

ANAIS DO 1º WORKSHOP DE BIOLOGIA MOLECULAR DE ÁCAROS DO BRASIL

8 A 12 DE MARÇO DE 2021



LABORATÓRIO DE
ACAROLOGIA UNIVATES



EDITORA
UNIVATES

Noeli Juarez Ferla
(Org.)

Anais do 1º Workshop de Biologia Molecular de Ácaros do Brasil

1ª edição



EDITORA
UNIVATES

Lajeado, 2021



Universidade do Vale do Taquari - Univates

Reitora: Profa. Ma. Evania Schneider

Vice-Reitora e Pró-Reitora de Ensino: Profa. Dra. Fernanda Storck Pinheiro

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação: Prof. Dr. Carlos Cândido da Silva Cyrne



EDITORA
UNIVATES

Editora Univates

Edição: Glauber Röhrig e Marlon Alceu Cristófoli

Capa:

Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado – RS, Brasil

Fone: (51) 3714-7024 / Fone: (51) 3714-7000, R.: 5984

editora@univates.br / <http://www.univates.br/editora>

W926 Workshop de Biologia Molecular de Ácaros do Brasil (1. : 2021 : Lajeado, RS)

Anais do 1º Workshop de Biologia Molecular de Ácaros do Brasil, 08 a 12 de março de 2021, Lajeado, RS / Noeli Juarez Ferla (Org.). – Lajeado : Editora Univates, 2021.

18 p.

ISBN 978-65-86648-39-3

1. Biologia molecular. 2. Ácaros. 3. Anais. I. Ferla, Noeli Juarez Ferla. II. Título.

CDU: 577.2:595.42

Catálogo na publicação (CIP) – Biblioteca Univates
Bibliotecária Maria Helena Schneider – CRB 10/2607

As opiniões e os conceitos emitidos, bem como a exatidão, adequação e procedência das citações e referências, são de exclusiva responsabilidade dos autores.

COMISSÃO ORGANIZADORA

PRESIDENTE DA COMISSÃO:

Noeli Juarez Ferla

COMISSÃO ORGANIZADORA:

Darliane Evangelho Silva

Guilherme Liberato Da Silva

Joseane Moreira Do Nascimento

Liana Johann

Luiz Liberato Costa Correa

Rita Tatiane Leão Da Silva

COMISSÃO CIENTÍFICA:

Aline Daniele Tassi

Denise Navia Magalhaes Ferreira

Guilherme Liberato Da Silva

Joseane Moreira Do Nascimento

Juliana De Freitas Astua

Liana Johann

Miodrag Grbic

Renata Santos De Mendonca

Vojislava Grbic

PALESTRANTES:

Aline Danielle Tassi

Almir Rogerio Pepato

Denise Navia Magalhaes Ferreira

Enrico de Lillo

Gabriella Dias Arena

Juliana De Freitas-Astúa

Liana Johann

Luís Fernando Saraiva Macedo Timmers

Maria Andréia Nunes

Maria Cristina Vitali Queiroz

Maria Navajas

Marie-Stéphane Tixier

Mario Eidi Sato

Miodrag Grbic

Noeli Juarez Ferla

Pavel Klimov

Pedro Luis Ramos-González

Renata Santos De Mendonca

Valdenice Moreira Novelli

Vojislava Grbic

PROGRAMAÇÃO DO EVENTO

8 DE MARÇO

9H - JUAREZ FERLA
PALESTRA DE
ABERTURA DO EVENTO

9H15 - MARIA NAVAJAS
GENETIC AND GENOMIC
RESOURCES FOR THE STUDY
OF MITES

10H15 - MIODRAG GRBIC
NEW NANOBIO MATERIAL
FROM THE SILK OF MITE

19H - RENATA MENDONÇA
ACARI: PRIMEIROS PASSOS PARA
MANIPULAR SEQUÊNCIAS DE DNA

9 DE MARÇO

9H15 - MARIE STÉPHANE TIXIER
AN INTEGRATIVE APPROACH
FOR ADVANCING THE
MITE SYSTEM

10H15 - RENATA MENDONÇA
TAXONOMIA INTEGRATIVA
RASTREANDO A DIVERSIDADE
CRÍPTICA

19H - ALMIR PEPATO
APPLICATION OF MOLECULAR
DATA FOR SPECIES DELIMITATION,
PHYLOGEOGRAPHY AND PHYLOGENY
OF SOME LINES OF PROSTIGMATA

