtidos não apresentaram resultado consistente, requerendo ajustes e repetições no manejo técnico. Tal estudo teve seus procedimentos interrompidos devido a mobilização ao enfrentamento da pandemia de Covid-19, e deve ser retomado mediante a liberação das atividades.

Palavras-chave: óleo essencial, laranja, encapsulamento, atividade enzimática, *Aedes aegypti*.

Apoio financeiro: CDC (contrato #200-2017-93140)

Investigação da influência da resistência ao inseticida pyriproxyfen na suscetibilidade de *Aedes aegypti* à infecção e transmissão do Zika vírus

Kauara Brito Campos; Marcos Takashi Obara

Universidade de Brasília/Núcleo de Medicina Tropical

A resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas pode ocorrer por vários mecanismos, entre os quais o aumento dos níveis de enzimas de detoxificação destas substâncias. Alterações em múltiplas categorias de processos biológicos em mosquitos vetores têm sido relatadas em resposta à infecção por arbovírus. Zhao *et al.* (2018) realizaram sequenciamento de RNA para comparar transcriptomas de *Ae. aegypti* entre cepas resistentes e suscetíveis à permetrina e relataram que a maioria das enzimas de detoxificação e enzimas do sistema imunológico tiveram sua expressão gênica alterada entre as duas linhagens, em resposta à infecção pelo vírus Zika. Melhor compreensão das consequências da resistência a inseticidas nos aspectos biológicos da população de mosquitos e na sua interação com os arbovírus pode contribuir com o desenvolvimento de novas abordagens para o controle da transmissão de arbovírus. Com o objetivo de avaliar a influência da resistência de populações brasileiras de *Ae. aegypti* ao larvicida IGR pyriproxyfen na infecção e transmissão do vírus Zika, ovos de mosquitos *Ae. aegypti* com resistência previamente detectada ao larvicida pyriproxyfen em 2017/2018 serão amostrados em 6 municípios da região nordeste do país (Itabuna, Brumado e Serrinha/BA; Quixadá, Icó e Juazeiro do Norte/CE, além de mosquitos com suscetibilidade detectada ao larvicida, provenientes de Natal/RN. Ovos coletados serão levados à eclosão e criadas as gerações F1 destas populações em laboratório. As amostras de vírus serão amplificadas em cultura de células e as fêmeas de *Ae. aegypti* serão alimentadas com sangue contendo vírus, por meio de sistema de alimentação artificial. Após separação das cabeças e patas dos mosquitos, a saliva será coletada e será realizado o exame qRT-PCR para detecção do RNA viral na saliva e patas das fêmeas experimentalmente infectadas. Taxas de infecção viral, competência vetorial e taxa de infecção disseminada serão calculadas em diferentes períodos pós infecção, comparando-se as populações avaliadas. Apoio financeiro será realizado pelo Ministério da Saúde e pelo Laboratório de Entomologia Médica da Flórida.

Palavras-chave: Zika vírus; *Aedes aegypti*; Resistência a inseticidas; Hormônios juvenis

Análise proteômica do intestino médio da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* na presença da toxina Cry1Ac

Luís Felipe Costa Ramos^{1,2}, Fábio César Sousa Nogueira¹, Gilberto Barbosa Domont¹,
Cristiane Dinis Ano Bom², Magno Junqueira¹, Danielle Maria Perpétua de Oliveira²

¹Unidade Proteômica, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ

²Laboratório de Bioquímica Estrutural de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ

A lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* é considerada a principal praga desfolhadora de soja no Brasil. Mecanismos de controle biológico, como a aplicação de microrganismos entomopatogênicos, têm sido utilizados como estratégia livre de inseticida químico, tendo em vista que estes organismos são altamente específicos contra as espécies-alvo. *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria Gram-positiva, com ampla dispersão global, caracterizada pela produção de inclusões cristalinas proteicas, denominadas toxinas *Cry*, durante a fase estacionária de seu crescimento (esporulação), às quais é atribuído efeito entomopatogênico. Devido a isto, esta bactéria é utilizada como biopesticida para controle de diversas pragas agrícolas, incluindo *A. gemmatalis*. Todavia, os insetos têm desenvolvido resistência a este controle. A literatura mostra que grande parte desta resistência está relacionada a mudança do perfil de proteínas do tecido epitelial do intestino médio do inseto, que é a principal barreira de defesa natural e físico-química contra microrganismos invasores. Este trabalho tem como objetivo a quantificação, em larga escala, de proteínas presentes no epitélio do intestino médio de *A. gemmatalis* após desafios alimentares com a toxina Cry1Ac de *B. thuringiensis* através da proteômica, observando diferenças de regulação proteica com relação a: receptores desta toxina nas células epiteliais intestinais, proteínas digestivas, proteínas que participam da cascata do sistema imune e de morte celular programada. Foram testados cinco protocolos diferentes de extração de proteínas para desenvolver uma metodologia eficaz de extração de proteínas do epitélio do intestino médio de *A. gemmatalis*. As análises foram realizadas por nLC-MS/MS no espectrômetro LTQ-Orbitrap VELOS (*Thermo Scientific*). O método de preparação com auxílio de coluna *S-Trap* (Protifi®), com digestão proteica utilizando tripsina e com etapa de fracionamento de peptídeos por cromatografia de fase reversa, prévia ao nLC-MS/MS, obteve o melhor resultado com 1780 proteínas identificadas, através da técnica de identificação por similaridade de sequência, aplicada a caracterização de proteomas de organismos com genoma não sequenciado. Como perspectivas temos a realização de bioensaios de exposição das lagartas à toxina *Cry* para realizarmos a proteômica comparativa, observando proteínas moduladas perante a intoxicação, e a validação destes resultados por métodos de biologia molecular, microscopia e atividade enzimática.

Palavras-chave: lagarta-da-soja, proteômica, toxinas *Cry*

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ

Characterization of cystatins as antigens for the development of tick vaccines

Luís Fernando Parizi¹, Daniel Ubiratan Haas de Brito¹, Itabajara da Silva Vaz Junior^{1,2}, Carlos Termignoni^{1,3}

¹Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; ²Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; ³Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Ticks are responsible for increasing health and economic concerns to human and animals worldwide. Currently, tick control is based mainly by use of chemical acaricides; however, alternative tick control methods are been investigated, as vaccination. Tick hematophagy is highly dependent on salivary components, among them cystatins, a family of cysteine peptidase inhibitors. Here, we investigated the potential *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus microplus* cystatins as antigens. For that, total RNA was extracted from *R. sanguineus* male and female tissues. By RT-PCR, a cystatin open reading frame (ORF) sequence from male tissue was amplified. After inserting the amplicon into pGEM-T vector, the ORF cystatin sequence was determined by sequencing. The predicted protein sequence of *R. sanguineus* cystatin contains: 161 amino acid residues, four cysteine residues that form two disulfide bridges, the motifs PI (G), P-II (QxVxG) and P-III (PW), as well as signal peptide, characteristic of secreted type two cystatins group. The effects of antibodies anti-cystatin in *R. microplus* physiology was analyzed by artificial feeding protocol using bovine blood plus rabbit sera previously raised against two *R. microplus* cystatins (BrBmcys2b and BrBmcys2c). Four groups composed by 25 semi engorged tick females were fed with blood mixed with anti-BrBmcys2b, anti-BrBmcys2c, pre-immune purified antibodies, or only blood. After feeding, engorgement, survival, egg laying and hatching rates were evaluated. No differences were observed in physiological parameters among experimental groups. To further prospect the protective potential of tick cystatins, we will determine the induction of protection against *R. sanguineus* by rabbit vaccination with *R. sanguineus* cystatin, as well as feed artificially *R. microplus* combining antibodies against BrBmcys2b and BrBmcys2c. The identification of cystatins showing immunoprotective potential against ticks will improve the development of effective vaccines for the control of these parasites.

Keywords: Cystatin; Control; *Rhipicephalus microplus*; *Rhipicephalus sanguineus*.

Support by: CAPES, FAPERGS, CNPq.

Estudo da Aminopeptidase N como possível receptor da toxina Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* em células epiteliais do intestino médio da lagarta-da-soja

Marina Dutra Lanzaro¹, Luígia Oliveira Monção¹ Luís Felipe Costa Ramos^{1,2}, Fabio Mendonça Gomes³, Larissa Maciel Bomfim⁴, Isabela Ramos⁴, Cristiane Dinis Ano Bom¹, Danielle Maria Perpétua de Oliveira¹

¹Laboratório de Bioquímica Estrutural de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ

²Unidade Proteômica, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ

³Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ

⁴Laboratório de Bioquímica de Insetos, Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ

Aminopeptidases N (APNs) são exopeptidases presentes nas células epiteliais do intestino médio das larvas de lepidópteros, que participam da ação das toxinas *Cry* entomopatogênicas de *Bacillus thuringiensis*. Estes microrganismos são utilizados como estratégia de controle biológico altamente eficiente e específico. As APNs são descritas como um dos receptores destas toxinas, facilitando sua entrada nas células epiteliais digestivas do inseto. Apesar de sua especificidade, este controle biológico vem apresentando resistência em diversos modelos de insetos, com uma diminuição da expressão gênica e proteica dos receptores da toxina em insetos resistentes, inclusive de APNs. Nosso modelo de estudo é a *Anticarsia gemmatalis*, uma das principais pragas da soja no Brasil. Através da análise do transcriptoma e do proteoma das células de intestino médio deste inseto previamente realizadas pelo grupo, foram identificados 15 *hits* e 13 proteínas classificadas como APNs, respectivamente. O objetivo deste trabalho visa a escolha de uma sequência de APN que se encontra presente em ambas as análises para sua expressão heteróloga e análise como receptor para a toxina *Cry*. Além disto, visamos o silenciamento do gene para observação da variação susceptibilidade do inseto a toxina. Intestinos médios de lagartas de 5º instar serão dissecados e seu RNA total extraído pelo método do TriZol® e o cDNA total será produzido seguindo o protocolo do kit *SuperScript III First-Strand (Invitrogen)*. A amplificação do fragmento da APN será realizada com o uso de oligonucleotídeos específicos para a reação de PCR e o fragmento será clonado em plasmídeo pET-28a para expressão heteróloga em células de *Escherichia coli* BL21(DE3). Após etapas de purificação e enriquecimento da APN, serão realizados ensaios de *western blot* e ELISA, com etapa de exposição à toxina Cry1Ac, e revelação com anticorpo policlonal para a toxina, visando investigar a ligação da toxina com a APN. Já os ensaios de silenciamento do gene serão realizados através do uso de RNAi específicos sintetizados. 30 lagartas de 2º instar, divididas em grupos com 6 indivíduos, serão alimentadas com o RNAi e, posteriormente, expostas a toxina Cry1Ac. O RNA total de 1 indivíduo de cada grupo será extraído para análise de qPCR de checagem do silenciamento. A taxa de sobrevivência será acompanhada por 5 dias. Com estes resultados, visamos descrever a função da APN como receptora da toxina *Cry* e sua influência na susceptibilidade neste inseto.

