

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

MATEUS VITORINO GUIMARÃES

**WOLBACHIA: CARACTERÍSTICAS GERAIS, INTERFERÊNCIAS
NA REPRODUÇÃO DE ARTRÓPODES E SUA UTILIZAÇÃO CONTRA
O DENGUE VÍRUS**

Belo Horizonte

2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
MATEUS VITORINO GUIMARÃES**

**WOLBACHIA: CARACTERÍSTICAS GERAIS, INTERFERÊNCIA
NA REPRODUÇÃO DE ARTRÓPODES E SUA UTILIZAÇÃO CONTRA
O DENGUE VÍRUS**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Pós-graduação em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito à obtenção do título de Especialista.

Orientador: Fábio Luis Bondezan da Costa, PhD.

Belo Horizonte

2017

RESUMO

Bactérias endossimbiontes são encontradas em várias espécies de artrópodes. A *Wolbachia* é uma bactéria que está presente em cerca de 70% dos artrópodes, pertencente ao filo Alpha-proteobacteria da família das Anaplasmataceae. Atualmente está ganhando grande destaque em projetos de saúde pública e pesquisas, devido a sua habilidade de bloquear e proteger espécies de artrópodes de infecções virais, e pela sua habilidade de diminuir o tempo de vida de mosquitos transmissores da Dengue. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão de literatura, obtendo uma visão global sobre vários aspectos que norteiam a *Wolbachia*. Para tal, foram realizados levantamentos de artigos científicos em base de dados no NCBI (PUBMED), entre outros. O processo de infecção pode ocorrer naturalmente por duas vias: transferência vertical ou horizontal. A bactéria é capaz de alterar fenótipos do hospedeiro podendo ser benéficos ou maléficos, alguns dos principais mecanismos alterados destacam-se a incompatibilidade citoplasmática e a morte de machos, que são fatores importantes que proporcionam o sucesso de disseminação da bactéria dentro de populações de artrópodes. O bloqueio do vírus pela bactéria foi comprovado após a inoculação da bactéria em *Aedes aegypti*, demonstrando ser um mecanismo importante para a diminuição dos casos de dengue, uma vez que a bactéria se sobrepõe sobre o vírus e confere uma “imunidade” ao mosquito. Conclui-se que esta metodologia para controle do vetor da dengue é considerada ecológica, de baixo custo e eficaz, uma vez que os casos epidemiológicos podem ser diminuídos.

Palavras-chave: *Wolbachia*, incompatibilidade citoplasmática, dengue.

ABSTRACT

Endosymbiont bacteria are found in several species of arthropods. *Wolbachia* is a bacterium that is present in about 70% of the arthropods, belonging to the phylum Alphaproteobacteria of the family of Anaplasmataceae. It is currently gaining prominence in public health and research projects because of its ability to block and protect arthropod species from viral infections and its ability to reduce the life span of mosquitoes transmitting Dengue. The objective of the present work was to perform a literature review, obtaining a global view on several aspects that guide *Wolbachia*. For that, surveys of scientific articles were carried out in a database in NCBI (PUBMED), among others. The infection process can occur naturally in two ways: vertical or horizontal transference. The bacteria are capable of altering host phenotypes, which may be beneficial or harmful, some of the main altered mechanisms are cytoplasmic incompatibility and death of males, which are important factors that promote the successful dissemination of the bacterium within arthropod populations. Blockade of the virus by the bacteria has been proven after the inoculation of the bacterium in *Aedes aegypti*, proving to be an important mechanism for the reduction of dengue cases, since the bacterium overlaps the virus and confers a "immunity" to the mosquito. It is concluded that this methodology to control the vector of dengue is considered ecological, low cost and effective, since the epidemiological cases can be diminished.

keyword: *Wolbachia*, cytoplasmic incompatibility, dengue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Linha do tempo marcando importantes datas. Fonte: Adaptado de LAMBRECHTS et al., 2015	14
Figura 2. Microscopia eletrônica de transmissão da WB dentro de uma célula de um inseto. Fonte: PLoS Biol; 2004.....	16
Figura 3. Um mecanismo de transferência horizontal de WB. Momento onde uma vespa inocula seus ovos em um afídeo. Caso este esteja infectado por WB a vespa passa a transmitir a bactéria. Fonte: Scienceimage.	18
Figura 4. Relação de cruzamento e a manipulação sexual administrada pela <i>Wolbachia</i> e seu hospedeiro. Fonte: do próprio autor.....	20
Figura 5. Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional. Fonte: Adaptado de JOHNSON, 2015.....	22
Figura 6. Reprodução por partenogênese em insetos infectados pela <i>Wolbachia</i> . Fonte: do próprio autor.	24
Figura 7. Imunofluorescência de omatídeo demonstrando a inibição do vírus Dengue pela <i>Wolbachia</i> . (A) Célula controle, sem infecção por WB. (B) 14 dias após a infecção por DENV em vermelho. (C) Transinfecção de células com WB. (D) 14 dias após a transinfecção, os níveis de DENV são reduzidos, com a presença da WB. Fonte: Adaptado de MOREIRA, et al., 2009.....	29
Figura 8. Países e áreas de risco para a transmissão da dengue. Fonte: Adaptado de OMS, 2014.....	30
Figura 9. Tempo necessário para a total infecção da WB em uma população natural. Fonte: ELIMINATE DENGUE, 2017.	31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Quadro taxonômico da <i>Wolbachia</i> . Fonte: do próprio autor.....	17
Quadro 2. Espécies infectadas pela <i>Wolbachia</i> que produzem IC. Fonte: WERREN et al., 2008.....	21
Quadro 3. Relação de vírus e seus respectivos vetores. Fonte: JOHNSON, 2015.	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WB - *Wolbachia*

% - por cento

OMS - Organização Mundial da Saúde

IC - Incompatibilidade citoplasmática

µm - Micrometros

wMelPop - *Wolbachia* infectante *Drosophila melanogaster*

Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Ibama - Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVO	11
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 METODOLOGIA	12
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
4.1 História	13
4.2 Taxonomia e Morfologia	15
4.3 Reprodução em Artrópodes e Conflitos Intragenômicos	17
4.3.1 Transferência Horizontal.....	18
4.3.2 Transferência Vertical.....	19
4.3.3 Fenótipos resultantes da reprodução em Artrópodes.....	20
4.3.3.1 Incompatibilidade Citoplasmática	20
4.3.3.2 Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional	22
4.3.3.3 Incompatibilidade Citoplasmática Incompleta	23
4.3.3.4 Partenogênese	23
4.3.3.5 Feminização de Gametas	24
4.3.3.6 Morte de Machos.....	25
4.4 Relações ecológicas Wolbachia-hospedeiro	25
4.5 Wolbachia e suas relações com a Dengue.....	27
4.5.1 A inibição do vírus e a proteção antiviral	28
4.5.2 Incompatibilidade citoplasmática em <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	29
4.5.3 Impactos epidemiológicos	30
4.5.4 Resultados e perspectiva no Brasil	32
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

Bactérias endossimbióticas são encontradas em várias espécies de artrópodes terrestres, sendo algumas de maior importância como: *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp. e *Cardinium* sp., sendo a *Wolbachia* (WB) a de maior destaque na atualidade (WEINERT et al., 2015). A infecção pela bactéria causa grande influência para a espécie infectada que abrange da biologia reprodutiva a resistência de vírus, do tamanho de uma população até a taxa de especiação desta espécie (WEINERT et al., 2015; O' Neill, 1997).

A *Wolbachia* (WB) é uma bactéria intracelular obrigatória, ou seja, fora de um ambiente celular ela é incapaz de sobreviver (SINKINS et al., 1997). Estima-se que a WB infecta aproximadamente 45-70% dos artrópodes, sendo considerada a maior pandemia de todo o mundo (ZUG, 2012). Especula-se que esta grande disseminação e adaptabilidade da WB perante as espécies de artrópode, se dá pelo fato do filo *Arthropoda* possuir uma grande variabilidade de espécies e indivíduos, possuindo cerca de 1 milhão de espécies classificadas (WEINERT et al., 2015; TORTORA, 2017).