20H15 - PAVEL KLIMOV
METAGENH OMIC ANALYSES OF NEXT
GENERATION SEQUENCING DATA
WITHBLOBTOOLS AND KRAKEN

10 DE MARÇO

**9H - GABRIELLA ARENA
E PEDRO GONZALES**
DESENHO DE PRIMERS
PARA PCR E QPCR

19H45 - JULIANA ASTÚA
VÍRUS TRANSMITIDOS
POR ÁCAROS

20H30 - ALINE TASSI
INTERAÇÕES ENTRE
BREVIPALPUS SP. X VTB

19H - ENRICO DE LILLO
GRAPE ERINEUM
STRAIN OF COLOMERUS
VITIS - FINDING AND NOTES

11 DE MARÇO

9H15 - VOJISLAVA GRBIC
DEVELOPMENT OF NEW TOOLS
AGAINST RESISTANT MITES

10H15 - MARIO SATO
RESISTÊNCIA DE
PREDADORES A PESTICIDAS

19H15 - DENISE NAVIA
FERRAMENTAS MOLECULARES
PARA MELHORAR OU CONTRIBUIR
PARA O CONTROLE APLICADO

20H15 - MARIA NUNES
PERSPECTIVAS DE RNAI
EM ÁCAROS

12 DE MARÇO

9H - LUIS FERNANDO TIMMERS
MODELAGEM COMPARATIVA
APLICADA A PROTEÍNAS DE ÁCAROS

14H15 - VALDENICE NOVELLI
GENÔMICA E TRANSCRIPTÔMICA
DE ÁCAROS BREVIPALPUS

**14H15 - VALDENICE NOVELLI,
MARIO SATO E DENISE NAVIA**
MESA-REDONDA: PERSPECTIVAS
PARA O BRASIL

APRESENTAÇÃO

O I Workshop sobre Biologia Molecular de Ácaros do Brasil foi pensado para acontecer de forma presencial, pois não tínhamos eventos com enfoque em biologia molecular de ácaros no Brasil. Reuniu os principais grupos que trabalham com Biologia Molecular de ácaros no Brasil. Com o advento da pandemia foi necessário organizar o evento de forma online. Assim, este evento foi executado com participantes de várias regiões do mundo ao mesmo tempo, tanto palestrantes quanto inscritos.

O financiamento obtido via Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), no edital PAEP-02-2019, possibilitou a comissão organizadora e científica trabalhar para preparar um evento virtual e diferente dos eventos científicos convencionais. A Universidade do Vale do Taquari – Univates disponibilizou equipe técnica profissional, à disposição durante todo o evento, e Plataforma Univates Ao Vivo para a transmissão. As reuniões internas e o contato e ajuda de pesquisadores brasileiros possibilitou a organização do Evento na forma que apresentamos aqui.

Conseguimos alcançar o objetivo proposto do evento, isto é, consolidar e expandir a área de estudos em biologia molecular de ácaros no Brasil, reunindo pesquisadores brasileiros e estrangeiros renomados na área e de pesquisadores que estão iniciando seus estudos. Esse evento possibilitou o estreitamento de relações entre grupos de pesquisa nacionais e internacionais, proporcionará o compartilhamento de metodologias de pesquisa, expertise em análises complexas, principalmente de bioinformática, além de visualizar possibilidades de intercâmbio de pesquisadores e alunos entre as instituições envolvidas.