Palavras-chave: Aminopeptidase N, *Anticarsia gemmatalis*, Toxina *Cry*

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ

UTILIZAÇÃO DE METABÓLITOS MICROENCAPSULADOS DA ALGA LAURENCIA DENDROIDEA NO CONTROLE DE MOSQUITOS

Orlando Salvador Neto

Instituto de Sustentabilidade e Biodiversidade - UFRJ

As doenças negligenciadas sempre foram alvo de pesquisas acadêmicas, porque acometem grande parte da população mundial e como o próprio nome diz, aparentemente, não possuem a devida atenção por parte dos governos mundiais. Dentre elas pode-se destacar as doenças transmitidas por mosquitos como: malária, dengue, zika, chikungunya e febre amarela. Os mosquitos são insetos classificados dentro da família Culicidae, subordem Nematocera e da ordem Diptera. Esta família possui acima de 3200 espécies descritas e tipicamente é subdividida em três subfamílias: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae. O Aedes é o principal gênero de mosquitos transmissores de arboviroses da subfamília Culicinae que compreende mais de 1200 espécies. A importância do controle do vetor é fundamental, principalmente em sua fase larval, fase em que os insetos estão em uma densidade populacional maior, e o desenvolvimento de novas estratégias de controle que agridam menos o meio ambiente e atinjam menos espécies não alvo. Extratos naturais sempre foram uma alternativa para o controle de insetos. Os sesquiterpenos e terpenóides utilizados pelas plantas como defesas químicas para pragas e doenças são efetivas contra os insetos quando utilizados como inseticidas em diferentes formulações. Óleos essenciais extraídos de plantas atuam como repelentes e inseticidas naturais utilizados por toda população. O mais conhecido é o óleo de citronela utilizado, principalmente, como matéria prima para velas aromáticas e formulações em spray. A utilização de novos meios de controle é incentivada pela Organização Mundial de Saúde e como os extratos de plantas geralmente são menos tóxicos para o ambiente, animais e mais baratos para produzir, sua utilização no mercado no futuro deverá ser cada vez mais presente. A Laurencia dendroidea, a espécie mais importante do gênero e a mais estudada por ser grande produtora de metabólitos secundários como o Elatol e Iso-Obtusol. Estes metabólitos, cujas estruturas estão discriminadas na figura 3, são alvo de estudos em todo o mundo por seus notáveis efeitos em Leishmania, e células tumorais. Nosso grupo já demonstrou a eficácia dos sesquiterpenos obtusol e elatol, obtidos de algas da espécie Laurencia dendroidea, no controle do mosquito A. aegypti, com índice de mortalidade de 80% de larvas em 24h com o obtusol e o presente trabalho pretende realizar uma nova abordagem para os extratos em formas microencapsulados para iscas açucaradas para adultos.

Palavras-chave: Metabólitos secundários, Controle de vetores, Aedes aegypti, Laurencia dendroidea, microencapsulado

Apoio financeiro: Capes

Efeitos de óleos essenciais e nanoemulsões em insetos pragas

Apolinário R.¹, Passos B.G.², Rocha L.², Feder D.¹

¹ Laboratório de Biologia de Insetos – Departamento de Biologia Geral - Universidade Federal Fluminense

² Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense

Estudos serão realizados para se avaliar a ação inseticida de óleos essenciais e nanoemulsões obtidas das espécies vegetais X da família Lauraceae e Y da família Asteraceae sobre o desenvolvimento dos insetos (I) *Dysdercus peruvianus* (Guérin-Ménéville, 1831), considerado uma séria praga de algodoeiros (*Gossypium hirsutum*); (II) *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852), utilizado como modelo em estudos entomológicos. Através de ensaios biológicos como tratamentos tópico, por contato e por fumigação, serão reportados resultados como a sobrevivência dos insetos e deformações apresentadas ao longo do desenvolvimento. A interação de metabólitos secundários presentes nos produtos com processos fisiológicos e hormonais ocorrentes nos insetos pode ser responsável por alterações dos processos de muda e metamorfose, agindo como possíveis reguladores de crescimento de insetos (Insect Growth Regulators – IGR) através da mudança dos níveis de hormônio juvenil (HJ), hormônio protoracicotrópico (HPTT) e ecdisona (Ec). As diferentes ações exercidas por componentes destes óleos e nanoemulsões demonstrarão seus potenciais biológicos existentes e a sua importância como fonte para a utilização em medidas alternativas para o controle de pragas agrícolas.

Palavras-chave: Controle alternativo. Reguladores de crescimento de insetos. *Dysdercus peruvianus*. *Oncopeltus fasciatus*.

Apoio financeiro: CAPES

Utilização de carboidrases de veneno e digestivas de Arachnida no processamento de glicanas estruturais e envolvidas em interação celular.

Rayssa Oliveira Araújo^{1,2}; Lincoln Suesdek Rocha³; Adriana Rios Lopes^{1,2}

Laboratório de Bioquímica e Biofísica do Instituto Butantan¹;
Programa de Pós Graduação em Toxinologia do Instituto Butantan²;
Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan³

Polissacarídeos são polímeros de carboidratos compostos de cadeias de unidades monossacarídicas formados por ligações glicosídicas e envolvidos em diferentes processos fisiológicos. Muitos destes polissacarídeos estão presentes na interação entre células tanto no reconhecimento celular entre diferentes organismos (relações patógeno-hospedeiro) como entre as diferentes células de um mesmo organismo. Além disso, alguns dos polissacarídeos mais abundantes no planeta, como é o caso da quitina, estão presentes nas paredes celulares de fungos e na cutícula de artrópodes, os quais são pragas agrícolas e urbanas ou vetores de doenças. O processamento destes polissacarídeos por enzimas são uma potencial forma de controle para estes organismos. Dado que, em geral, os carboidratos envolvidos em interação e/ou estruturais são principalmente compostos de manose, N-acetil glucosamina e fucose, enzimas que processem estes açúcares podem ser utilizadas para o teste desta hipótese. Caracterizações transcriptômicas, proteômicas e bioquímicas das glândulas de venenos de diferentes aranhas e do sistema digestório destas têm identificado uma série de enzimas com esse potencial. Portanto, este projeto propõem a utilização de preparações de carboidrases nativas (quitinase, manosidade e hexosaminidase) presentes no intestino e/ou veneno de aranhas e enzimas recombinantes como, por exemplo, a fucosidase recombinante da aranha *Nephilingis cruentata* para remoção de açúcares estruturais em organismos alvo no processamento de glicanas.

Palavras-chave: carboidrases, patógenos, glicanas, veneno, intestino, glicoproteínas.

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES

EPIDEMIOLOGIA/ECOLOGIA

**Acompanhando um estudo de flebotomíneos marcados com caseína bovina
caracterização temporal de técnicas de imunomarcação.**

Cristina dos Santos; Fernando Ariel Genta.

IOC/FIOCRUZ – FAPERJ

Leishmania é uma doença de preocupação global com um bilhão de pessoas que vivem em áreas endêmicas sob risco de infecção. Em 2015, 19.000 novos casos de leishmaniose cutânea e mais de 3.000 casos de leishmaniose visceral foram relatados no Brasil. O amplo nicho ecológico das espécies vetores de flebotomíneos conhecidas como *Lutzomyia* sp. permitiu sua adaptação ao ambiente urbano e aos reservatórios domésticos e aumentou a transmissão de *leishmania* independente do ciclo zoonótico silvestre. A explicação das mudanças observadas na incidência espacial e temporal da leishmaniose exige um conhecimento detalhado da dispersão de seus vetores em diferentes paisagens e habitats. Imunomarcação envolve o uso de marcadores de proteína que podem ser usados para marcar insetos *in situ*, direta ou indiretamente adquiridos através do contato com um substrato de habitat tratado através do qual eles passam. O uso de ELISA altamente sensível e específico para detectar o marcador de proteína permite uma triagem rápida e econômica de um grande número de indivíduos. A técnica de imunomarcação tem se mostrado uma ferramenta altamente eficaz na quantificação do comportamento de voo de *Culicoides*, sugerindo sua adequação para outros vetores, como o *Plebotominae*. O processo de imunomarcação (ELISA) foi validado para *Culicoides* utilizando insetos derivados de colônias. A exposição direta por pulverização tópica e a exposição indireta a um substrato de papel tratado foram eficazes na marcação desses *Culicoides* individualmente. A biologia e o comportamento dos flebotomíneos exigirão alguma adaptação da técnica de imunomarcação em relação à utilizada para *Culicoides* que serão adaptados durante a execução do estudo. O subprojeto intitulado: “Estudo de flebotomíneos marcados com caseína bovina: caracterização temporal de técnicas de imunomarcação” tem como objetivo principal adaptar a técnica de imunomarcação aos flebotomos usando a bem estabelecida colônia de *Lu. longipalpis* (cepa Jacobina) do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos. Através da técnica de ELISA o marcador de proteína, caseína de leite bovino será testado e identificado nas moscas buscando realizar uma comparação direta com os resultados obtidos em *Culicoides*.

Palavras-chave: Flebotomíneo, imunomarcação, dispersão, *Lu. Longipalpis*.