Atualmente a WB está em grande destaque devido a algumas linhagens serem consideradas um método de controle de doenças e pragas agrícolas, causando assim, impactos financeiros e econômicos (AHMED et al., 2015). Em relação a métodos de controle de doenças, sabe-se que a WB infecta espécies de nematódeos e são essenciais para sua sobrevivência, portanto o tratamento de pessoas parasitadas por nematódeos recebe uma outra metodologia, atacando e alvejando a WB com o uso de antibióticos, ao passo que o uso de antiparasitários, podem causar uma grande toxicidade para o indivíduo (JOHNSTON et al., 2017).

O segundo fator de destaque atual é a patogenicidade causada pela WB em mosquitos vetores da dengue. Atualmente o projeto de infecção do mosquito *Aedes aegypti* pela WB é considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) um método autossustentável, ecológico e de baixo de custo (OMS, 2012). Segundo O'Neill (2017), a produção do mosquito modificado com a linhagem virulenta da bactéria (wMelPop) possui o custo de 1 dólar americano, por mosquito produzido.

Este projeto de inoculação do mosquito vetor modificado está sendo desenvolvido em diversos países como: Austrália, Indonésia, Índia, Vietnã, Colômbia e no Brasil.

O programa de pesquisa recebe o nome de “Eliminate Dengue” e trata-se de uma colaboração internacional sem fins lucrativos liderada pela Universidade Monash na Austrália. O programa é dirigido pelo professor Scott O'Neill e reúne vários cientistas ao redor do mundo, incluindo especialistas de várias áreas como: Genética de *Wolbachia*, biologia e ecologia de mosquitos, epidemiologia, controle da dengue, educação e promoção da saúde (ELIMINATE DENGUE, 2017). No Brasil o projeto ‘Eliminar a Dengue: Desafio Brasil’ está sendo administrado pela FIOCRUZ, e até o momento foi comprovada a eficácia do bloqueio da disseminação e transmissão do vírus dengue e febre amarela em projetos pilotos no estado do Rio de Janeiro (FIOCRUZ, 2016).

Sendo assim, uma revisão de literatura se faz necessária para demonstrar os atuais avanços sobre a WB, tendo em vista suas características e levando em consideração sua capacidade de possivelmente diminuir a incidência e transmissão do vírus da dengue e em um futuro próximo, possivelmente erradicar a dengue.

2 OBJETIVO

Realizar uma revisão bibliográfica e reunir informações básicas para a introdução do estudo da bactéria. Além disso, visa relatar as principais descobertas atuais a respeito da *Wolbachia* e suas relações com o artrópode transmissor da Dengue, o mosquito *Aedes Aegypti*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características gerais da *Wolbachia*;
- Apresentar suas interferências na reprodução de artrópodes;
- Apresentar suas possíveis utilizações como controle de vetores de doenças;
- Apresentar sua possível utilização como controle biológico contra o Dengue

Vírus.

3 METODOLOGIA

Nesta revisão bibliográfica foram realizados levantamentos de artigos científicos em base de coletas de dados no NCBI (PUBMED), revista NATURE, revista Science (AAAS), informações online do projeto Eliminate Dengue, entre outros. A busca foi realizada utilizando os descritores: *Wolbachia*, *Wolbachia* dengue, *Wolbachia* taxonomia, *Wolbachia* reprodução e *Wolbachia* ecologia. A seleção dos artigos foi realizada em conformidade com o assunto proposto, descartando assim os estudos que, apesar de constarem no resultado da busca, não condizerem com o objetivo do trabalho.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 História

A bactéria *Wolbachia pipientis* foi primeiramente descrita por Hertig e Wolbach em 1924 infectando o mosquito *Culex pipiens*, em suas células germinativas. Naquela pesquisa, foram coletados insetos em Boston e de cidades próximas, com o objetivo de determinar a incidência de organismos semelhantes à *Rickettsia* presente em insetos e tentar designar um sistema de relação para o grupo (HERTIG & WOLBACH, 1924). Após a coleta e análise dos resultados, concluíram que a WB era um organismo que se assemelhava ao grupo *Rickettsia*. Este grupo é importante por conter bactérias causadoras de tifo e febre das montanhas Rocky. Entretanto esta nova bactéria não parecia ser responsável por nenhuma doença, então foi ignorada (YONG, 2016). Somente em 1936 homenageando seu mentor, Marshall Hertig publicou de fato o nome da nova espécie de bactéria. “The name *Wolbachia pipientis* is proposed for the rickettsia of *Culex pipiens*” (PIETRI, et al., 2016, apud HERTIG, 1936).

Cerca de 30 anos após a descoberta da bactéria, Ghelelovitch cruzando espécies de *Culex pipiens* observou pela primeira vez que a proporção entre cruzamentos intraespecíficos havia se alterado, mostrando assim um tipo de incompatibilidade entre os cruzamentos (GHELELOVITCH, 1952). Posteriormente, este fenótipo produzido apenas por fêmeas foi denominado por Laven em 1959 de “incompatibilidade citoplasmática” em seu artigo intitulado: “A possible model for speciation by cytoplasmic isolation in the *Culex pipiens* complex”.

Posteriormente a bactéria foi descoberta infectando moscas *Drosophila melanogaster* como uma linhagem virulenta chamada de wMelPop capaz de reduzir o tempo de vida das moscas pela metade (RIEGLER et al., 2005). Esta linhagem é caracterizada pela capacidade de infectar células específicas do cérebro da mosca. A medida que a mosca vai envelhecendo, as células ficam saturadas de wMelPop e acabam eventualmente causando uma degeneração tecidual e a morte precoce da mosca (MIN & BENZER, 1997)

Não sendo um hospedeiro natural do mosquito *Aedes Aegypti*, o marco importante da atualidade foi a inoculação e estabilização da wMelPop nessa espécie

(MCMENIMAN et al., 2009) Sendo uma variante extremamente virulenta de WB seu nome “pop” é derivado do inglês “popcorn” e se caracteriza por um fenótipo observado nesta linhagem, capaz de estourar o inseto infectado, de dentro para fora, igualmente a uma pipoca (JOUBERT et al., 2016). Esta infecção só foi possível através de técnicas de passagem seriadas para as linhagens de células do mosquito (MCMENIMAN et al., 2008).

Esta hipótese de inoculação da linhagem virulenta em mosquitos é uma proposta antiga e consiste em diminuir a tempo de vida do mosquito vetor da doença, consequentemente diminuindo casos para que não haja surtos epidemiológicos da dengue. Na Figura 1 observa-se a linha do tempo com as principais descobertas e marcos importantes relacionados à WB, começando pela descoberta da bactéria em 1924, até as novas técnicas de inoculação e soltura de mosquitos modificados.

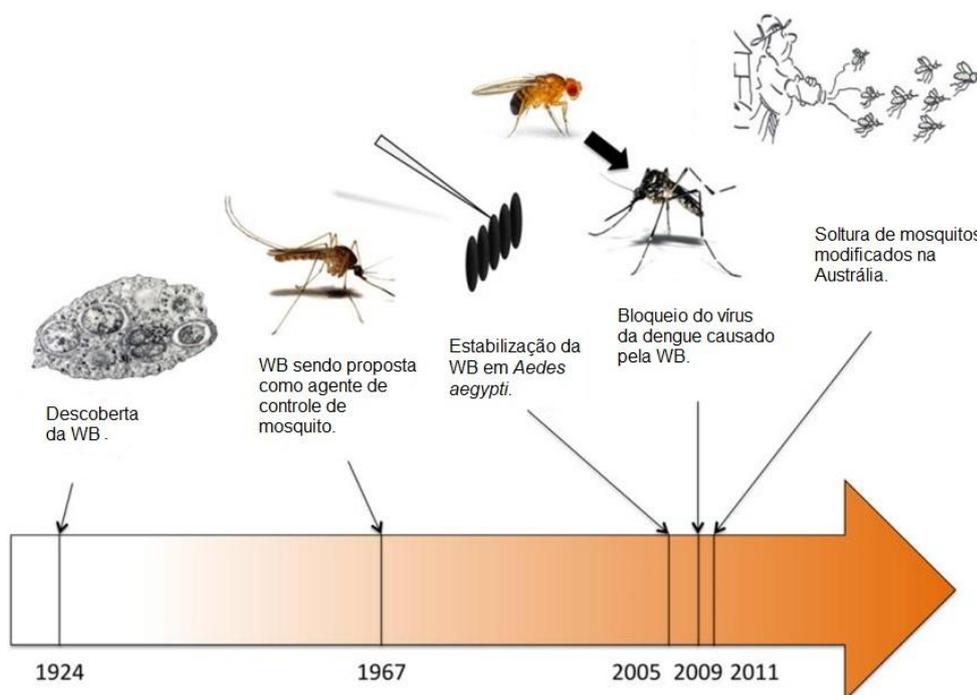


Figura 1. Linha do tempo marcando importantes datas. **Fonte:** Adaptado de LAMBRECHTS et al., 2015