O evento teve 544 inscritos de 12 países, a saber, Brasil, Itália, Argentina, Chile, México, Bélgica, Colômbia, Estados Unidos, República Dominicana, Bolívia e Trinidad e Tobago. O grande número de inscritos demonstra que

temos uma frequência de eventos muito aquém do esperado na área de Biologia Molecular, especialmente na América Latina. Também conseguimos, com os recursos que recebemos, contratar tradução para as palestras que utilizam a língua inglesa e o espanhol. Desta forma acreditamos que não houveram maiores problemas para os brasileiros participarem das palestras e o nosso objetivo maior que é capacitar brasileiros em Biologia Molecular de ácaros foi garantido.

O laboratório de Acarologia da Univates se sente honrado de organizar e executar este evento tão importante para a Acarologia Brasileira. Ao observar o número de inscritos e o alto nível dos pesquisadores palestrantes, estamos convencidos de que foi um evento importante, significativo e de sucesso. Um divisor de águas para a Biologia molecular de ácaros no Brasil. Acreditamos contribuir para que ela floresça e o caminho mais adequado e promissor é propagandear e dar conhecimento aos profissionais para que possam produzi-la e utilizá-la intensamente nas decisões de sua vida. Por mais funcional ou facilitador que seja um evento online, estar presente, apertar a mão, sorrir, abraçar é algo que nos faz falta, que precisamos.

SUMÁRIO

EXTRAÇÃO DE DNA EM ÁCAROS 10

Fagner D'ambroso Fernandes, Daniele da Silva, Fabiana Raquel Ratzlaff, Gisele Vaz Aguirre Samoel, Vanessa Osmari, Luis Antonio Sangioni, Fernanda Silveira Flores Vogel

SELEÇÃO DE PROTEÍNAS ESPECÍFICAS DO ÁCARO TETRANYCHUS URTICAE (ACARI: TETRANYCHIDAE) VISANDO O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ACARICIDAS..... 12

Kettlin Ruffatto, Camila da Silva, Luis Fernando Saraiva Macedo Timmers, Raul Antonio Sperotto

CARACTERIZAÇÃO DE UMA PROTEÍNA ESPECÍFICA DO ÁCARO TETRANYCHUS URTICAE PARA O DESENVOLVIMENTO DE POTENCIAIS BIO ACARICIDAS 14

Camila Rockenbach da Silva, Kettlin Ruffatto, Raul Antonio Sperotto, Luis Fernando Saraiva Macedo Timmers

SIMBIONTES OBRIGATÓRIOS VS AMPLA DISTRIBUIÇÃO - DISTRIBUIÇÃO PRELIMINAR DE ÁCAROS DE PENAS EM SABIÁS BRASILEIROS INDICAM QUE A GEOGRAFIA IMPORTA..... 16

Luiz Gustavo de A. Pedroso, Pavel B. Klimov, Fabio Akashi Hernandez

EXTRAÇÃO DE DNA EM ÁCAROS

DNA EXTRACTION IN MITES

Nome dos autores: Fagner D'ambroso Fernandes¹, Daniele da Silva¹, Fabiana Raquel Ratzlaff¹, Gisele Vaz Aguirre Samoel¹, Vanessa Osmari¹, Luis Antonio Sangioni¹, Fernanda Silveira Flores Vogel¹

Afiliação dos autores: 1- Universidade Federal de Santa Maria

Nome dos apresentadores: Fagner D'ambroso Fernandes

RESUMO:

Alguns ácaros podem servir como vetores de agentes zoonóticos, sendo protozoários, bactérias e vírus alguns destes agentes. O fato destes realizarem hematofagia, proporcionam maiores possibilidades de contaminação com algum destes agentes, possibilitando problemas em saúde-pública. Com todas estas possibilidades de transmissão de agentes, a biologia molecular é uma importante ferramenta para diagnóstico, monitoramento e controle destas zoonoses transmitidas através destes vetores. Entretanto estas análises exigem padronização das técnicas de extração, de amplificação de DNA e correta interpretação. Este trabalho pretende elucidar algumas metodologias relativas à extração de DNA de ácaros através de pesquisa bibliográfica. Para realização da extração de DNA, alguns ácaros podem ser preparados através de maceração, ou simplesmente submetidos às soluções de kits comerciais para extração de DNA com o ácaro inteiro sem maceração. Estes ainda podem ser preparados de forma seca ou em soluções. Relacionado ao número de ácaros em cada extração, podem ser extraídos em pools ou em formas isoladas. Para isto, algumas particularidades são avaliadas. Algumas extrações em forma de pool, podem proporcionar economia de kit, bem como a realização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase- PCR. Porém, não define-se exatamente qual o ácaro que apresentou DNA amplificado havendo necessidade de revisar todas as amostras de forma individualizada, realizando novamente a extração e análise através da PCR. Em contrapartida, as amostras de forma individualizada, apresentam os