Leishmaniose Visceral: Descrição de uma Nova Área de Transmissão

Ingrid Marciano Alvarenga¹, Marina Martins Oliveira¹, Beatriz Mendonça Campos¹, Joseane Camilla de Castro², Tarcísio de Freitas Milagres¹, José Dilermando Andrade Filho³, Camila Binder Soares de Souza³, Thales Augusto Barçante¹, Joziana Munis de Paiva Barçante¹

1-Laboratório de Biologia Parasitária I e II, Departamento de Medicina Veterinária e Departamento de Ciências da Saúde– Universidade Federal de Lavras

2-Departamento de Parasitologia – Universidade Federal de Minas Gerais

3-Grupo de Estudo em Leishmanioses – Instituto René Rachou/FIOCRUS

Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença infecciosa parasitária que tem como agente etiológico nas Américas a espécie *Leishmania infantum*, e seu principal vetor *Lutzomyia longipalpis*. Considerando a importância da LV e sua expansão geográfica, a compreensão das relações epidemiológicas é de extrema importância para a proposição de medidas de prevenção, vigilância e controle da doença. Desse modo, os objetivos deste trabalho foram realizar o levantamento da fauna de flebotomíneos no município de Ribeirão Vermelho, Sul de Minas Gerais, assim como a investigação da ocorrência de casos de infecção natural em cães e a detecção de DNA de *Leishmania* nos vetores. Foram conduzidas duas ações de educação em saúde nas quais foram realizados testes DPP-Biomanguinhos em cães, como teste de triagem, e ELISA, como teste confirmatório. Foram testados 348 animais, destes, 14 animais (4,02%) apresentaram sorologia positiva em ambos os testes, e dois destes cães foram submetidos à eutanásia, após autorização dos proprietários, com confirmação parasitológica e molecular da infecção. Com relação à investigação entomológica, durante o período de fevereiro de 2018 a maio de 2019 foram instaladas armadilhas do tipo HP em residências, nas quais havia presença de cães positivos nas sorologias e ao redor dessas residências. Um total de 443 espécimes de flebotomíneos foram capturados, sendo estes pertencentes a pelo menos 13 espécies. A espécie mais abundante foi *Lu. longipalpis* (73,8%). A análise molecular permitiu identificar a presença de DNA *Leishmania* em 21 das 157 amostras testadas, sendo estas pertencentes aos seguintes gêneros e/ou espécies *Lu. longipalpis*, *Brumptomyia* spp., *Migonemyia migonei*, *Expapillata firmatoi*, *Evandromyia cortelezze* e *Pintomyia fischeri*. Este foi o primeiro estudo que investigou a situação da LV no município de Ribeirão Vermelho. Os dados obtidos permitiram fazer o primeiro registro de leishmaniose visceral canina no município, assim como o primeiro relato de 13 espécies de flebotomíneos na área de estudo. Ademais, os resultados demonstram a presença de DNA de *L. infantum* em espécies com reconhecida importância no ciclo de transmissão do parasito, e espécies que ainda estão sendo estudadas. A partir destes resultados o município de Ribeirão Vermelho passa a ser classificado como área de transmissão de LV, com a necessidade de medidas de vigilância e controle, a fim de evitar novos casos caninos e a ocorrência de casos humanos.

Palavras-chave: Leishmanioses, Flebotomíneos, Vigilância epidemiológica.

Apoio financeiro: FAPEMIG, CAPES, CNPq, UFLA, Prefeitura de Ribeirão Vermelho.

“Identificação e Caracterização de Fatores Associados ao Estabelecimento e Ampliação de Áreas Endêmicas para Leishmaniose Visceral em Minas Gerais”

Priscilla Elias Ferreira da Silva¹; Luciana de Almeida Silva Teixeira²

^{1,2}Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

Ao considerar a extensão do problema Leishmaniose Visceral (LV) no Brasil e a sua franca expansão, torna-se premente a realização de investigações em áreas acometidas pela doença para o fortalecimento de medidas que visem a redução do número de casos no país e evitem a sua propagação em áreas sem transmissão. Nessa conjuntura, destacam-se os municípios de Uberaba e Uberlândia que, segundo classificação das áreas endêmicas de Leishmaniose Visceral sobre as faixas de intensidade e transmissão estão enquadrados como área sem casos ou silenciosa e área esporádica, respectivamente. Em contrapartida, a prevalência da doença em cães abarca grandes índices nesses municípios, instaurando situação de risco à ocorrência de casos humanos. Essas áreas se mantêm sem casos humanos mesmo após longo período de identificação e estudos envolvendo casos caninos. Recentemente, foi encontrado no Bairro Santa Fé, município de Uberaba, o vetor (*Lutzomyia longipalpis*) responsável pela transmissão da doença, colocando em alerta a vigilância entomológica local. Assim, esta pesquisa tem como objetivo geral identificar e caracterizar fatores parasitológicos e ambientais associados ao estabelecimento e ampliação de áreas endêmicas para Leishmaniose Visceral em municípios de Minas Gerais. A fim de atender tal objetivo, serão realizadas ações que visem identificar se existe variabilidade genética entre as espécies *Leishmania infantum* e, compreender se os fatores ambientais podem influenciar na dinâmica de distribuição dos flebotomos. No âmbito dos fatores ambientais, serão consideradas as variáveis bioclimáticas, fisiográficas e de uso e cobertura da terra. Durante o estudo, será realizado o inquérito sorológico canino, o levantamento e identificação da fauna flebotomínica, a caracterização das áreas envolvidas no estudo e a caracterização genética de parasitos isolados. Portanto, considera-se que a pesquisa se constituirá como um novo esforço teórico-metodológico capaz de investigar se os elementos parasitológicos e ambientais favorecem a manutenção e controle da situação epidemiológica da doença nesses municípios.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, Variabilidade genética, Geografia da Saúde, Bioclimatologia

Apoio financeiro: nenhum

FISIOLOGIA

Avaliação fisiológica de ovos de diferentes tamanhos do besouro vermelho da farinha *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Cynthia Melo dos Santos¹, Gustavo Lazzaro Rezende¹

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ

A plasticidade fenotípica (PF) é a capacidade que um genótipo possui em apresentar diferentes fenótipos em resposta à variação ambiental. Esses fenótipos diferenciados, por sua vez, podem ou não ser adaptativos e levar à especiação. Em insetos, a PF pode ainda atuar em diferentes estágios de desenvolvimento. O aumento da temperatura é um estresse abiótico importante, capaz de induzir PF em ovos de insetos. Ovos do besouro *Tribolium castaneum* podem ser encontrados em dois tamanhos: grandes e pequenos. Há uma hipótese de que o tamanho do ovo diminui ao longo da embriogênese (que leva em média 86 h a 30 °C), uma vez que anteriormente demonstramos a perda de peso média de 7,5% em ovos ao final de sua embriogênese, quando mantidos a 73% de umidade relativa (UR) e 30 °C. Nesse sentido, o presente trabalho objetiva entender se o tamanho do ovo é uma característica estável decorrente da PF ou associada a perda de peso ao longo do desenvolvimento embrionário. Besouros adultos da criação do laboratório até então aclimatados a 30 °C foram submetidos a posturas sob 29,7 ± 0,2 °C e 77,5% UR e 29,4 ± 0,4 °C e 87% UR onde foram obtidos ovos com idades entre 0-6 horas e entre 0-24 horas, respectivamente. Adultos foram aclimatados a 34,9 ± 0,1 °C e 81,4% UR pelos períodos de 3, 10 e 17 dias, e a partir da postura destes foram obtidos ovos com idades entre 0-24h sob as mesmas condições de aclimação. O tamanho dos ovos foi classificado a partir do uso de peneiras de solo com malhas de 300 e 250 µm, onde foram retidos ovos grandes e pequenos, respectivamente. Sob todas as condições testadas foram obtidos apenas ovos grandes, os quais foram diariamente checados em peneiras de 300 µm a fim de observar diminuição de tamanho em diferentes dias de embriogênese. O tamanho dos ovos não variou com base no critério estabelecido. Resultados preliminares indicam uma diminuição na viabilidade de ovos obtidos a partir de adultos submetidos a 3 dias de aclimação. Assim, infere-se que apesar de perder peso, o ovo não apresenta diminuição de tamanho perceptível ao longo da embriogênese quando mantido sob as condições descritas e o choque de aumento de temperatura parece causar queda transitória na viabilidade dos ovos. Os atuais resultados contrastam com resultados obtidos previamente no laboratório onde eram observados ovos pequenos. De toda forma as condições abióticas e o tempo de aclimação estabelecidos parecem favorecer o fenótipo de ovos grandes.

Palavras-chave: Embriogênese, Plasticidade Fenotípica, Ovo.

Apoio Financeiro: Faperj.

Cytochromes P450 and neuropeptides in tick physiology

Jéssica Waldman¹; Itabajara da Silva Vaz Junior^{1,2}

¹Centro de Biotecnologia and ²Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

The goal of this work is the characterization of two groups of tick proteins: cytochromes P450 (CYP) and neuropeptides. Based on insect CYP sequences involved in insecticide resistance, ten *Rhipicephalus microplus* transcripts were selected. The CYP transcriptions in acaricide-susceptible, acaricide-resistant and field larvae were evaluated. Also, susceptible and field females were treated with deltamethrin and ivermectin to evaluate the effect in CYP transcription. At the same time, an *in silico* analysis was performed from a *R. microplus* synganglion transcriptome to identify and characterize tick neuropeptides. The qPCR using larvae cDNA demonstrated that resistant and field ticks have a downregulation in the CYP transcription when compared with susceptible larvae. Also, susceptible and field ticks treated with deltamethrin have CYP upregulation in midgut, that non-treated ticks. The ticks treated with ivermectin do not show alterations in CYP transcription in midgut. It was identified 43 neuropeptides in synganglion transcriptome. The most abundant transcript categories present in this tissue are: secreted, energetic metabolism and oxidant metabolism/detoxification. In a comparison to other *R. microplus* tissues, the synganglion presented 164 transcripts (mainly encoding for secreted proteins and neuropeptides) that are at least five-fold more abundant. Additional work is still required to clarify the relationship between CYP and acaricide resistance, and the role of neuropeptides in tick physiology.

Keywords: tick; resistance; cytochrome P450; neuropeptides; physiology.