Outras descobertas importantes se relacionam com o tratamento de doenças parasitárias humanas. Novas abordagens de tratamentos surgiram atacando diretamente a WB que hospeda certas espécies de nematoides como exemplo a

filária. Segundo Taylor et al. (2013) foi demonstrado que o ciclo de vida de certos nematódeos depende exclusivamente de uma interação mutualista WB-NEMATÓDEOS, onde nesta relação compostos sintetizados pela WB são essenciais para o parasita e vice-versa. O tratamento alternativo para a filariose foi demonstrado em pacientes infectados por *Wuchereria bancrofti* infectada por WB. Após a administração de tetraciclina para os pacientes, o número de WB no verme começa a decair, afetando permanentemente a fertilidade de fêmeas adultas do verme. Após um certo período os vermes adultos morrem prematuramente, entre 1 a 2 anos, comparado ao tempo de vida típico do verme que varia de 10 a 14 anos. Portanto, o uso de antibióticos para o tratamento alternativo de doença causadas por filarioides é válido, uma vez que o verme não é capaz de sobreviver sem a presença da WB (LANDMANN et al., 2011).

4.2 Taxonomia e Morfologia

As bactérias são os menores tipos de células conhecidas, somente visíveis com o emprego de um microscópio óptico. Possuindo diversos tamanhos, as menores bactérias descritas pertencem ao grupo das *Chlamydias e Rickettsias*, apresentando cerca de 0,1 a 0,2 μm de diâmetro (MURRAY et al., 2010). Não distante destes tamanhos diminutos, a WB apresenta seu tamanho abrangendo de 0,2 a 0,4 μm (KOSEK, 1977).

Quanto à morfologia, a WB é uma bactéria gram-negativa da ordem *Rickettsiales*, esta ordem é importante por conter espécies de bactérias que são patógenas para os humanos e outros mamíferos, como exemplo a bactéria causadora da febre maculosa *Rickettsia rickettsii*. Apesar de pertencente ao mesmo grupo, a WB nos mamíferos é inofensiva (LEPAGE & BORDENSTEIN, 2013).

Observa-se na figura à seguir (Figura 2) a célula de um inseto infectada por três WB, as bactérias estão envoltas por uma “camada branca”.

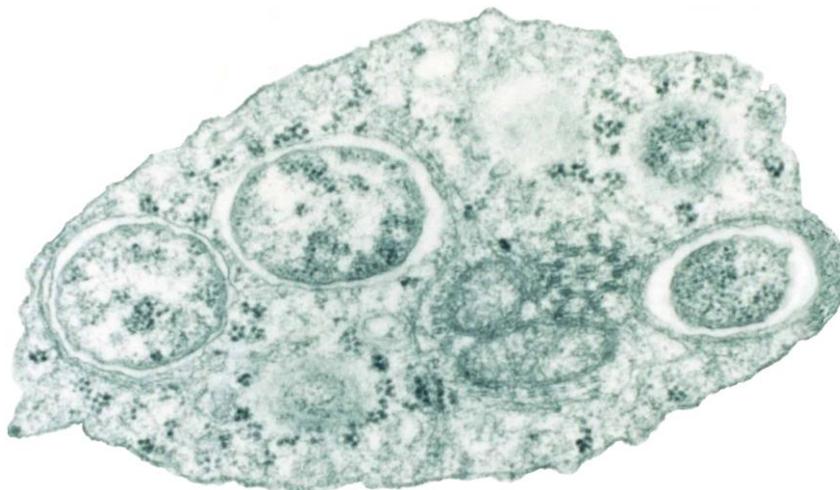


Figura 2. Microscopia eletrônica de transmissão da WB dentro de uma célula de um inseto. **Fonte:** PLoS Biol; 2004.

Em relação a taxonomia, sua classificação até gênero encontra-se na quadro à seguir (Quadro 1), possuindo uma espécie até o momento: *Wolbachia pipientis* (Hertig, 1936). De acordo com o NCBI atualmente existem mais três candidatos a nomes de espécies, porém, ainda não aprovado para classificação, sendo elas: *Wolbachia brouquii*, *Wolbachia inokumae* e *Wolbachia ivorensis*. Até o momento o gênero é dividido em 14 supergrupos designados de A até O (GLOWSKA et al., 2015). Sendo A, B, e H infectantes de artrópodes, enquanto C e D infectantes de nematódeos, o grupo F sendo o único capaz de infectar ambos os hospedeiros, tanto artrópodes como nematódeos. Algumas espécies de artrópodes podem carregar mais de um supergrupo, como a espécie *Aedes albopictus*, que é infectada por wAlbA e wAlbB uma do supergrupo A e outra do B. A classificação de WB está diretamente relacionada ao seu hospedeiro em que possui simbiose, como exemplo wMel são linhagens encontradas originalmente no artrópode *Drosophila melanogaster*, wPip são linhagens encontradas em dípteros *Culex pipiens*. Apesar de possuir esta grande variedade de linhagens o genoma principal da WB ainda é mantido. (LEPAGE & BORDENSTEIN, 2013; BANDI et al., 1998).

Quadro 1. Quadro taxonômico da *Wolbachia*.

Reino	<i>Bacteria</i> (Woese et al., 1990).
Filo	<i>Proteobacteria</i> (Garrity et al., 2005).
Classe	<i>Alpha-proteobacteria</i> (Garrity et al., 2005).
Ordem	<i>Rickettsiales</i> (Gieszczykiewicz, 1939).
Família	<i>Anaplasmataceae</i> (Philip, 1957).
Gênero	<i>Wolbachia</i> (Herting, 1936).

Fonte: do próprio autor.

4.3 Reprodução em Artrópodes e Conflitos Intragenômicos

A WB é capaz de manipular características reprodutivas do seu hospedeiro, sendo classificados estes meios de transmissões em duas grandes categorias, a transferência vertical e transferência horizontal. Dentre estes meios de transferência podemos distinguir e observar 4 tipos de manipulação ou fenótipos, sendo eles: feminização, morte de machos, partenogênese e incompatibilidade citoplasmática (IC). Usando estes meios e manipulações, a WB consegue se espalhar pelas populações de hospedeiros com grande aptidão, adaptabilidade e facilidade (KAGEYAMA, et. al, 2012).

Algumas linhagens de WB podem induzir mais de um fenótipo, quando infectando em espécies diferentes. Como exemplo, uma linhagem que infecta naturalmente *Cadra cautella* (lepidópteros) geralmente causam IC, mas quando infecta em outra espécie de lepidópteros (*Anagasta kuehniella*), esta mesma linhagem pode causar um outro fenótipo que é a morte de machos (SASAKI & ISHIKAWA, 2000).

Esta facilidade de mudar as características de reprodução é descrita por Stouthamer e colaboradores, (2010). Observou-se que insetos infectados por linhagens de WB que apresentam mutações genômicas de alelos que são caracterizados por uma baixa fertilização, sempre resultarão em uma perda irreversível da reprodução sexual da espécie infectada, explicando assim este mecanismo tão eficiente de sua disseminação por transferência vertical.

4.3.1 Transferência Horizontal

A transferência horizontal se caracteriza principalmente quando não se vincula qualquer tipo de relação parental (ANTONOVICS et al., 2017). Análises filogenéticas de WB, sugerem que este tipo de transmissão ocorreu entre espécies em uma escala de tempo evolutiva com uma taxa de frequência relativamente alta. Embora considerado pouco provável e de difícil documentação, um estudo de Ahmed e colaboradores, (2015) constatou a transferência horizontal entre vespas parasitoides *Eretmocerus* sp. e moscas brancas *Bemisia tabaci*. Segundo o estudo, a vespa não portadora de WB, ao inocular os ovos em uma mosca branca portadora de WB, passa assim a transmitir a WB em um período de 48h após o contato inicial. Observa-se na Figura 3 este processo de transferência horizontal entre espécies.



Figura 3. Um mecanismo de transferência horizontal de WB. Momento onde uma vespa inocula seus ovos em um afídeo. Caso este esteja infectado por WB a vespa passa a transmitir a bactéria. **Fonte:** Scienceimage.