benefícios de não ter que realizar novamente as extrações e a PCR. Para tanto, o custo pode tornar-se elevado em grande número de amostras. O tamanho do ácaro ou a região que pretende-se extrair também podem ser discutidos. Quando o DNA alvo está contido em uma quantidade de tecido pequena em relação ao tamanho do órgão, poderá ser realizada a extração individual do fragmento para aumentar as possibilidades de que a extração seja realizada do fragmento alvo de DNA alvo e vice-versa. Alguns produtos da extração podem interferir na qualidade da PCR. O álcool 70% apresenta-se como um dos principais entraves para PCR. Para evitar estes inibidores da PCR, a atenção para realizar a completa remoção, são fundamentais. Portanto, sabemos que cada protocolo de extração de DNA é individual e deve ser avaliada quais os benefícios para cada ácaro e cada agente a ser submetido a um determinado método ou kit de extração.

PALAVRAS-CHAVE:

acarologia, biologia molecular, extração

KEYWORDS:

acarology, molecular biology, extraction

SELEÇÃO DE PROTEÍNAS ESPECÍFICAS DO ÁCARO TETRANYCHUS URTICAE (ACARI: TETRANYCHIDAE) VISANDO O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ACARICIDAS

SELECTION OF SPECIFIC PROTEINS FROM TETRANYCHUS URTICAE MITE (ACARI: TETRANYCHIDAE) AIMING AT THE DEVELOPMENT OF NEW ACARICIDES

Nome dos autores: Kettlin Ruffatto¹, Camila da Silva¹, Luis Fernando Saraiva Macedo Timmers¹, Raul Antonio Sperotto¹

Afiliação dos autores: 1- Universidade do Vale do Taquari - Univates

Nome dos apresentadores: Kettlin Ruffatto

RESUMO:

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal oleaginosa em termos de produção e consumo, sendo uma das culturas agrícolas mais importantes para a economia do Brasil. Entretanto, essa cultura vem sofrendo com infestações de ácaros, cujos ataques mais severos foram registrados em regiões do Rio Grande do Sul e resultaram em perdas significativas nas plantações. Atualmente, a principal espécie de ácaro que afeta a produção de soja é o *Tetranychus urticae* Koch. Tendo em vista o alto impacto dessa praga para as culturas de soja, torna-se necessária a busca por alternativas que minimizem a propagação deste ácaro.

Dentre as diferentes metodologias, a bioinformática possibilita o estudo de um grande conjunto de dados em um curto período de tempo, podendo ser empregada para a identificação de proteínas potenciais para o desenvolvimento de acaricidas, levando em consideração o princípio da toxicidade seletiva. Este trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar estruturalmente proteínas específicas de *T. urticae*, as quais serão utilizadas como alvos moleculares para a seleção de pequenas moléculas que possam modular a atividade destas proteínas. A primeira etapa do trabalho foi a identificação de proteínas específicas de ácaros, através da genômica comparativa, onde foi comparado o genoma de quatro organismos diferentes (*T. urticae*, *G. max*, *Homo sapiens* e *Apis mellifera*). O genoma de cada organismo foi obtido do banco de dados NCBI (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia). O programa BLAST+ foi utilizado para identificar proteínas homólogas e não homólogas. A segunda etapa do trabalho foi realizada por meio de uma busca sequencial onde foi encontrado 6.224 proteínas específicas, essas proteínas foram comparadas com sequências depositadas no Banco de Dados de Proteínas (PDB) para verificar a existência de estruturas tridimensionais similares determinadas experimentalmente. Filtrou-se 42 pequenas moléculas com o potencial de modular a atividade da enzima alvo. A etapa que está em andamento é o Docking Molecular que consiste em prever a posição, orientação e afinidade do ligante em nossa proteína alvo. No presente trabalho, estão sendo utilizados bases de dados de pequenas moléculas derivados de produtos naturais. A partir dos resultados computacionais, serão selecionadas as moléculas com maior afinidade para iniciar os testes de toxicidade em plantas e ácaros.