Acknowledgments: CNPq, CAPES and INCT-EM

***Rhodnius prolixus* (Hemiptera; Triatominae) submetidos a altas temperaturas:
Avaliação do condicionamento e do papel das proteínas de choque térmico HSP 70 e
90**

Alvarez LC; Costa LM; Pessoa, GCD; Sant'Anna MRV; Gontijo NF; Koerich LB; Araújo
RN; Pereira MH

LFIH – Depto. Parasitologia – ICB/UFMG

Rhodnius prolixus é um dos principais triatomíneos vetores do *Trypanosoma cruzi* – agente etiológico da Doença de Chagas, na América Central e norte da América do Sul. Há vários fatores ambientais que impactam na biologia e fisiologia dos artrópodes, sendo a temperatura um dos mais importantes. No caso dos artrópodes hematófagos, o estresse térmico ocorre também pela alimentação do sangue vertebrado homeotérmico. Tem sido demonstrado que o repasto sanguíneo neste hospedeiro pode desencadear o aumento da síntese de proteínas de choque térmico (HSPs), proteínas chaperonas que atuam em vários mecanismos fisiológicos, como na manutenção do enovelamento correto das proteínas, as protegendo de formarem aglomerados ou de precipitarem, eventos comuns em condições de estresse e que podem inviabilizar o funcionamento celular. O objetivo deste projeto é avaliar o aumento da termoresistência e o papel das HSPs (70 e 90) de *R. prolixus* submetido a choques térmicos de curta duração (2 h). Inicialmente padronizou-se um teste para avaliar a termoresistência das ninfas de primeiro estágio (5 dias de idade). Os melhores resultados, considerando a distribuição da mortalidade dos insetos normais durante e após ao ensaio, foram obtidos com banho maria mantido à 41°C/12h (ensaio hipertérmico prolongado). Para avaliar a influência do condicionamento prévio na resistência térmica dos insetos, grupos de ninfas (n=30) foram submetidos ao choque de 40°C/2h (choque térmico curto). Os grupos receberam choques curtos por 3 dias (G1), 72h (G2), 48h (G3), 24h (G4), 2h (G5) antes do ensaio hipertérmico prolongado (41°C/12h) e o controle (G6) não recebeu choque prévio. A mortalidade foi avaliada a cada hora do ensaio e 24,48,72h pós ensaio. Também foram avaliados grupos tratados com dsRNA para HSP 70 ou 90, diluído em acetona por aplicação tópica no abdômen de ninfas recém-eclodidas e não tratados (controle). Estes grupos experimentais não receberam choque curto prévio antes do ensaio de termoresistência. A mortalidade foi avaliada a cada hora do ensaio e 24,48,72h pós ensaio. Nos resultados obtidos até o momento, a mortalidade dos insetos foi maior nos grupos controle (83%) e G5 (67%). Os grupos G4 e G3 apresentaram a menor mortalidade (20%). Já os grupos G2 e G1, tiveram uma mortalidade intermediária de 37% e 43%, respectivamente. Esses resultados mostram, entre os tratamentos testados, aqueles grupos submetidos a pelo menos um choque térmico curto prévio de 24-72h, desenvolveram uma proteção (adquirida) ao estresse hipertérmico ($p < 0,05$ -Kaplan Meier). Nos ensaios com ninfas tratadas com dsRNA, a mortalidade após 72h foi similar entre o grupo controle (43%) e dsHSP90 (37%), e significativamente menor nas tratadas com dsHSP70 (90%). Estes resultados sugerem que a HSP70 é importante na termoresistência inata de *R. prolixus*. O próximo passo será testar a influência das HSPs na proteção pelo condicionamento induzido por choque térmico curto.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*, Doença de Chagas, Resposta ao estresse térmico, Proteínas de choque térmico (HSP 70 e 90).

Financiamento: CAPES, CNPq, INCT-ENTOMOLOGIA

Physiological effects of sugary feeding in Triatomines

Costa, MC¹; Moreira, CJC¹; Juberg, J¹; Genta, FA^{1,2}

¹ Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brazil

Triatomines are vectors of *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease (also known as American trypanosomiasis), which are considered obligate hematophagous. However, different alternative eating behaviors have already been described. This illness affects 8 million people in the Americas, causing about 13,000 deaths per year. Currently, there is no effective vaccine, thus, control of the insect vector population is the preferred strategy. Despite the decrease in the number of cases of vector transmission in endemic countries, several outbreaks have recently been recorded in Brazil, Colombia and Venezuela, related to the consumption of contaminated foods, mainly sugar cane, bacaba, guava and açaí. The association of these insects with plants has always been considered as derived from the habitat preference of their vertebrate hosts. Triatomines collected in the field are usually found in a very poor nutritional state, supporting long periods of fasting. Our group reported sugar feeding and phytophagy in *Rhodnius prolixus*, suggesting that local plants may play a nutritional role in the maintenance of these insects. We also described the ingestion of different sugary solutions in several species of triatomines. However, many aspects related to the importance of sugary feeding in kissing bugs are unknown. The description of new food sources opens new perspectives for the study and control, through the elaboration of sugary baits. In this work, we propose a detailed study of the physiological, behavioral, microbiological and parasitological impacts of sugary food in triatomines.

keywords: Triatomines; Sugar; Insect; Chagas disease

Supported by FIOCRUZ, FAPERJ, CNPq and CAPES.

Ecologia e fisiologia das relações hídricas em ovos do percevejo *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaeidae)

Mariana M. de Andrade¹, Gustavo L. Rezende¹.

¹ LQFPP, CBB, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, - RJ.

A vida no planeta se originou na água e a terrestrialização foi um dos grandes eventos que marcaram a evolução dos organismos na terra. Dentre os animais que obtiveram maior sucesso no ambiente terrestre, a Classe Insecta se destaca. Insetos possuem diversas adaptações para viverem nos mais variados habitats, mas alguns fatores ecológicos e climáticos afetam a distribuição e frequência desses organismos. Assim, as previsões de alterações climáticas globais com cenários de aumento da temperatura, menor disponibilidade hídrica e secas severas, podem afetar diretamente os insetos. Por outro lado, algumas espécies possuem estratégias ecológicas e fisiológicas em estágios pós-embrionários que permitem lidar com um decréscimo na umidade relativa (u.r.) e perda de água, como migração, dormência e um exoesqueleto impermeável. No ovo a perda de água ocorre principalmente em função da respiração e a sua regulação hídrica se dá por meio de mecanismos distintos de outros estágios de vida e são ditados pela ecologia de cada espécie. Por exemplo, algumas espécies apresentam cuidado parental ou melanização da casca do ovo ou uma cutícula serosa. O percevejo *Oncopeltus fasciatus* possui ampla distribuição geográfica, deposita seus ovos na superfície de plantas e é facilmente mantido em laboratório. Não existem dados na literatura sobre as relações hídricas em seus ovos, sendo este o objetivo do presente projeto. Como resultado, foi feito o acompanhamento fotográfico dos ovos ao longo da embriogênese, em três experimentos independentes, totalizando 14 ovos. Obteve-se 3 vídeos em que 9 ovos eclodiram (viabilidade de 78%) e apresentaram mudança de cor de amarelo para laranja escuro. Desses 9 ovos, 7 demonstraram gradativo murchamento, 6 deles entre ~ 60 e 95% do desenvolvimento, sugerindo perda de água na parte final da embriogênese. Também será analisada a viabilidade e perda de peso em ovos mantidos ao longo da embriogênese em condições de u.r. baixa, "normal" e alta: 13, 66 e 100% u.r.. Dado preliminar aponta para uma redução de viabilidade em alta u.r. (quando comparado às baixas u.r. de 13 e 66%) além de alteração fenotípica na formação das ninfas. Relacionando com a literatura, o murchamento dos ovos ocorre após o fechamento dorsal do embrião quando o consumo de oxigênio ainda está aumentando, antes de se estabilizar com 70% de embriogênese. Os resultados sugerem maior adaptabilidade a ambientes mais secos e esse pode ser um fator que influencia a migração da espécie.

Palavras-chave: Terrestrialização, perda de água, eco-fisiologia.

Apoio financeiro: CAPES e FAPERJ.

A redução da absorção de colesterol em carrapatos impede o desenvolvimento dos embriões e a proteção antibacteriana dos ovos

Marina Amaral Xavier¹, Flávia Roberta Brust², Alexandre José Macedo^{1,2}, Itabajara da Silva Vaz Júnior^{1,3}, Carlos Termignoni^{1,4}

¹Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil;

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil;

³Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil;

⁴Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

Em carrapatos, além de ser componente das membranas celulares, o colesterol é precursor de moléculas como o hormônio 20-hidroxiecdisona e o antimicrobiano boophilina (um dos componentes da cera que recobre os ovos em *Rhipicephalus microplus*). No entanto, os carrapatos não possuem a via de síntese de colesterol, sendo a única fonte o sangue do hospedeiro. A hipótese deste trabalho é que interferir no metabolismo de colesterol, uma via fundamental e supostamente não redundante em carrapatos, pode ser uma abordagem para interferir na fisiologia dos carrapatos (usando inibidores de absorção de colesterol proveniente da dieta) e servir de base para o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de infestações. Fêmeas parcialmente alimentadas de *R. microplus* foram distribuídas em quatro grupos, e foram artificialmente alimentadas com sangue bovino contendo: (i) avasimibe; (ii) ezetimibe; (iii) DMSO; (iv) sangue sem aditivos. Após 24h, as fêmeas foram incubadas em estufa (28°C, 98% umidade) por 30 dias para determinação da capacidade de postura de ovos e eclosão das larvas. Após a alimentação artificial, intestino e órgão de Gené foram dissecados de três fêmeas de cada grupo, para extração de lipídeos totais. A camada de cera que recobre os ovos foi extraída daqueles ovos que não eclodiram do grupo avasimibe, e de ovos de fêmeas naturalmente alimentadas (cerca de 15 dias). O colesterol total dos tecidos e da camada de cera quantificado. Para analisar formação de biofilme, os ovos congelados foram incubados por 24h em meio contendo *Pseudomonas aeruginosa* e analisados por microscopia eletrônica de varredura. Foi observada uma redução na postura de ovos e na eclosão das larvas do grupo avasimibe, os ovos tinham a aparência escurecida e enrugada. O órgão de Gené das fêmeas do grupo avasimibe mostraram uma menor abundância de colesterol, embora o mesmo não tenha sido observado no intestino e na cera dos ovos. Interessantemente, a alimentação dos carrapatos com os inibidores do metabolismo do colesterol levou a uma diminuição da atividade antibacteriana da cera que recobre os ovos, já que foi observada aderência bacteriana e formação de biofilme na superfície destes ovos. O metabolismo do colesterol é uma via com potencial de ser usada como alvo de novos métodos de controle de carrapatos.

Palavras-chave: carrapato, colesterol, órgão de Gené, cera

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, INCT-EM.

Identificação, Caracterização, Expressão e Purificação da Proteína Ligadora de Odor 17 de *Rhodnius Prolixus* para Prospecção de Novos Compostos Comportamentalmente Ativos

NATHÁLIA F. BRITO¹, ANA C. A. MELO^{1,2}, WALTER S. LEAL³

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brazil.