Em 2016 foi documentado o primeiro caso de transmissão horizontal mediada por uma planta entre moscas brancas *Bemisia tabaci* Asiall7. O processo de infecção se inicia após uma mosca branca infectada se alimentar de uma folha de algodão e esta passar a carregar nos vasos de floema a WB. A maioria das moscas brancas não infectadas quando se alimentam de uma folha infectada pela WB

passam a carregar a infecção e conseqüentemente transmitem verticalmente a WB. Constatou-se que uma vez infectada, a planta carrega a WB na folha por até 50 dias. O estudo foi também replicado entre espécies de plantas de feijão e pepino, sugerindo que a transmissão horizontal é possível entre outras espécies de plantas. Este importante estudo constata a grande prevalência de WB entre os artrópodes, sugerindo também o porque da WB se manter entre populações através da transferência horizontal. (LI et al., 2016)

Outro estudo demonstra que em isópodes terrestres o predatismo e o canibalismo, podem levar a ingestão de WB. No estudo foi constatada a presença de WB em outros órgãos diferentes do intestino, demonstrando assim que a WB pode atravessar a barreira intestinal e contaminar outros órgãos do predador (LECLECH et al., 2013).

Através desta possibilidade de transferência, o resultado é uma dispersão global entre diversos hospedeiros, uma vez que podem incrementar uma aptidão ou habilidade para uma outra espécie, que resulta em uma ação positiva ou negativa, sendo assim de extrema importância para a agricultura, biologia, ecologia e evolução de grupos de artrópodes (AHMED et al., 2015).

4.3.2 Transferência Vertical

A transferência vertical é caracterizada pela transmissão da WB da linhagem parental para a prole, sendo considerado o principal meio de transmissão da WB (HOFFMAN, 2011). Pelo fato da WB infectar diretamente a linha germinativa maternal, esta mantém uma habilidade extraordinária de influenciar a reprodução no hospedeiro, priorizando a proliferação e infecção de fêmeas (PIETRI et al., 2016).

Este conflito intragenômico pode ser visto como um gene egoísta, de forma que bactérias endossimbiontes transmitidas de forma citoplasmática, como a WB, evoluíram para matar gametas ou descendentes que dão origem a linhagens que não os transmitem (FRIBERG & RICE, 2015). Sendo assim, podemos inferir segundo Friberg (2015), um dos fatores hipotéticos que explica a grande mortalidade de machos, em espécimes infectados por WB, está relacionado ao fato da WB priorizar somente fêmeas, que possuem maior afinidade e facilidade para transmissão.

4.3.3 Fenótipos resultantes da reprodução em Artrópodes

4.3.3.1 Incompatibilidade Citoplasmática

Descoberta a mais de 45 anos por Yen e Barr (1971), a incompatibilidade citoplasmática (IC) ainda continua um mistério. Estudos recentes de mapeamento genético estão começando a desvendar os mecanismos moleculares que levam o artrópode a este fenótipo (WERREN et al., 2008).

Para entendermos como a WB manipula o seu hospedeiro, temos que assimilar o seu método de cruzamento entre indivíduos da mesma espécie. A Figura 4 abaixo exemplifica este tipo de manipulação e sua consequência na reprodução nos artrópodes.

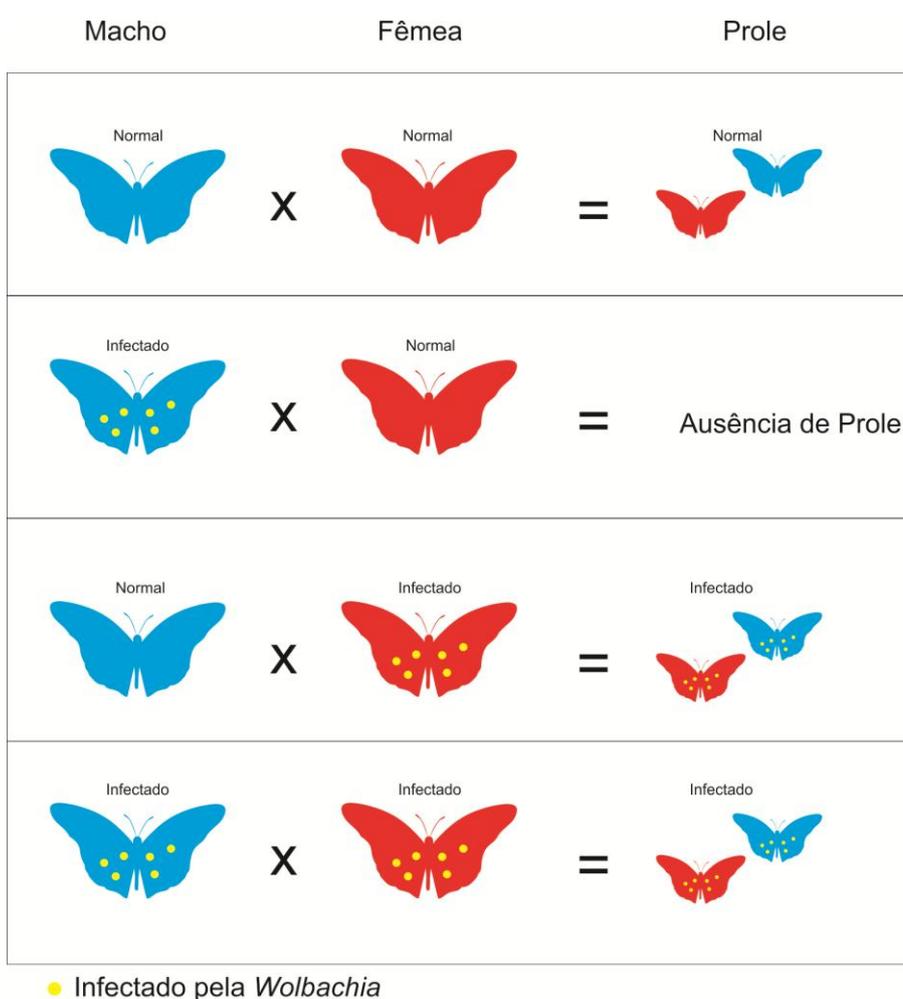


Figura 4. Relação de cruzamento e a manipulação sexual administrada pela *Wolbachia* e seu hospedeiro. **Fonte:** do próprio autor.

Quando espécies sem a infecção por WB cruzam, sua prole nasce normalmente. Entretanto o problema se origina quando machos infectados cruzam com fêmeas não portadoras da WB, nesse caso a consequência é uma prole não viável. Em contraste, quando a fêmea é infectada e o macho não apresenta infecção, a prole é bem sucedida, porém estará infectada também. E por último quando ambos os sexos estão infectados, estes produzem uma prole viável, porém, infectada (WERREN et al., 2008). No Quadro 2 temos exemplos de algumas espécies onde este mecanismo de IC ocorre.

Quadro 2. Espécies infectadas pela *Wolbachia* que produzem IC.

Ordem	Espécie
Acari	<i>Panonychus mori</i> (GOTOH et al., 2005)
Coleóptera	<i>Tribolium confusum</i> (MING et al. 2015).
Díptera	<i>Ceratitis capitata</i> (ZABALOU et al., 2004).
Hemíptera	<i>Bemisia tabaci</i> (AHMED et al., 2015).
Himenóptera	<i>Eretmocerus</i> sp.(AHMED et al., 2015).
Isopoda	<i>Porcellio dilatatus dilatatus</i> (LE CLEC'H, 2013).
Lepidóptera	<i>Ephestia kuehniella</i> (IKEDA et al., 2003).
Ortóptera	<i>Chorthippus parallelus</i> (SARASA et al., 2013).

Fonte: WERREN et al., 2008.

Apesar de ainda incerto de como este mecanismo ocorre a nível molecular, existem dois componentes que são: a modificação do espermatozoide e defeitos relacionados à mitose no ciclo celular durante a fase embrionária. Na primeira fase, a modificação do espermatozoide é induzida pela WB durante a espermatogênese, ocorrendo assim uma incompatibilidade ovo-esperma (WERREN et al., 2008). Em relação à fase embrionária, após a uma eventual fecundação com um ovócito não infectado, problemas relacionados a replicação do DNA e o ciclo celular ocorrem, levando a letalidade do embrião (SULLIVAN, 2017).