PALAVRAS-CHAVE:

Soja. Bioinformática. Docking. Bioacaricida. Protéina.

KEYWORDS:

Soybean. Bioinformatics. Docking. Acaricide. *Tetranychus urticae*.

CARACTERIZAÇÃO DE UMA PROTEÍNA ESPECÍFICA DO ÁCARO TETRANYCHUS URTICAE PARA O DESENVOLVIMENTO DE POTENCIAIS BIO ACARICIDAS

CHARACTERIZATION OF A SPECIFIC PROTEIN FROM TETRANYCHUS URTICAE MITE FOR THE DEVELOPMENT OF POTENTIAL BIO ACARICIDES

Nome dos autores: Camila Rockenbach da Silva¹, Kettlin Ruffatto¹, Raul Antonio Sperotto¹, Luis Fernando Saraiva Macedo Timmers¹

Afiliação dos autores: 1- Universidade do Vale do Taquari - Univates

Nome dos apresentadores: Camila Rockenbach da Silva

RESUMO:

O Brasil é o segundo maior produtor de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) do mundo, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por uma produtividade média de 11,44 milhões de toneladas no ano de 2020. A produção, no entanto, sofre com a incidência de ácaros que estão causando perdas significativas nas plantações. Atualmente, a principal espécie de ácaro que afeta a produção de soja é o *Tetranychus urticae* Koch. O *T. urticae* é um ácaro fitófago pertencente a ordem Acari da família Tetranychidae, conhecido morfológicamente por possuir duas manchas escuras em seu dorso. Este ácaro apresenta altas taxas de reprodução e provoca mosqueado clorótico, resultando no comprometimento da fotossíntese e levando a queda das folhas. A bioinformática possibilita o estudo de um conjunto de dados através de técnicas computacionais em um curto

período de tempo, podendo ser empregada para a identificação de proteínas potenciais para o desenvolvimento de acaricidas, levando em consideração o princípio da toxicidade seletiva. Com isso, este trabalho tem como objetivo expressar, purificar e caracterizar estruturalmente uma enzima específica de *T. urticae*, a qual será utilizada como alvo molecular para a seleção de pequenas moléculas que possam modular a atividade desta proteína. A primeira etapa do trabalho foi a caracterização estrutural da proteína específica do *T. urticae* por meio da modelagem molecular comparativa implementada no programa Modeller. Assim, concluímos que a estrutura desta enzima é composta por oito hélices-alfa e dez fitas-beta, e seu sítio ativo está localizado na porção mais externa. A segunda etapa foi a elaboração dos testes de expressão da enzima, realizados em *Escherichia coli* cepas BI21 (DE3), C41 (DE3) e C43 (DE3). A transformação ocorreu por meio de choque térmico e a bactéria foi semeada em placas de Petri com meio Luria Bertani (LB) com ampicilina incubada a 37°C overnight. A terceira etapa foi a realização do pré-inóculo, onde uma colônia isolada foi inoculada em 10 mL de meio LB com ampicilina, incubada a 37°C overnight em um agitador a 180 rpm por 12 horas. A partir do pré-inóculo realizamos o inóculo em 1000mL de LB com ampicilina, incubado a 37°C, sob agitação de 180 rpm até atingir uma densidade óptica no valor de 0,4-0,6. Atualmente, estamos realizando os testes de expressão e purificação da enzima, assim como a triagem computacional de pequenas moléculas com potencial ação bio acaricida que possam atuar modulando a atividade desta enzima.

PALAVRAS-CHAVE:

Tetranychus urticae. Acaricida. Modelagem molecular. Bioinformática.