³Department of Molecular and Cellular Biology, University of California, Davis, CA, 95616, USA

A manutenção da vida de insetos depende fortemente da interpretação de semioquímicos presentes no meio ambiente, cuja detecção evoca comportamentos de resposta (atração ou repelência) essenciais para a sobrevivência. A olfação é a modalidade sensorial responsável pelo processamento desta informação e ocorre basicamente nas antenas dos insetos. Diversas proteínas participam desse processo, dentre as quais se destacam as proteínas ligadoras de odor (OBPs), que representam a interface entre o meio ambiente e os neurônios sensoriais olfativos, sendo responsáveis pelo transporte de odores até os receptores olfativos (ORs), localizados na membrana desses neurônios. O estudo de proteínas envolvidas na olfação fornece informações para o desenvolvimento de produtos que visem impedir o contato de insetos vetores de doenças com o ser humano ou o controle populacional destes vetores. O objetivo principal deste projeto é a identificação e obtenção de uma OBP recombinante de *R. prolixus* que possa ser utilizada como alvo molecular na prospecção de compostos capazes de produzir comportamentos de resposta neste agente transmissor da doença de Chagas. OBPs previstas no genoma de *R. prolixus* que, quando avaliadas por PCR quantitativo, apresentarem transcritos abundantes em antenas, serão selecionadas como alvos de interesse. Após clonagem e sequenciamento das regiões codificantes correspondentes, essas proteínas serão então heterologamente expressas em *Escherichia coli* e purificadas. Em seguida, a afinidade de ligação de proteínas olfativas por compostos candidatos a atrativos/repelentes poderá ser investigada através de ensaios de ligação competitivos utilizando sonda fluorescente. Por fim, é possível avaliar se compostos com alta afinidade *in vitro* são, de fato, capazes de provocar uma resposta comportamental *in vivo*, através de ensaios comportamentais em olfatômetro. Partindo de dados proteômicos, ensaios iniciais de qPCR em diferentes tecidos do inseto identificaram a OBP17 de *R. prolixus* como alvo de interesse e, além do trabalho aqui previsto, foi iniciado um estudo de caracterização funcional desta proteína através de silenciamento por RNAi. Análises iniciais *in silico* confirmaram seu potencial como alvo molecular, a proteína foi heterologamente expressa no periplasma de *E. coli* com sucesso e um protocolo de purificação utilizando etapas de troca iônica e gel filtração foi estabelecido. A identidade da OBP17 recombinante purificada foi confirmada por espectrometria de massas, com auxílio do programa Mascot. A próxima etapa consiste na realização dos ensaios de ligação previstos na Metodologia e está temporariamente suspensa devido à pandemia de COVID-19, assim como os experimentos previstos para caracterização funcional, elaborados em paralelo. No momento, estudos mais detalhados de caracterização *in silico* estão sendo realizados e a afinidade de ligação entre a OBP17 e ligantes candidatos será avaliada através de docking molecular.

Palavras-chave: proteína ligadora de odor, comunicação química, *Rhodnius prolixus*, olfação

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, UC Davis

Avaliação de compostos anti-*Leishmania* em diferentes parâmetros da fisiologia do inseto vetor *L. longipalpis*

Ferreira T.N.¹, Brazil R.P.^{2,4} Torres-Santos E.C.³, Genta F.A.^{1,4}

¹Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos – Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ

²Laboratório de Doenças Parasitárias, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil

³Laboratório de Bioquímica de Tripanosomatídeos Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil

⁴Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brasil

As leishmanioses são doenças parasitárias infecciosas causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, que são transmitidos pela picada de flebotomíneos. Para redução no número de casos em países endêmicos é necessária a combinação de diferentes abordagens como o vigilância e controle vetorial e desenvolvimento de novos fármacos. Na fase adulta, esses insetos obtêm energia de açúcares de origem vegetal. Quanto aos parasitos, sabe-se que desenvolveram estratégias para sobreviver dentro do intestino do vetor. Em trabalhos prévios mostramos que metabólitos secundários de plantas que apresentaram efeito anti-*Leishmania in vitro*, também reduziram a longevidade de adultos de *L. longipalpis* e a porcentagem de insetos infectados. Dados da literatura vem descrevendo compostos sintéticos com atividade antiparasitária, produzidos a partir de outros metabólitos secundários, que podem ser uma alternativa às drogas atuais no tratamento das leishmanioses. No entanto, esses efeitos foram estudados apenas nos parasitos e não na infecção do vetor. Assim, pretendemos avaliar o efeito desses compostos em diferentes aspectos da fisiologia de *L. longipalpis*, adicionando-os na dieta açucarada. Em testes de atração/repulsão, usando gaiolas de acrílico com divisória e entrada de ar, observamos que o composto L4 apresenta efeito atrativo enquanto que o composto P9 mostrou efeito repulsivo em fêmeas. Em experimentos de quantificação de solução açucarada contendo drogas antiparasitárias ingeridas, verificamos que L1 (fêmeas), L3 (fêmeas), L4 (machos), L5, L7 (fêmeas - ambos), P8 (machos) e P10 (machos) parecem gerar efeito fago-inibidor. Com relação à preferência entre as dietas verificamos que L2 (machos), L7 (fêmeas), P8, P9 e P10 tiveram maior preferência por pela dieta experimental, enquanto L1, L2 (fêmeas), L3, L4, L5, L6 e L7 (fêmeas), P8, P9 e P10, tiveram efeito contrário. Dos testes em andamento avaliando a longevidade, nenhum dos compostos reduziu o tempo médio de vida. Os compostos testados podem vir a ser incorporados em testes de campo de novas ferramentas de controle da transmissão de *Leishmania*.

Palavras-chave: *L. longipalpis*, compostos anti-*Leishmania*, atratividade/repulsão, preferência e ingestão e longevidade.

Análise funcional do gene *elovl2* na embriogênese do besouro *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Ulli Barros Oliveira¹; Helena Carolina Martins Vargas²; Gustavo Lazzaro Rezende¹

¹Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

²Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas e Vetores, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

O *Tribolium castaneum* é uma espécie de coleóptera cosmopolita, considerado uma praga de grãos armazenados. Devido a características como o curto ciclo de vida, a facilidade na manutenção de sua criação e sua importância econômica, esse inseto tem sido modelo de estudo em diversas áreas. O nosso grupo já mostrou que genes da família *elovl* são importantes durante o desenvolvimento embrionário de *T. castaneum*. Os genes *elovl* são encontrados em todos os organismos eucariotos, apresentando-se bem conservados ao longo da evolução. Genes *elovl* codificam elongases, enzimas que atuam na via de biossíntese de ácidos graxos de cadeia muito longa. Esses ácidos graxos compõem vários outros tipos de lipídios, são precursores de hidrocarbonos (HCs) e desempenham diversos papéis biológicos. O gene *Tc-elovl2*, quando silenciado em *T. castaneum* via RNAi, acarreta grande mortalidade nos ovos, apesar do embrião se desenvolver normalmente durante sua embriogênese inicial. O objetivo deste trabalho é investigar a função do gene *elovl2* na embriogênese de *T. castaneum*. Para cumprir tal intento, esse projeto possui os seguintes objetivos específicos com as respectivas metodologias: i) determinar a expressão de *Tc-elovl2* na embriogênese tardia através de RT-PCR, qRT-PCR e hibridização *in situ*; ii) confirmar silenciamento específico de *Tc-elovl2*, após injeção de dupla fita de RNA, através de qRT-PCR; iii) observar o desenvolvimento embrionário tardio de embriões após silenciamento de *Tc-elovl2* via microscopia de fluorescência e marcação com DAPI; iv) determinar quais efeitos o silenciamento de *Tc-elovl2* acarreta nos ovos em sua embriogênese tardia (a metodologia dependerá dos resultados obtidos no objetivo iii); v) determinar quais lipídios ou HCs deixam de ser formados após silenciamento para *Tc-elovl2* via cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa e vi) confirmar que *Tc-elovl2* codifica uma elongase funcional através de expressão heteróloga em *Saccharomyces cerevisiae*. Como resultados preliminares foi determinada a expressão de *Tc-elovl2* em toda a embriogênese de *T. castaneum* e também foi observada a morfologia do embrião nos intervalos de tempo entre 0-24 horas, 24-48 horas e 48-72 horas da embriogênese após o silenciamento de *Tc-elovl2*. Foi observado um desenvolvimento normal em todos os intervalos de tempo analisados. Esperamos que os resultados encontrados contribuam para o avanço na compreensão do papel dos genes *elovl* em insetos.

Palavras-chave: coleóptera, desenvolvimento embrionário, lipídeos.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERJ

INTERAÇÃO PATÓGENO-VETOR

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS CELULARES DE *IXODIDAE* COMO MODELO DE ESTUDO NA INTERAÇÃO ENTRE CARRAPATO E *LEISHMANIA SPP*

Silvestre, B.F¹; Fonseca, A.H²; Motta, M.C.M³; Bell-Sakyi, L⁴; Pinto-Silva, L.H¹.

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Instituto de Veterinária – Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Instituto de Veterinária - Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública

³Universidade Federal do Rio de Janeiro - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

⁴The Pirbright Institute, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, UK; Department of Infection Biology, Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, Liverpool L3 5RF, UK.

A leishmaniose é um grupo de doenças negligenciadas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e os cães domésticos são o principal reservatório na área periurbana. Muitos cães infectados de áreas pobres são severamente infestados por ectoparasitas, como o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. Sua estreita associação com cães levantou a hipótese de que carrapatos poderiam ser vetores do parasita. O objetivo deste estudo foi estabelecer um modelo para avaliar a interação da *Leishmania* com células de carrapatos a fim de analisar seus aspectos celulares e bioquímicos. Foram utilizados promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* e linhagens celulares embrionárias de *Ixodes scapularis* (IDE8) e *R. sanguineus* (RML-RSE) em comparação com células de linhagem de *Lutzomyia longipalpis* (LL5). As células foram incubadas com promastigotas de *L. amazonensis* ou *L. infantum* nos tempos de 2, 24 e 48 horas a 34 ° C. Os resultados mostraram que os parasitas são endocitados por células de carrapatos e permanecem em um vacúolo justaposto, conforme demonstrado por microscopia eletrônica de transmissão. O índice de associação não apresentou diferença significativa nos tempos de interação entre RML-RSE ou IDE8 com *L. amazonensis*. No entanto, houve um aumento de 3 vezes para RML-RSE e *L. infantum* após 24 horas de infecção em comparação com o tempo de 2 horas. Não foi observado diferença significativa na interação entre *L. infantum* e LL5 nos tempos de 2h e 24h. A viabilidade celular da célula de carrapato foi analisada pela atividade da lactato desidrogenase (LDH) após 48 h de infecção e não apresentou alteração. Assim, os dados preliminares indicam a capacidade de *Leishmania spp.* interagir com células de carrapatos *in vitro* e sugere uma relação espécie-específica entre *L. infantum* e *R. sanguineus*.