Este fenótipo frequentemente denominado de parasitismo reprodutivo, combinado com uma efetiva transmissão vertical de mães para proles, satisfatoriamente explica esta grande dinâmica de invasão entre espécies pela WB (BAILLY-BECHET, 2017; WERREN, 2008).

4.3.3.2 Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional

Recentemente, foi descoberta uma variante da IC, denominada de incompatibilidade citoplasmática bidirecional. Este fenótipo está relacionado com linhagens de WB diferentes, ou seja, se um acasalamento ocorrer entre indivíduos infectados por linhagens de WB diferentes, a prole será inviável. O oposto do acasalamento quando se tem indivíduos portadores de WB com a mesma linhagem, que geram descendentes viáveis e infectados. Apesar de se conhecer pouco sobre os mecanismos que geram esta IC bidirecional estudos citogenéticos demonstram que a IC bidirecional está relacionada a uma condensação imprópria dos cromossomos paternos. Segundo Werren, (1990) este mecanismo pode se reverter uma vez tratando os insetos infectados com antibióticos (BREEUWER & WERREN, 1990; BRANCA et al. 2009). A figura 5 demonstra esta IC Bidirecional. O cruzamento entre indivíduos infectados com linhagens de WB diferentes não produzirão uma prole viável.

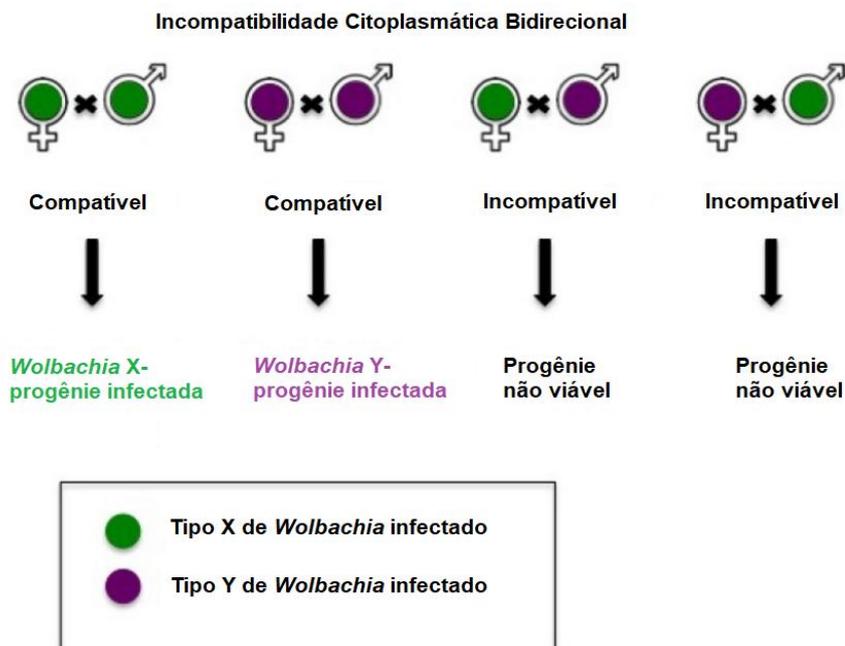


Figura 5. Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional. **Fonte:** Adaptado de JOHNSON, 2015.

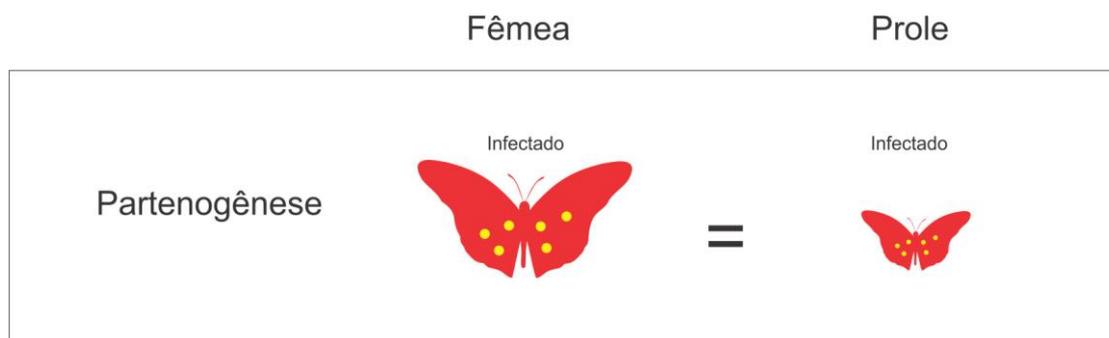
4.3.3.3 Incompatibilidade Citoplasmática Incompleta

Foi recentemente descrita por Betelman (2017) a constatação em uma espécie de vespa parasitoide (*Spalangia endius*) do aumento do número de pupas macho, uma vez que a WB possui um “tropismo por células fêmeas”. Este fenótipo é também caracterizado pela baixa proporção de progênie fêmea produzida, em contraste com o fenótipo clássico da IC, onde se constata uma maior prevalência de proles fêmeas. Uma outra característica observada no experimento foi um prolongamento da expectativa de vida da vespa infectada, o que gera assim uma maior disseminação da bactéria pela população.

4.3.3.4 Partenogênese

A partenogênese é o processo pelo qual as fêmeas de uma espécie se autofecundam, sem a presença de um macho para a troca de gametas. Ainda mais incomum que a IC, Werren (1997) relata que este fenótipo é mais comumente observado na ordem hymenoptera e recentemente foi documentado acometendo espécies de ácaros (WEEKS & BREEUWER, 2001). Assim como a IC a partenogênese se caracteriza pelos defeitos relacionados à mitose no ciclo celular durante a fase embrionária, resultando em um desenvolvimento diploide de ovos não fertilizados. O motivo de produzir somente fêmeas se caracteriza por estas possuírem uma maior facilidade de transmitir a bactéria para a sua prole (WERREN et al., 2008).

Nas fêmeas infectadas por WB, toda sua prole será fêmea e portadora da bactéria como mostrado na Figura 6. Algumas ordens infectadas que expressam o fenótipo são: Acari, Himenóptera e Thysanoptera (WERREN et al., 2008).



- Infectado pela *Wolbachia*

Figura 6. Reprodução por partenogênese em insetos infectados pela *Wolbachia*. **Fonte:** do próprio autor.

4.3.3.5 Feminização de Gametas

Em muitos mamíferos a determinação do sexo é proveniente dos cromossomos sexuais e em artrópodes este sistema não se difere muito (GRIFFITHS, 2013). Embora a reprodução sexual seja o mais comum, insetos portadores de WB podem manifestar a feminização de gametas (WERREN et al., 2008). Foram descritos estudos mais comumente em espécies de isópodes como: *Armadillidium vulgare* e crustáceos como *Gammarus duebeni* e recentemente foram descobertas espécies de borboletas e cigarras que possuíam este fenótipo (KAGEYAMA et al., 2012).

A feminização induzida por WB pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos. Basicamente os machos são transformados em fêmeas interferindo na produção dos hormônios. A WB é capaz de se proliferar dentro da glândula androgênica de isópodes, a consequência desta proliferação é a hipertrofia da glândula e a consequente inibição da mesma, o resultado é que os indivíduos geneticamente caracterizados como machos (XY) se desenvolvem como fêmeas. Para os insetos hospedeiros recentemente descobertos, o mecanismo ainda é incerto, sabe-se que a remoção de WB no estágio de desenvolvimento, acarreta em um indivíduo intersexo (WERREN et al., 2008).

4.3.3.6 Morte de Machos

A morte dos machos é descrita em artrópodes como: coleópteros, dípteros, lepidópteros e pseudoescorpiões (FIALHO & STEVENS, 2000; DYER & JAENIKE, 2004; JIGGINS et al., 2001). Na maioria dos casos a morte dos machos ocorre no estágio embrionário. Sendo um fator evolutivo favorável para as fêmeas que conseqüentemente terão mais disponibilidade de nutrientes. Especula-se que este tipo de manipulação ocorrer durante uma tentativa de feminização de machos, não obtendo êxito, os machos acabam morrendo. Este quadro pode ser reversível uma vez que estudos demonstram que quando tratados com tetraciclina, os machos conseguiram se desenvolver (WERREN et al., 2008).