KEYWORDS:

Tetranychus urticae. Acaricide. Molecular modeling. Bioinformatics.

SIMBIONTES OBRIGATÓRIOS VS AMPLA DISTRIBUIÇÃO - DISTRIBUIÇÃO PRELIMINAR DE ÁCAROS DE PENAS EM SABIÁS BRASILEIROS INDICAM QUE A GEOGRAFIA IMPORTA

OBLIGATE SYMBIONTS VS WIDE DISTRIBUTION - PRELIMINARY DISTRIBUTION OF FEATHER MITES ON BRAZILIAN THRUSHES INDICATES THAT GEOGRAPHY MATTERS

Nome dos autores: Luiz Gustavo de A. Pedroso¹, Pavel B. Klimov², Fabio Akashi
Hernandes³

Afiliação dos autores: 1- Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Rio
Claro, São Paulo (FAPESP 2016/11671-1 and 2018/21504-0),

2- Department of Ecology and Evolutionary Biology, Museum of Zoology Research
Museums Center, University of Michigan, Ann Arbor, USA,

3- Departamento de Ecologia e Zoologia, CCB/ECZ, Trindade, Universidade Federal
de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil, CNPq-Brazil Researcher
(304479/2019-5).

Nome dos apresentadores: Luiz Gustavo de Almeida Pedroso

RESUMO:

Spatial distribution of highly specialized symbionts usually follows their host geographic distributions. Exceptions are relatively rare, even in hosts with wide distribution range. Feather mites (Acariformes: Analgoidea and Pterolichoidea)

are highly specialized obligate symbionts associated in all bird groups. These ectosymbionts are specialized to different microhabitats on their hosts and sometimes show high levels of host specificity. This latter feature indicate that feather mites' distribution may follows their host's, completely or partially; however, few bird-mite systems have been examined in this regard. Here, we investigate co-biogeography of feather mites and Brazilian thrushes (*Turdus* spp.) using molecular and morphological evidence. We sampled feather mites from 3 widespread thrush species, *Turdus rufiventris*, *Tu. leucomelas*, and *Tu. amaurochalinus*, and one Amazonian, *Tu. ignobilis* inhabited by mites of the genus *Amerodectes* (Proctophyllodidae). Based on Kimura-2-parameters (K2P) CO1 distance, we found a strong partitioning among feather mites from northern regions in comparison with central and southern birds in Brazil. At least two haplotypes of the mite *Amerodectes turdinus* were recorded with a large molecular gap (K2P=>9.1%), one only on northern *Turdus leucomelas*, *Tu. rufiventris* and *Tu. ignobilis*, whereas the second occurred only on central and southern birds, including *Tu. leucomelas* and *T. rufiventris*. Yet, different haplotypes of northern *A. turdinus* were recorded at longitudinal level, one on *Tu. leucomelas* and *Tu. rufiventris* from eastern Amazon, and another on *Tu. ignobilis* at the western (K2P=>5.2%). No clear morphological discontinuities among the haplotypes were identified, indicating possible cryptic species. Our investigation indicates that the distribution of mites on Brazilian thrushes is geography dependent instead of host dependent. Historical isolation between bird's Amazonian and Sub-Atlantic populations is likely the factor responsible for the observed mite distribution pattern. Longitudinal divergence among mites from *Tu. ignobilis* also evidences a recent partition of mites among northern thrushes, indicating no correlation of mite's distribution with their host's phylogeography. Nevertheless, our data also revealed gene flow among thrush's mites, exposing the importance of unspecific horizontal transmissions in governing mite's thrush specificity and distribution in Brazil.

PALAVRAS-CHAVE:

Espécies crípticas, biogeografia, simbiontes, coevolução, Astigmata, Analgoidea.

KEYWORDS:

cryptic species, biogeography, symbionts, coevolution, Astigmata, Analgoidea.



UNIVATES

R. Avelino Talini, 171 | Bairro Universitário | Lajeado | RS | Brasil
CEP 95914.014 | Cx. Postal 155 | Fone: (51) 3714.7000
www.univates.br | 0800 7 07 08 09