Palavras-chave: Leishmaniose, células de carrapato, interação, *L. infantum*.

Apoio financeiro: CAPES, CNPQ, FAPERJ

Development of transmission blocking vaccines against visceral leishmaniasis using as targets both parasite and vector

Thais Lemos-Silva; Helena Carolina Martins Vargas; **Erika Moutinho Costa**; Antônio Jorge Tempone; Yara Maria Traub-Csekö.
Laboratório de Biologia Molecular de Parasitos e Vetores, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

Visceral leishmaniasis (VL) is a neglected tropical disease that affects mainly low- and middle-income regions, with a death rate of up to 10%. Brazil is one of the countries with the highest incidence of the disease. Despite the attempts for the control of VL, the lack of effectiveness in treatments and vector management is still a major concern. Therefore, the development of new strategies, like transmission blocking vaccines (TBVs), is a necessity. TBV is known as an altruistic method of disease control considering that it was developed to induce immunization against molecules, from the parasite or the insect, that impairs parasite development and thus transmission by the vectors. The general aim for this project the development of an alternative method for the control of visceral leishmaniasis, a vaccine that blocks the transmission by the sandfly vector. The specific objectives to be reached are: (1) Identification of promising targets in the parasite *L. infantum* and in the vector *L. longipalpis*; (2) Validation of those targets with the use of artificial infection model in sandflies in the presence/ absence of target's anti-serum; (3) Use of animal model (hamster/ mice) to analyze the immunization capacity of the target molecules followed by the transmission blocking test through sandfly feeding on those immunized animals. For the identification and validation of *L. infantum* targets, our group has been studying and identifying molecules whose expression varies throughout the infection in the vector *L. longipalpis*. Those molecules are interesting candidates that might be involved in the success of the infection. Regarding the identification of promising targets in the vector *L. longipalpis*, our group has already identified a strong candidate, the gut-specific chitinase L1chit. This enzyme is responsible for the degradation of the peritrophic matrix (PM), which is a structure that compartmentalizes the bloodmeal and is degraded by chitinases (L1chit1) at the end of digestion. It is known that the PM degradation process is crucial for the sandfly's digestion and interferes with *leishmania*'s development. After the identification of TBVs candidates, production of recombinant proteins and antisera, and the validation of these candidates through sandfly artificial infection and antisera feeding, they will be inoculated in mice and hamsters. In conclusion, we expect to have immunized mice/hamsters that would be able to block the transmission of *Leishmania*.

Keywords: transmission blocking vaccines, visceral leishmaniasis, control

Financial Support: Projeto Inova - Fiocruz

Influência da Infecção por *Leptomonas Wallacei* (Trypanosomatidae) na Morfologia, Fisiologia e Comportamento de *Oncopeltus Fasciatus* (Hemiptera, Lygaeidae)

Fernanda A. M. da Silveira¹; Ariane J. S. Gama¹; Felipe de Almeida Dias²;

Luiz R. C. Vasconcellos¹; Inês Corrêa Gonçalves¹ e Angela H. Lopes¹

¹ Laboratório de Bioquímica de Microrganismos, Departamento de Microbiologia Geral, IMPG, UFRJ. ² Laboratório de Artrópodes Hematófagos, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, UFRJ.

Oncopeltus fasciatus é um hemíptero fitófago e hospedeiro natural do tripanossomatídeo *Leptomonas wallacei*. Formas promastigotas infectam o intestino médio do hospedeiro, encontrando-se livres no lúmen ou aderidas à membrana perimicrovilar. Nosso grupo tem mostrado que insetos não infectados possuem maior tamanho corporal, asas e demais apêndices maiores e com menos deformidades, vivem mais, copulam com maior frequência e geram maior prole. Fêmeas infectadas depositam menos ovos, apresentam maior reabsorção de ovos e alterações em seus ovários. Quando quantificado o gene *intersex* (*ix*), relacionado com desenvolvimento do aparelho reprodutor, identificou-se uma expressão invertida em machos e fêmeas das 2 colônias. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo avaliar as diferenças no comportamento sexual, morfologia e fisiologia de *O. fasciatus* infectados por *L. wallacei*. Ninfas de 4º estágio (n=10) foram induzidas a ingerir dsRNA para silenciamento do gene *ix*. Para o comportamento sexual, observou-se a seleção sexual de fêmeas (n=31) diante de parceiro novo e parceiro já conhecido. Para a reprodução em diferentes condições de infecção, foram separados 4 grupos: casais infectados (I), não infectados (NI), ♀ infectada x ♂ não infectado (FI) e ♀ não infectada x ♂ infectado (MI). Machos infectados e não infectados tiveram seus testículos dissecados em solução salina e fotografados. Dados preliminares mostraram que ovários de fêmeas não infectadas silenciadas e testículos de machos infectados silenciados estavam consideravelmente atrofiados. Fêmeas não infectadas tiveram preferência por novo macho (51,6%) enquanto fêmeas infectadas preferiram o macho com o qual já haviam copulado anteriormente (54,8%), geralmente após diversas tentativas de corte e da não aproximação do novo macho. Somente 32,3% das fêmeas infectadas preferiram o novo macho e 12,9% não voltaram a copular novamente. A quantidade de ovos postos nos grupos MI e FI foi menor que I e NI, principalmente quando o macho estava infectado (47%). Machos não infectados apresentaram deformidades leves nos testículos (20%) enquanto machos infectados apresentaram testículos com severas deformidades (60%). Estudos anteriores mostraram que o silenciamento de *ix* em fêmeas gera uma morfologia externa similar à do macho. Assim, a infecção por *L. wallacei* parece alterar o comportamento sexual dos insetos e induzir as deformidades tanto em ovários como nos testículos.

Palavras-chave: Aparelho Reprodutor, seleção sexual, RNAi e *intersex*.

Apoio: FAPERJ, CNPq, Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM), CAPES.

**Avaliação de genes diferencialmente expressos no cérebro e corpo gorduroso de
Rhodnius prolixus infectado com *Trypanosoma rangeli*.**

Nevoa, J.¹; Lorenzo, M.¹; Pais, F.²; Estivalis, J.³; Guarneri, A¹.

1 - Grupo de Comportamento de Vetores e Interação com Patógenos, Instituto René Rachou, FIOCRUZ-MG. 2 – Plataforma de Bioinformática, Instituto René Rachou, FIOCRUZ-MG. 3 – Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Os triatomíneos são insetos hematófagos que, além da espoliação sanguínea que causam, podem transmitir parasitos como o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas e o *Trypanosoma rangeli*. Já são bem conhecidos os efeitos patogênicos produzidos pelo *T. rangeli* no seu principal hospedeiro invertebrado *Rhodnius prolixus*. Entretanto, pouco se sabe ainda sobre os mecanismos moleculares que modulam os processos de interação entre esses dois organismos. Nesse contexto, o presente projeto tem como objetivo realizar um estudo de genômica funcional a partir da análise da expressão diferencial de genes de *R. prolixus* infectados por *T. rangeli*. O trabalho é realizado a partir da análise transcriptômica de amostras de cérebro e corpo gorduroso de ninfas de *R. prolixus* infectadas a cepa CHOACHI de *T. rangeli*. As amostras já foram sequenciadas, e a partir destes dados, está sendo realizada uma análise para identificação e caracterização dos transcritos que estão são expressos em condições basais, nas amostras controles. Além disso, os dados de expressão diferencial dos genes em relação à infecção, serão detectados e utilizados para a seleção de candidatos para avaliação do seu papel na infecção. A expressão relativa dos genes candidatos será validada por PCR em tempo real e sua função avaliada através de silenciamento por RNA de interferência e posterior análise fenotípica que incluirá o estudo da dinâmica da infecção e ensaios comportamentais, que poderão incluir a avaliação da atividade locomotora e uso de abrigos, além de outros ensaios que se mostrarem relevantes.

Apoio Financeiro: CNPq, Capes e Fiocruz Minas.

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE WEST NILE VIRUS EM CULEX QUINQUEFASCIATUS, SAY 1823

Lúcia Aline Moura Reis¹; Joaquim Pinto Nunes Neto²; Eliana Vieira Pinto da Silva³

¹Universidade do Estado do Pará (UEPA), Programa de Pós Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (PPGBPA).

²Instituto Evandro Chagas (IEC), Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Laboratório de Entomologia Médica.

³Instituto Evandro Chagas (IEC), Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Laboratório de Cultura de Células.

O *West Nile virus* (WNV) é um arbovírus neurotrópico transmitido por mosquitos do gênero *Culex spp.*, particularmente o *Culex pipiens* nos Estados Unidos. No ciclo de transmissão, as aves silvestres são hospedeiros naturais e os mamíferos atuam como hospedeiros acidentais, devido alguns vetores realizarem repasto sanguíneo em aves e mamíferos, dentre eles o *Cx. quinquefasciatus*. No Brasil, o vírus foi isolado em 2018 de equino proveniente do Espírito Santo durante surto de doenças neurológicas. Desse modo, o presente estudo tem por objetivo avaliar a susceptibilidade do *Cx. quinquefasciatus* a infecção pelo WNV isolado no Brasil. Estudo experimental, onde 150 fêmeas (F3) foram expostas por 50 minutos a sangue de carneiro desfibrinado contendo WNV (VNO BEAN 854747) a uma proporção de 1,5:3,0 ml. Ao final, as fêmeas ingurgitadas (n=85) foram separadas em gaiola entomológica e acompanhadas por 21 dias, sendo segmentadas em lotes de cabeça e corpo em 7°, 14° e 21° dias de pós-infecção (dpi), com nove mosquitos por lote. Após a titulação da suspensão viral o sobrenadante dos lotes foi inoculado em células C6/36 e analisados por Imunofluorescência Indireta (IFI). A suspensão viral apresentou título de $1,42 \times 10^8$ PFU/mL e as amostras inoculadas apresentaram efeito citopático a partir do 5° dpi sendo coletadas para IFI no 7° dpi. Os lotes de cabeça do 7° dpi apresentaram resultado negativo e os de corpo resultado positivos. Das amostras do 14° dpi apenas um lote de cabeça e todos os lotes de corpo apresentaram positividade. Todos os lotes de cabeça e corpo do 21° dpi apresentaram resultado positivo. A partir dos resultados do estudo, conclui-se que o *Cx. quinquefasciatus* da região metropolitana de Belém é susceptível a infecção artificial com WNV, faz-se necessário estudos mais detalhados em regiões anatômicas como intestino médio, glândula salivar e saliva para caracterizá-lo como possível vetor para transmissão do WNV no Brasil.