Recentemente foi constatada uma mutação genética de uma espécie de borboleta *Hypolimnas bolina*, nativa das ilhas Samoa que conseguiu desenvolver uma resistência a este fenótipo. Esta adaptação segundo o estudo só foi possível devido à rápida evolução, adaptação e alta taxa de procriação com cerca de 10 gerações desta espécie ao longo de 1 ano. O estudo concluiu que devido a esta grande pressão adaptativa externa, este mecanismo de seleção natural pode ser bastante rotineiro em espécies *in natura* (BASU, 2007). Porém Hornett, (2014) em um estudo mais recente, analisou este alelo que causava a resistência para o fenótipo e concluiu que o mais provável é que esta característica tenha sido introduzida via imigração, não por uma mutação como supunha Basu (2007).

Segundo Oliveira, (2012) estes fenótipos descritos podem aparecer em conjunto em uma espécie. Como exemplo a IC pode aparecer junto com a morte de machos, e assim por diante. Estes fenótipos em conjunto, explicam a grande invasão em populações selvagens devido a esta aptidão na reprodução do seu hospedeiro.

4.4 Relações ecológicas Wolbachia-hospedeiro

A ecologia se refere ao ramo da biologia onde se estuda as interações dos seres vivos entre si e o meio onde este se encontra. Tendo isso em vista, podemos observar vários comportamentos ecológicos entre a WB e seus hospedeiros. Dependendo do ponto de vista estas interações poderão ser caracterizadas como

benéficas ou malélicas para o hospedeiro. Geralmente a WB apresenta um comportamento endossimbiótico neutro (PIETRI, 2016).

Acredita-se que o modo de transmissão (horizontal ou vertical) determina um importante papel na evolução da interação WB-hospedeiro, definindo assim sua relação parasitária ou mutualista. De acordo com este ponto de vista, a transferência horizontal é vista como virulenta e evoluindo para uma relação parasitária, ao passo que a transferência vertical favorece uma evolução benéfica e mutualista. Modelos teóricos demonstram que mesmo uma baixa taxa de transferência horizontal pode contribuir com a virulência do patógeno. Como exemplo temos a linhagem “popcorn”, especula-se que essa linhagem possa representar uma mutação ou uma transferência de genes entre WB que resultou em uma desvantagem para o hospedeiro (WERREN, 1997).

A seguir temos alguns exemplos das relações entre WB-hospedeiro:

Mutualismo: WB pode auxiliar o hospedeiro na sintetização de nutrientes para os nematódeos. O nematódeo é incapaz de sobreviver sem a presença da WB. Esta relação obrigatória envolve uma longa história evolutiva compartilhada e geralmente são encontradas em células especializadas do hospedeiro (AHAMED et al., 2015; LANDMANN et al., 2011).

Parasitismo reprodutivo: são os mecanismos já descritos aqui como transferência vertical.

Endossimbiose: teorias descrevem a WB como um processo evolutivo que resultará em uma nova organela, assim como a mitocôndria evoluiu de microrganismos ancestrais, em uma relação endossimbiótica ao longo de milhares de anos (TORTORA, 2017).

Microbiota do Inseto: recentemente Simhadri, (2017) constatou uma alteração significativa de bactérias na microbiota intestinal de *Drosophila melanogaster* infectadas por WB. Demonstrando que esta alteração compromete no desenvolvimento da mosca. Ressaltando assim o cuidado ao se realizar estudos relacionados a fenótipos.

4.5 *Wolbachia* e suas relações com a Dengue

Os principais vírus patogênicos para humanos transmitidos por mosquitos são originais de três famílias: *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae*. Na Quadro 3 observa-se as famílias e as principais doenças causadas pelos seus vetores. Observe que a dengue é transmitida por duas espécies de mosquitos (JOHNSON, 2015).

Quadro 3. Relação de vírus e seus respectivos vetores.

Mosquitos vetores de arboviroses e seus respectivos vetores comum

Família do Vírus (Tipo Material Genético)	Gênero	Exemplos de Arboviroses	Vetores comuns
<i>Flaviviridae</i> (RNA (+) fita simples)	<i>Flavivirus</i>	Dengue vírus	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes albopictus</i>
		Vírus da encefalite Japonêsa	<i>Culex</i> spp.
		Vírus da encefalite de St. Louis	<i>Culex</i> spp.
		Vírus do oeste do Nilo	<i>Culex</i> spp.
		Vírus da Febre Amarela	<i>Aedes</i> spp.
<i>Togaviridae</i> (RNA (+) Fita simples)	<i>Alphavirus</i>	Chikungunya vírus	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes albopictus</i>
		Vírus O'nyong nyong	<i>Anopheles</i> spp.
		Vírus Floresta Semliki	<i>Aedes</i> spp.
		Vírus encefalite de Equinos Venezuelanos	<i>Aedes</i> spp., <i>Culex</i> spp.
<i>Bunyaviridae</i> (RNA (-) Fita simples)	<i>Orthobunyavirus</i>	Vírus La Crosse	<i>Aedes triseriatus</i>
	<i>Phlebovirus</i>	Vírus da Febre do Vale Rift	<i>Aedes</i> spp., <i>Culex</i> spp.

Fonte: Adaptado de JOHNSON, 2015.

A dengue é uma doença viral transmitida principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti* e atualmente mais de 30% da população mundial está em risco. O parasita pertencente à família dos *Flavivirus* e possui quatro sorotipos: DENVs 1–4 (KHETARPAL & KHANNA, 2016).

O controle do vírus da Dengue tem sido problemático, pois não existe vacina e drogas efetivas contra os 4 sorotipos do vírus. Portanto o controle do mosquito vetor é considerado a única opção para prevenir a transmissão durante as epidemias. Recentemente um novo método de biocontrole usando a bactéria endossimbiótica WB tem sido desenvolvido para inibir a replicação do vírus (JOURBERT et al., 2016).

4.5.1 A inibição do vírus e a proteção antiviral

Várias bactérias simbiotes conferem benefícios de aptidão para os organismos ao qual infectam. Este fato não é diferente com a WB, pois esta pode mediar uma proteção antiviral para seu hospedeiro. Inicialmente a proteção viral conferida pela WB foi descoberta em *Drosophila melanogaster* (TEIXEIRA et al., 2008). Segundo Teixeira (2008) em seu estudo foi possível demonstrar que a infecção por WB conseguiu reduzir e atrasar consideravelmente a mortalidade induzida pelos vírus: *Drosophila C virus* (*Dicistroviridae*, DCV), *Cricket paralysis virus* (*Dicistroviridae*, CrPV) e *Flock House virus* (*Nodaviridae*, FHV). Foi constatado no estudo que a presença de WB possui dois impactos diferentes sobre os vírus. O primeiro impacto importante observado foi referente ao acúmulo dos vírus nas moscas, onde as moscas infectadas demonstraram uma redução/atraso do vírus nos tecidos. O segundo impacto observado foi relacionado à mortalidade induzida pelo vírus, onde também foi reduzida e atrasada.

Recentemente estudos relataram que quando a WB é forçada a estabelecer uma relação simbiótica com o *Aedes aegypti* onde ela previamente não se hospedava naturalmente (inoculação e microinjeção), ela é capaz e impulsionar a resposta imune basal e conseqüentemente aumentar a sua resistência a patógenos como Zika vírus e parasitas como malária (PAN et. al. 2017).

Outros estudos relataram a inibição do vírus da dengue sendo mediada através da superinfecção que se caracteriza pela infecção simultânea de linhagens virulentas wMel e wAlbB no mosquito. Demonstrado em laboratório, a superinfecção tem se tornado um significativo redutor de transmissão do vírus. Mais especificamente, verificou-se que a *Wolbachia* limita a replicação de patógenos, em particular os vírus de RNA de cadeia simples, tais como Dengue (DENV), Febre Amarela (YFV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) inibindo também patógenos parasitas como filariose e malária. Na Figura 7 observa-se a limitação do crescimento dos vírus e a prevalência da WB. Porém como qualquer outro método de controle, as conclusões foram que em um futuro próximo respostas e adaptações evolutivas possam limitar a eficácia deste método (JOUBERT et al., 2016).

