

Atividade de voo de linhagens endogâmicas recombinantes de *Aedes aegypti*



Nome: Clara Regina Pereira Abreu

Colégio Pedro II – Campus Engenho Novo II

Orientador: Luiz Guilherme Soares da Rocha Bauzer

Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE)

IOC – FIOCRUZ



Introdução

O *Aedes aegypti* é um mosquito da ordem díptera que pode ser transmissor de doenças como: Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela urbana. Menor que os mosquitos comuns, o *A. aegypti* é caracterizado por ser preto com listras brancas em seu tronco, cabeças e patas. Para diferenciar seu sexo percebemos que o macho é consideravelmente menor que as fêmeas e também contém antenas plumosas¹.

Devido à falta de vacinas, a prevenção da Dengue, Zika e Chikungunya se baseia principalmente no controle do inseto vetor. O uso de inseticidas vem sendo prejudicado devido à forte seleção de resistência aos poucos compostos permissíveis de serem utilizados. Com isso, é necessário o desenvolvimento de novas formas de controle que dependem de um conhecimento mais aprofundado tanto de aspectos fundamentais da biologia do *A. aegypti* quanto de mais específicos, como os que regem a capacidade vetorial.

A geração de Linhagens Endogâmicas Recombinantes (LERs) para uma determinada espécie permite que a variação genética natural seja segregada em linhagens isogênicas, o que facilita o mapeamento da variação genômica e o estudo de associações geno-fenotípicas, como já ilustrado em organismos modelo²⁻⁴. As LERs podem então ter fenótipos caracterizados para depois, com o sequenciamento genômico, se desvendar as bases genéticas da variação fenotípica.

O Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE), do Instituto Oswaldo Cruz, está gerando as primeiras LERs em *A. aegypti* para caracterizar os genes envolvidos no controle de fenótipos associados à capacidade vetorial.

O objetivo principal desse experimento foi caracterizar a atividade de voo de três LERs de *A. aegypti* utilizando a linhagem de laboratório Rockefeller como referência. Como a atividade de voo está diretamente relacionada à velocidade de disseminação da doença, a descoberta de fenótipos extremos e sua caracterização genética auxiliará em métodos moleculares e comportamentais de combate a este inseto vetor.

Metodologia

Avaliamos a atividade de voo de adultos nas linhagens isogênicas LER#95, LER#132 e LER#230.

As etapas do experimento foram:

Pré: Ovos de cada linhagem foram eclodidos em uma bacia com 1L de água não clorada e ração de peixe para alimentação das larvas. Uma semana depois as pupas que surgiram foram catadas e colocadas em copinhos dentro de gaiolas com uma mamadeira com solução de glicose a 10%. Quando os adultos emergiram, descartamos os mais velhos do primeiro dia para que o experimento fosse conduzido com adultos da mesma idade.

Durante: Adicionamos 20 machos e 20 fêmeas de cada linhagem em tubos cilíndricos de vidro de 2,5 centímetros de diâmetro, espessura suficiente para que os mosquitos pudessem voar dentro dos tubos. Os mosquitos foram individualmente alojados nos tubos de vidro com um tampo de algodão embebido em solução de glicose a 10%. Os tubos foram inseridos em um monitor de atividade locomotora que foram colocados em uma sala regulada para temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro (CE 12: 12) durante 5 dias e mais 5 dias de escuridão constante (Figura 1). A atividade locomotora foi registrada individualmente a cada momento em que o mosquito cruzou o meio do tubo, interrompendo um feixe de luz infravermelha. Para cada mosquito, 48 pontos de coleta de dados, representando a atividade locomotora total em intervalos de 30 minutos, foram obtidos durante os dias de monitoramento.

Pós: Os tubos foram recolhidos e lavados e os dados foram transferidos do computador, organizados em planilhas Excel e analisados.

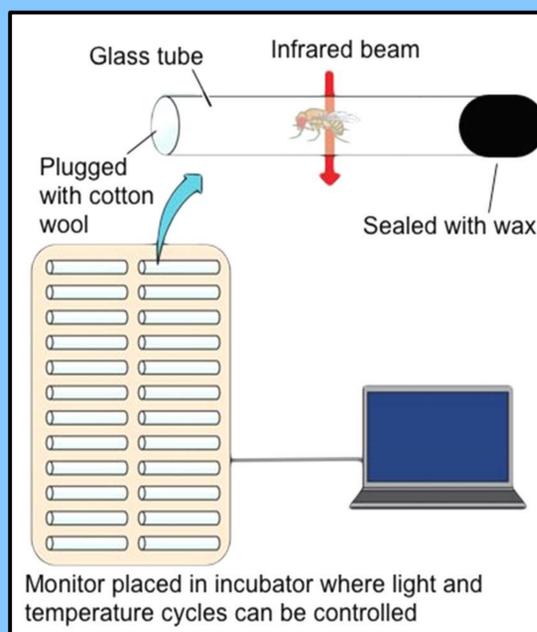


Figura 1. Etapas para medição e registro de atividade de voo

Resultados

Os dados indicam que a atividade de voo dos machos é menos nítida do que as das fêmeas. Mesmo com um padrão de atividade de voo mais sujo, observa-se uma maior atividade dos machos da linhagem isogênica LER#230 na segunda metade da fotofase e durante o pico de atividade, que normalmente ocorre na transição da fotofase para a escotofase (Figura 2)