Palavras-chave: Infecção Experimental; *Culex quinquefasciatus*; *West Nile virus*.

Apoio Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO

Determinação dos efeitos do silenciamento gênico de uma proteína inibidora de apoptose (IAP) sobre o processo de apoptose do carrapato *Amblyomma sculptum*

Marcelly Bastos Nassar, Eliane Esteves, Sirlei Daffre, Andréa C. Fogaça.

Depto de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

A febre maculosa das Montanhas Rochosas é uma doença severa que acomete o homem. No Brasil, seu agente etiológico, a bactéria intracelular obrigatória *Rickettsia rickettsii*, é transmitido pela picada dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma aureolatum*. Após a picada do carrapato, a bactéria, que é inoculada juntamente a saliva, invade e se prolifera nas células endoteliais, causando vasculite. A disseminação da vasculite pode ser fatal caso atinja órgãos como o cérebro e os pulmões. Apesar de estar restrita às células endoteliais do hospedeiro vertebrado, *R. rickettsii* infecta todos os órgãos dos carrapatos, incluindo os ovários. Portanto, além de vetores, esses artrópodes são reservatórios da bactéria. É conhecido que bactérias intracelulares utilizam diferentes mecanismos para evadir aos mecanismos de defesa das células hospedeiras, incluindo o atraso da apoptose, de modo a completar o seu desenvolvimento. A apoptose é um processo de morte celular programada presente em todos os organismos multicelulares e é ativada por duas vias principais: a via intrínseca (ou mitocondrial) e a via extrínseca (ou via receptores de morte). Ambas culminam na ativação de caspases, as quais são fundamentais tanto para a ativação quanto para a execução da apoptose. As caspases são reguladas por membros da família de proteínas inibidoras de apoptose (IAPs), que possuem 1-3 cópias do domínio BIR (do inglês, *baculoviral IAP repeat*) in tandem, que inibem a atividade das caspases. Algumas IAPs de artrópodes também apresentam o domínio RING, que possui atividade de E3 ubiquitina ligase. O objetivo desse projeto é avaliar os efeitos do silenciamento gênico de uma IAP, mediado por RNA de interferência, sobre a alimentação sanguínea e a aquisição de *R. rickettsii* pelo carrapato *A. sculptum*.

Palavras-chaves: apoptose, carrapato, caspase, IAP, riquetsia.

Apoio financeiro: CAPES, FAPESP

MICROBIOTA

Comparative analysis of the microbiota of two natural tick vectors of *Rickettsia rickettsii*

Daniel B. Pavanelo¹, Nicolas C. H. Schröder¹, Natalia D. P. Viso², Larissa A. Martins¹, Camila D. Malossi¹, Eliane Esteves¹, Géssica de Souza¹, Maria F. B. M. Galletti¹, Marcelo B. Labruna³, Sirlei Daffre¹, Marisa Farber², Andréa C. Fogaça¹

¹Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; ²Institute of Agrobiotechnology and Molecular Biology, IABiMo, INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina; ³Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine and Husbandry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

Although the ticks *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma aureolatum* are important vectors of *Rickettsia rickettsii*, causative agent of the life-threatening Rocky Mountain spotted fever, *A. aureolatum* is considerably more susceptible to infection than *A. sculptum*. As the microbiota can interfere with the colonization of arthropod midgut (MG) by pathogens, in the current study we analyzed the MG microbiota of both tick species. Adult female ticks, infected or not (control) with *R. rickettsii* in the larval stage, were fed on rabbits for three days. After, they were dissected and the MGs were collected for DNA extraction. In order to quantify total bacteria, qPCR for 16S rRNA (V2 region) was performed, as well as for the *gltA* gene, genus-specific of *Rickettsia*, to quantify the infection. Our results revealed that the MG of *A. aureolatum* harbors a prominent microbiota, while *A. sculptum* does not. Remarkably, a significant reduction of the bacterial load was recorded in *R. rickettsii*-infected *A. aureolatum*. In addition, DNA of some samples was pooled, V3-V4 regions of 16S rRNA were amplified and sequenced to identify the microbiota bacterial composition. The taxonomy analysis of the MG bacterial community of *A. aureolatum* revealed a dominance of the genus *Francisella*, suggesting an endosymbiosis. Due to low yield of DNA from *A. sculptum*, we could not obtain good quality sequences for this species. This study was the first step in getting insights into the mechanisms underlying the interactions among *Amblyomma* species, their microbiota and *R. rickettsii*. We are currently characterizing the microbiota of the MG, the salivary glands and the ovaries of *A. aureolatum* and *A. sculptum* exposed or not to infection with *R. rickettsii* in the larval stage and fed for 8 days on rabbits. Combined with the already published work, these new data will help us to better understand the interactions among vector, pathogen and endosymbionts, and may also support the development of novel alternatives to block rickettsial transmission.

Keywords: host-microbe interaction; microbiota; rickettsiae; tick; vector competence.

Financial support: FAPESP, CNPq and CAPES.

Diversidade da microbiota intestinal de *Aedes albopictus*
(Diptera: Culicidae) em áreas com diferentes paisagens do Rio
de Janeiro

João Miranda da Costa Baltar, Rafael Maciel de Freitas, Márcio Galvão Pavan, Mariana
Rocha David

Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários/IOC-Fiocruz

Aedes albopictus é responsável pela transmissão de DENV e CHIKV na Ásia e África, respectivamente, sendo, em condições de laboratório, competente para transmitir diversos arbovírus. No Brasil, este mosquito tem um papel vetorial ainda indefinido, mas é designado como potencial vetor ponte de vírus em interfaces urbano-florestal. A microbiota intestinal vem sendo estudada pelo seu potencial em influenciar infecções por arbovírus em mosquitos e também o desenvolvimento e biologia destes vetores. Sabe-se que o ambiente é importante na formação da microbiota, contudo pouco se sabe a respeito da influência da paisagem. Assim, o presente estudo visa caracterizar a microbiota intestinal de três populações de *Ae. albopictus* provindas de áreas com diferentes paisagens (comunidade/ bairro arborizado/ floresta) no Rio de Janeiro, Brasil. Cerca de 30 fêmeas adultas foram coletadas por localidade nas estações inverno (seca) e verão (chuvosa) e tiveram seu intestino médio removido e armazenado em PBS a -30 °C. Além disso, a geração F1 de cada população e uma linhagem de *Ae. albopictus* de >20 gerações em laboratório foram criadas em insetário, a partir das quais 20 fêmeas tiveram o conteúdo intestinal processado como descrito acima. O DNA total será extraído dos intestinos e submetido a PCR do gene 16S rRNA, cujos *amplicons* serão encaminhados para sequenciamento em Illumina MiSeq. As seqüências obtidas serão analisadas para determinação da diversidade, riqueza e abundância de taxa bacterianos, além de comparação das amostras geograficamente e temporalmente. Esperamos obter informações quanto à influência da paisagem, criação em campo ou laboratório, sazonalidade e população do vetor na composição da microbiota intestinal de *Ae. albopictus*.

Palavras-chave: *Aedes albopictus*, microbiota e ambiente

Apoio financeiro: INOVA FIOCRUZ – Edital Jovens Talentos, CNPq (Edital Universal 2018, FAPERJ (Edital Prog. Pesq. Zika, Chikungunya e Dengue) e CAPES (Código 001).

“Isolamento e caracterização de fungos cultiváveis associados à *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) criadas em laboratório”

Nascimento, L.S.¹; Miranda, R.¹; Costa, L.G.²; Genta, F.A.¹;

¹ Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro

² Laboratório de Taxonomia, Bioquímica e Bioprospecção de Fungos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro

Lutzomyia longipalpis é o principal vetor da Leishmaniose Visceral na América Latina. Trata-se de uma das doenças tropicais negligenciadas mais graves que acomete principalmente as populações de países pobres, como o Brasil. Flebotomíneos são insetos holometábolos, apresentando no seu desenvolvimento as fases de ovo, larva, pupa e adulto. Os adultos se alimentam de açúcares de fontes vegetais e de secreções de afídeos, além da alimentação sanguínea necessária para a ovogênese das fêmeas. Através dessas diferentes fontes alimentares, esses dípteros podem ingerir também microrganismos, que de acordo com a literatura, influenciam no ciclo de desenvolvimento do parasito dentro dos vetores, além de influenciar em outros aspectos da fisiologia dos insetos. Com base nisso, vários estudos tem contribuído para o conhecimento da diversidade microbiana presente no tubo digestório de adultos de flebotomíneos. Entretanto, poucos trabalhos abordam a diversidade microbiana em larvas. Atualmente, o estudo da diversidade fúngica no trato digestório dessas fases imaturas do inseto e sua relação com a biologia e fisiologia das larvas é totalmente escasso, o que justifica o desenvolvimento do presente estudo. Neste sentido, o trabalho em questão visa isolar e identificar fungos que fazem parte da microbiota dos diferentes estágios de desenvolvimento de *L. longipalpis* (ovo, larva, pupa e adulto) e da sua dieta na colônia, dando uma ênfase maior na fase larval, a fim de verificar o impacto destes sobre a biologia e fisiologia dessas fases imaturas do inseto.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*, microbiota intestinal, fungos, insetos vetores.

Apoio financeiro: CAPES

SISTEMA IMUNE

Neuroendocrine interactions in *Rhodnius prolixus* immune system: ecdysone importance on gut microbiota and basal immunity.