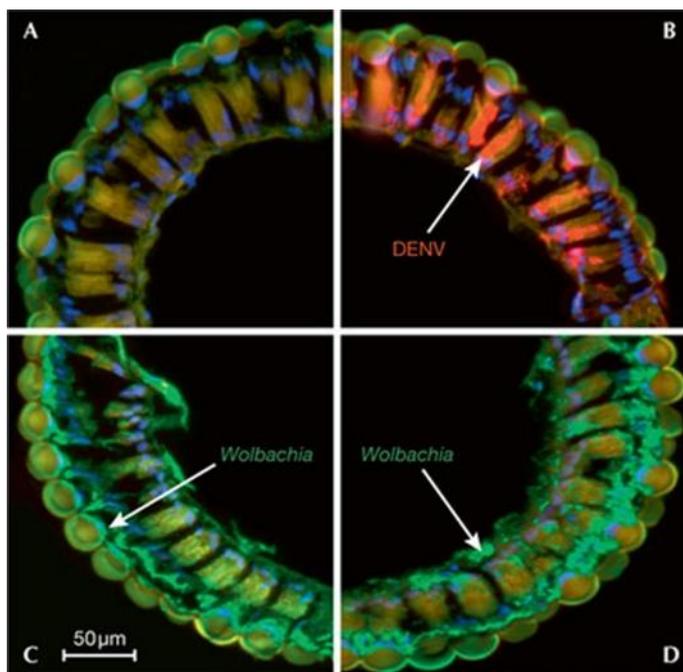


Figura 7. Imunofluorescência de omatídeo demonstrando a inibição do vírus Dengue pela *Wolbachia*. (A) Célula controle, sem infecção por WB. (B) 14 dias após a infecção por DENV em vermelho. (C) Transinfecção de células com WB. (D) 14 dias após a transinfecção, os níveis de DENV são reduzidos, com a presença da WB. **Fonte:** Adaptado de MOREIRA, et al., 2009.

4.5.2 Incompatibilidade citoplasmática em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*

A IC é um mecanismo usado pela *Wolbachia* para se espalhar por populações de insetos. Não sendo natural de *Aedes aegypti*, a linhagem wMelPop foi intencionalmente inoculada nos mosquitos, fornecendo assim a combinação de inibição viral e um mecanismo incorporado de auto propagação que oferece perspectivas atraentes para o controle da transmissão da dengue por *A. aegypti* (BLAGROVE et al, 2012).

Aedes albopictus é um mosquito nativo do sudeste da Ásia e recentemente vem se disseminando pelo mundo como um vetor do vírus da dengue. Todas as populações de *A. albopictus* são naturalmente infectadas por duas linhagens de *W. pipientis*, sendo estas wAlbA e wAlbB. Porém estas linhagens fornecem somente o fenótipo de IC, sendo necessário a infecção de *A. albopictus* com linhagens de

wMelPop, para a produção de perspectivas de controle satisfatórias da dengue (BLAGROVE et al., 2012).

4.5.3 Impactos epidemiológicos

Atualmente a dengue está presente em 128 países, sendo os países em desenvolvimento os mais afetados. A globalização, viagens aéreas e a urbanização são os principais agravantes da disseminação geográfica da doença (KHETARPAL & KHANNA, 2016). Na Figura 8 observa-se a disseminação da dengue no mundo.

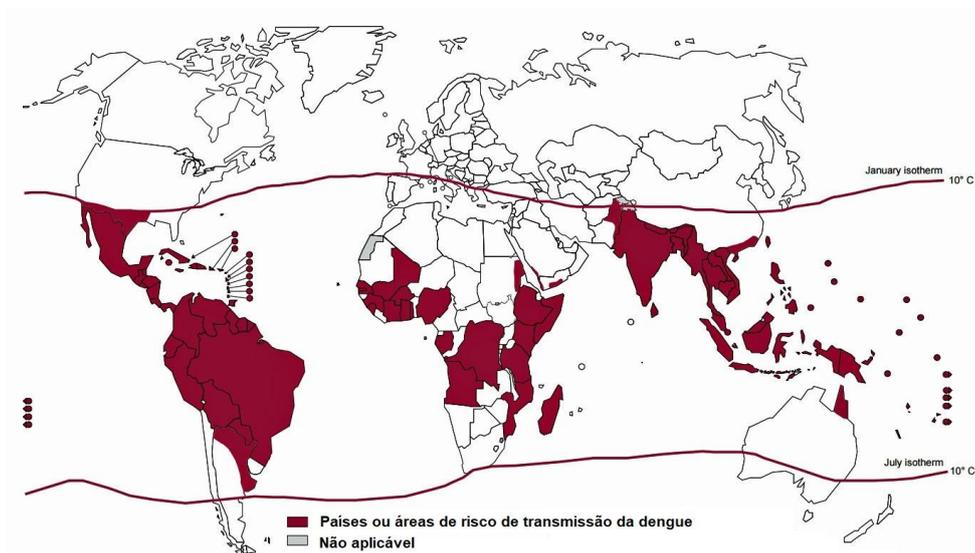


Figura 8. Países e áreas de risco para a transmissão da dengue. **Fonte:** Adaptado de OMS, 2014.

Anualmente a dengue infecta cerca de 390 milhões de pessoas (KHETARPAL & KHANNA, 2016). Devido a esta alta taxa de infecção e levando em consideração que os métodos atuais para o controle da dengue não tem sido suficientes para seu controle epidemiológico, novas alternativas vêm surgindo devido a avanços tecnológicos e intelectuais.

Não sendo uma ideia recente, a proposta de controlar a população de mosquitos e artrópodes se originou na metade do século passado, entretanto somente na última década esta prática se tornou significativa, sendo também

descrita como uma técnica de abordagem de biocontrole em populações selvagens (LAMBRECHTS et al., 2015).

A proposta de controle epidemiológico se dá através da IC, devido ao fato da mesma ser um fenótipo mais predominantemente e de fácil disseminação em insetos (VAVRE & BEUKEBOOM, 2014). A inoculação de linhagens de WB que causam este fenótipo em populações de *Aedes aegypti* é relevante, pois se caracteriza pelo rápido aumento de infecções na população. Isso ocorre, pois somente as fêmeas infectadas podem originar uma prole viável, sendo assim transmitido verticalmente como descrito na Figura 2 (JOHNSON, 2015). A seguir na Figura 9 observa-se o tempo necessário para a completa disseminação da WB na população de mosquitos.

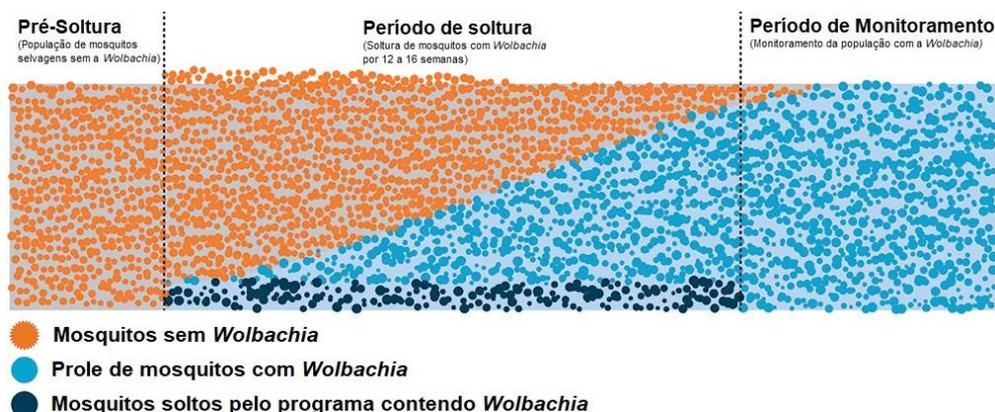


Figura 9. Tempo necessário para a total infecção da WB em uma população natural. **Fonte:** ELIMINATE DENGUE, 2017.

Para que a infecção, inibição e epidemiologia tenham efeitos significativos, o fenótipo de IC, é essencial para que a WB se mantenha na população de *Aedes aegypti*. Do ponto de vista epidemiológico, para que a doença se dissemine entre as populações de *Aedes aegypti*, a longevidade do mosquito é de fundamental importância. Portanto estratégias que buscam reduzir o tempo de vida dos mosquitos também são eficazes, uma vez que o ciclo e transmissão do vírus se dá pelo tempo de repasto sanguíneo e pelo tempo de período de incubação extrínseco. Segundo Dutra (2014), “este tempo em campo é considerado longo, consumindo boa parte do tempo de vida do hospedeiro o que faz com que só uma parcela da população (os indivíduos mais velhos) seja capaz de transmitir o vírus.”.