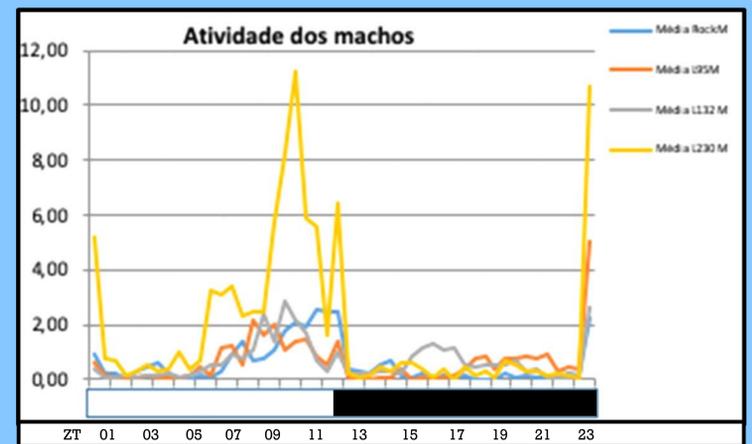


Figura 2. Perfil de atividade de voo de machos em linhagens isogênicas de *Aedes aegypti*. Barra branca indica a fotofase e barra preta indica a escotofase. ZT: Zeitgeber Time.

Os dados de atividade de voo das fêmeas corroboram aqueles obtidos com os machos, apontando a linhagem isogênica LER#230 como a mais ativa na segunda metade da fotofase e durante o pico de atividade, que normalmente ocorre na transição da fotofase para a escotofase (Figura 3).

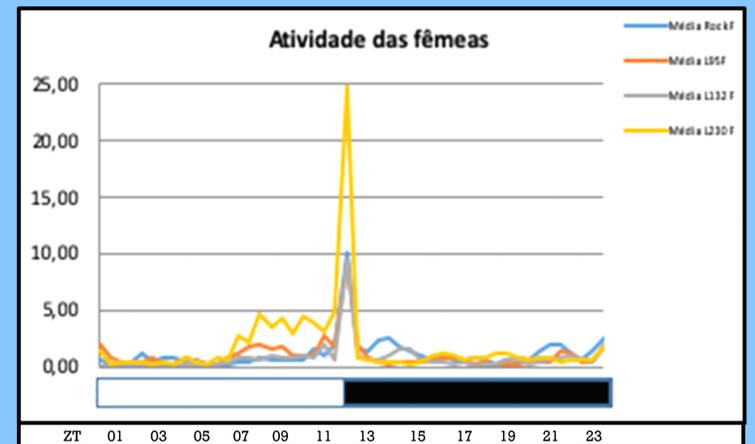


Figura 3. Perfil de atividade de voo de fêmeas em linhagens isogênicas de *Aedes aegypti*. Barra branca indica a fotofase e barra preta indica a escotofase. ZT: Zeitgeber Time.

Novos experimentos estão sendo conduzidos para aferir reprodutibilidade dos resultados e incrementar o poder da análise estatística.

Conclusão

A linhagem isogênica LER#230 mostrou um fenótipo extremo, com maior atividade de voo. Na natureza, mosquitos com este perfil comportamental teriam maior sucesso em disseminar os arbovirus que carregam. O sequenciamento genômico desta linhagem permitirá desvendar as bases genéticas que controlam este fenótipo permitindo a elaboração de novas estratégias de controle.

Bibliografia

- <https://mosquito.saude.es.gov.br/aedes-aegypti>
- Mackay, T. F., Stone, E. A. & Ayroles, J. F. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics* **10**, 565–77 (2009).
- Williams, E. G. & Auwerx, J. The Convergence of Systems and Reductionist Approaches in Complex Trait Analysis. *Cell* **162**, 23–32 (2015).
- Gasch, A. P., Payseur, B. A. & Pool, J. E. The Power of Natural Variation for Model Organism Biology. *Trends in Genetics* **32**, 147–154 (2016).

Agradecimentos

- Instituto de Biologia do Exército (IBEx)
- Laboratório de Biologia Molecular de Insetos/IOC