Cecilia Stahl Vieira, Caroline da Silva Moraes, Marcela Barbosa Figueiredo, Suelen Bastos Pereira, Paul Dyson, Daniele Pereira de Castro, Cícero Brasileiro Mello, Patrícia Azambuja

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Rhodnius prolixus is an insect vector of *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease in Latin America. Despite the medical relevance of *R. prolixus* this species has been considered an interesting model to study the insect physiology. Several papers described aspects of the relation between insect humoral defenses and neuroendocrine system, although molecular mechanisms of hormonal regulation of *R. prolixus* immunity are not clear. The knowledge about how the neuroendocrine system modulates the *R. prolixus* immune responses are crucial to identifying molecular components involved in the interface of parasite-vector interaction. Since it is known that the triterpenoid natural product, azadirachtin, inhibits the ecdysone synthesis of *R. prolixus*, the present work evaluated the basal humoral immunity and the homeostasis of gut bacterial microbiota by hormonal reposition therapy. Insect groups were fed on blood containing azadirachtin or azadirachtin plus ecdysone and the effects of these treatments on ecdysis, expression of antimicrobial peptides (AMPs), as well as in nuclear factor kappa B transcription factors (NF- κ B) genes *RpDorsal* and *RpRelish* were evaluated. In addition, the impact of azadirachtin on *Serratia marcescens*, an abundant bacterial species that compose *R. prolixus* microbiota was also analyzed. Our results demonstrated that azadirachtin promoted a rapid inhibition of AMPs gene expression, with exception of defensin C which was late super expressed in azadirachtin treated insects. The NF- κ B TF genes were also modulated in response to the triterpenoid ingestion and a dysregulation of microbiota proliferation dynamics was observed. The concomitant administration of ecdysone and azadirachtin in *R. prolixus* blood meal reverted the azadirachtin effects in insect molt and restored the mRNA levels of AMPs. Here, we suggested an additional role of the neuroendocrine system in the *R. prolixus* physiology. These findings contribute to the understanding of important factors which regulates gut microbiota and promotes intestinal homeostasis in vector insects.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*, ecdysone, Immune system, Antimicrobial Peptides, Microbiota

Apoio financeiro: FAPERJ, INCT-Entomologia Molecular

Imunomodulação da saliva de *Stomoxys calcitrans* em neutrófilos infectados por *Leishmania amazonensis*

Ludmila Pereira¹, Melissa Florencio¹, Dayana Rosa¹, Lucia Helena Pinto-da-Silva² & Patrícia Fampa¹

1-Laboratório de Parasitos e Vetores, Departamento de Ciências Farmacêuticas, ICBS-UFRRJ

2- Laboratório de Imunologia e Virologia Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, IV-UFRRJ

Stomoxys calcitrans, conhecidos popularmente como mosca-dos-estábulo, são insetos hematófagos da ordem díptera. Sua picada causa forte dor nos hospedeiros que são principalmente bovinos e equinos, gerando quando em grandes números importante perda sanguínea e estresse que leva à perda de peso e redução na produção de leite, com grande impacto econômico na atividade agropecuária. Durante a alimentação sanguínea, o inseto pode transmitir mecanicamente vários patógenos ao hospedeiro, o que gera ainda mais prejuízos. A saliva de insetos hematófagos possui diversas moléculas farmacologicamente ativas que facilitam sua alimentação, além de afetar a infecção de patógenos que transmitem por efeitos imunomoduladores em seus hospedeiros. Esse potencial imunomodulador pode afetar diferentes células do sistema imune, dentre elas os neutrófilos, que participam da primeira linha de defesa do hospedeiro contra infecções e estão envolvidas na fagocitose, apoptose e netose que é um processo de morte celular em que há liberação de uma “rede” extracelular que aprisiona e auxilia na eliminação de patógenos. No sialoma de *S. calcitrans* foram encontradas entre outras moléculas interessantes, nucleases, serino proteases, antígeno-5 (Wang *et al.*, 2009). Diante do disposto, o presente trabalho tem como objetivo verificar as propriedades imunomoduladoras dos componentes da saliva de *S. calcitrans* em neutrófilos infectados por *Leishmania amazonensis*, através da avaliação da carga parasitária presentes em neutrófilos infectados tratados e não tratados com extrato da glândula salivar da mosca, além de visualizar sua ação na formação de NET (neutrophils extracellular traps) por essas células, para melhor compreensão dos efeitos da saliva de *Stomoxys calcitrans* no sistema imune do hospedeiro.

Palavras-chave: *Stomoxys calcitrans*, Sistema imune, Neutrófilos.

Apoio financeiro: Faperj & CAPES

Respostas imunes de larvas de *Aedes aegypti* desafiadas por diferentes bactérias

Garcia, M. M. M.¹, Miranda, R. P. R.¹, Castro, D. P.¹

¹ Laboratório Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ

O *Aedes aegypti* é um mosquito da família Culicidae, vetor de arbovirus que causam doenças ao homem, as principais sendo dengue, febre amarela, Zika e chikungunya. Seu ciclo biológico possui quatro estágios, sendo: ovo, larva, pupa e adulto. No estágio larval, são indivíduos detritívoros, pois se alimentam de partículas sólidas e micro-organismos, como bactérias, por isso sua presença em seu criadouro pode ser uma ameaça imunológica. A melanização é a resposta imune gerada pela ação da enzima fenoloxidase (PO) que pode atuar associada a respostas celulares como nodulação e encapsulação, mas também atua como resposta humoral. Nesse projeto visamos estudar o efeito de microrganismos na resposta imunológica, viabilidade e ecdise das larvas de *A. aegypti*. As larvas foram desafiadas imunologicamente com diferentes tipos e espécies de bactérias, sendo elas: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* e *Staphylococcus aureus*. Para o desafio das larvas diferentes volumes de solução das bactérias na concentração de 1×10^8 CFU/mL (10 μ L, 100 μ L e 1000 μ L) são adicionados a tubos de 50mL contendo 10 larvas em fase L3 e volume final de água mais bactéria de 15mL. As larvas ficam em contato com as diferentes bactérias por um período de 24h. Após esse período, as larvas são preparadas para os ensaios de respostas imunes. A atividade da fenoloxidase é quantificada após incubação das amostras de larvas (pool de 2 larvas) com dihidroxifenilalanina (4 mg/mL) e tampão cacodilato e lidas em 490nm a cada 5 minutos por 40 minutos no leitor de microplacas. As amostras de larvas desafiadas com *E. coli* na concentração mais alta (1×10^6) apresentou significativamente ($p > 0,01$) maior atividade de fenoloxidase do que o grupo controle. Em relação a bactéria *S. marcescens*, as larvas desafiadas apresentaram significativamente maior atividade de fenoloxidase nas concentrações de 1×10^5 ($p > 0,05$) e 1×10^6 ($p > 0,001$) em comparação com o grupo controle. Já nas larvas desafiadas com *S. aureus* não observamos diferenças na atividade da enzima em comparação ao grupo controle.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, fisalinas, imunidade, larvas.

Apoio financeiro: PIBIC/CNPq

O Metabolismo redox como modulador da resposta de tolerância em *Aedes albopictus* infectado com o vírus dengue

Klein-Junior, V. J. C.; Rocha, M. M; Mansur, D. S; Oliveira, J. H. M.

Universidade Federal de Santa Catarina

Arbovírus são vírus transmitidos pela picada de artrópodes infectados, principalmente por mosquitos *Aedes* spp; como o vírus zika, febre amarela, chikungunya e dengue. Estimativas feitas em 2013, citam que 390 milhões de pessoas têm infecções por vírus dengue, com 96 milhões de casos anualmente em todo o mundo. Nas Américas, a doença custa em média 2,1 bilhões de dólares por ano, excluindo o controle de vetores, superando os custos de outras doenças virais. Não há tratamento antiviral ou vacina eficiente e o combate ao mosquito vetor é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde como a mais eficiente estratégia anti-dengue disponível atualmente. Apesar da presença de altas cargas virais e ciclos replicativos, a infecção nos insetos não gera impacto negativo em sua saúde, tornando-os tolerantes aos arbovírus. Isso ocorre pela ativação de vias imunológicas e por estímulos fisiológicos disparados pela alimentação com sangue. Dessa forma, investigações a respeito dos mecanismos envolvidos na interação mosquito-vírus tem sido alvo de intensos estudos com objetivo final de bloquear a competência vetorial do mosquito e assim impedir a transmissão de doenças. Nesse sentido, hipotetizamos que os mecanismos de proteção antioxidante envolvidos na alimentação do mosquito *Aedes albopictus* promovem tolerância durante a infecção por arbovírus. Para testá-la, executou-se dois tipos de experimentos: A - determinação do padrão de expressão de genes candidatos a efetores da resposta de tolerância no intestino médio de *A. albopictus* infectados com dengue. B - determinação da taxa de mortalidade de mosquitos infectados com vírus através de curvas de sobrevivência. Os dados preliminares gerados confirmaram o fenótipo de tolerância dos mosquitos durante infecção por dengue. Foi demonstrado que a ativação transcricional de genes candidatos a promotores de tolerância, como a glutamina sintetase, apresentou expressão relativa de 1000 vezes no intestino de mosquitos infectados. Futuros experimentos ainda serão realizados para determinar os mecanismos moleculares envolvidos na manutenção de infecções virais persistentes em mosquitos vetores.

Palavras-chave: Infecção viral, imunidade mosquitos, tolerância viral.

Apoio Financeiro: Instituto Serrapilheira, CNPq

PARASITOLOGIA

Análise do silenciamento gênico dos genes que codificam enzimas modificadoras de histonas em estágios parasitários do *Schistosoma mansoni*.

Giulliana Galdini Costa, Fernanda Janku Cabral

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

A esquistossomose, popularmente conhecida como “barriga d’água”, ainda é uma doença negligenciada que afeta vários países, dentre eles o Brasil. O medicamento mais utilizado no combate a essa doença é o Praziquantel, porém ele não é eficaz contra o estágio de esquistossômulos e vermes jovens do *S. mansoni* e não impede a reinfecção do paciente pelo parasita. Ao longo dos anos, foram surgindo cada vez mais estudos para se buscar novos alvos terapêuticos e com isso, viu-se grande importância no aprofundamento do estudo dos genes que codificam enzimas modificadoras de histonas, sabendo-se agora que elas têm um importante papel na ativação ou na inibição da transcrição gênica. E, para que possamos entender melhor o funcionamento de cada uma dessas enzimas, utilizaremos a técnica do silenciamento gênico através do RNAi, que é o grande foco deste projeto. Então, foram selecionados três genes que transcrevem diferentes proteínas (Smp_137240, Smp_053140 e Smp_034000), escolhidas mediante estudo prévio (Projeto regular FAPESP #2017/07364-9), e serão aplicadas as técnicas do silenciamento gênico por RNAi, as técnicas de *Western Blotting* e *PCR Real Time* para verificarmos se o silenciamento de fato ocorreu.

Palavras-chave: RNA interferente; esquistossomose; *Schistosoma mansoni*.

Apoio financeiro: CNPq – PIBIC, FAPESP (#2017/07364-9), FAEPEX (#2020/2051)