4.5.4 Resultados e perspectiva no Brasil

No Brasil a Fiocruz lidera o projeto Eliminar a Dengue: Desafio Brasil e conta com o apoio do Ministério da Saúde. O tendo início em 2014 o projeto piloto foi aplicado na Ilha do governador, no bairro: Tubiacanga e em Niterói em Jurujuba e em 2016 a expansão beneficiou mais 27 bairros em Niterói e mais outros 10 bairros na Ilha do Governador. Recentemente no mês de agosto de 2017 foram feitas a primeira soltura de mosquitos *Aedes aegypti* modificados com a WB. O processo é realizado em partes de modo que toda a Ilha receba a cobertura pelos mosquitos. Acredita-se que após a conclusão do processo em 2018, cerca de 2,5 milhões de habitantes sejam beneficiados pela soltura dos mosquitos, tendo em vista o bloqueio e inibição do vírus conferido pela WB (FIOCRUZ, 2017).

Além disso, o projeto conta com uma estrutura que funciona como Simulado de Campo (estrutura que reproduz as condições ambientais para a criação do mosquito) e tem como objetivo suprir a demanda de produção dos mosquitos, onde a capacidade de produção atinge 600 mil ovos por semana. Com a estrutura, a produção pode alcançar até 10 milhões de ovos por semana (FIOCRUZ, 2017). Destaca-se que para a implementação do projeto, deve obter aprovação de diversos órgãos ambientais para que se constatar a segurança, proteção e saúde para o meio ambiente, tendo isso em vista isso, órgãos como: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (Ibama), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento fazem parte do protocolo para aprovação (FIOCRUZ, 2017).

Em relação a sua eficácia, será possível avaliar entre três a cinco anos após a soltura dos mosquitos modificados. Com estudos epidemiológicos se pode concluir com base nos dados, se realmente o projeto causou impacto na população estudada e analisada (EBC, 2017).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos recentes demonstram um amplo território para a utilização da bactéria WB em relação ao controle de vírus. São vários os mecanismos observados nos artrópodes infectados como: alteração na reprodução, encurtamento do tempo de vida e alterações nas aptidões, sendo que a WB está sendo considerada como o principal agente de controle do mosquito da dengue, uma vez que estudos comprovam a eficácia do bloqueio do vírus pela bactéria. Portanto, propõe-se estudos mais profundos para constatar o real bloqueio oferecido pela WB para outros patógenos virais causadores de doenças emergentes e reemergentes.

O mecanismo de incompatibilidade citoplasmática que inevitavelmente ajuda a disseminação da WB em populações de mosquitos vetores da Dengue, foi um fator levado em consideração para se propor a estratégia de controle epidemiológico do vírus. Apesar de ser uma abordagem revolucionária e promissora, não se sabe sobre os efeitos que a soltura *in natura* de mosquitos infectado pela WB possa acarretar para o meio ambiente e/ou sistema ecológico a um longo prazo. Portanto, não se pode subestimar o poder da seleção natural e da adaptação das espécies no meio, observando não somente o ponto de vista dos mosquitos e da WB, mas principalmente os vírus de RNA que diante a uma pressão seletiva, são mais propensos a mutações.

O investimento em pesquisas sobre a viabilidade do uso da WB como mecanismo de controle populacional de artrópodes é de fundamental importância para a possível diminuição dos efeitos de doenças a eles relacionadas. Assim sendo, observando que a WB demonstra um comportamento extremamente competidor, esta metodologia para controle de vetores e doenças é considerada ecológica, de baixo custo e eficaz.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, M. Z.; SHAO-JIAN, LI; XIA, XUE; XIANG-JIE, YIN; SHUN-XIANG, REN; FRANCIS, M. JIGGINS; GREEFF, JACO M.; BAO-LI, QIU. **The Intracellular Bacterium *Wolbachia* Uses Parasitoid Wasps as Phoretic Vectors for Efficient Horizontal Transmission.** PLoS Pathog. 11(2): e1004672. February 2015. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4347858/>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

ANTONOVICS, JANIS; WILSON, ANTHONY, J.; FORBES, MARK R.; HAUFFE, HEIDI C.; KALLIO, EVA R.; LEGGETT, HELEN C.; LONGDON, BEN; OKAMURA, BETH; SAIT, STEVEN M.; WEBSTER, JOANNE P. **The evolution of transmission mode.** Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 372(1719): 20160083. May 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5352810/>> Acesso em: 30 de Maio de 2017.

BASU, S. **Darwin's Rx: natural selection defeats a male-killing bacterial strain and restores a more balanced sex ratio among Samoan blue moon butterflies.** Scientific America. 13 de Julho, 2007. Disponível em <<https://www.scientificamerican.com/article/but-madam-butterfly-where/>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

BANDI, C.; ANDERSON T.J.; GENCHI, C.; BLAXTER M. L.. Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes. Proc Biol Sci, 22; 265(1413): 2407–2413. December, 1998. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1689538/pdf/9921679.pdf>> Acesso em: 16 de Abril de 2017.

BAILLY-BECHET M.; MARTINS-SIMÕES P.; SZÖLLÖSI G.; MIALDEA G.; SAGOT MF; CHARLAT S. **How Long Does *Wolbachia* Remain on Board.** Mol Biol Evol. February, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28201740>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

BETELMAN, KFIR; CASPI-FLUGER, AYELET ; SHAMIR, MAAYAN; CHIEL, ELAD. **Identification and characterization of bacterial symbionts in three species of filth fly parasitoids.** FEMS Microbiol Ecol. 1;93(9). September, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28957585>> Acesso em: 30 de Setembro de 2017.

BLAGROVE, MARCUS S.C.; GOETA,CAMILO ARIAS; FAILLOUX, ANNA-BELLA; SINKINS, STEVEN,P. ***Wolbachia* strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus*.** Proc Natl Acad Sci USA, 255–260. January, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3252941/>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

BRANCA, ANTOINE; VAVRE, FABRICE; SILVAIN, JENAN-FRANÇOIS; DUPS, STÉPHANE. **Maintenance of adaptive differentiation by *Wolbachia* induced bidirectional cytoplasmic incompatibility: the importance of sib-mating and genetic systems.** BMC Evol Biol, 9: 185. 2009. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2738673/>> Acesso em: 03 de Maio de 2017.

BREEUWER J.A.; WERREN J.H. **Microorganisms associated with chromosome destruction and reproductive isolation between two insect species.** *Nature*, 346:558–560. 1990. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v346/n6284/abs/346558a0.html?foxtrotcallback=true>> Acesso em: 26 de Junho de 2017.

DYER, K. A.; JAENIKE, J. **Evolutionarily stable infection by a male-killing endosymbiont in *Drosophila innubila*: molecular evidence from the host and parasite genomes.** *Genetics*, 168, 1443–1455. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1448788/>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

DUTRA, HEVERTON L.C.; **Aspectos biológicos da infecção pelas cepas wMel e wMelPop de *Wolbachia* sobre populações naturais de *Aedes aegypti* do Rio de Janeiro.** 2014. Centro de Pesquisas René Rachou. Disponível em: <http://www.cpqrr.fiocruz.br/texto-completo/D_117.pdf> Acesso em: 26 de Junho de 2017.

EBC. **Empresa Brasil de Comunicação S/A. Agosto, 2017.** Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2017-08/fiocruz-aumenta-liberacao-do-aedes-com-bacteria-que-reduz-eficacia-do-mosquito>> Acesso em: 05 de Dezembro de 2017.

ELIMINATE DENGUE. **Eliminate Dengue: Our Challenge**, World Mosquito Program. Disponível em: <<http://www.eliminatedengue.com/program>> Acesso em: 30 de Abril de 2017.

FIALHO, R. F.; STEVENS, L. **Male-killing *Wolbachia* in a flour beetle.** *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 1469–1473, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1690698/pdf/10983833.pdf>> Acesso em: 19 de Maio de 2017.

FIOCRUZ, **Fundação Oswaldo Cruz.** 2016. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/pt-br/content/eliminar-dengue-wolbachia-foi-transmitida-para-90-dos-mosquitos-aedes-aegypti-em-bairro-de>> Acesso em: 30 de Abril de 2017.

FIOCRUZ, **Fundação Oswaldo Cruz.** 2017 <<https://portal.fiocruz.br/pt-br/content/fiocruz-libera-aedes-com-wolbachia-no-rio-de-janeiro>> Acesso em: 05 de Dezembro de 2017.

FRIBERG, URBAN; RICE, WILLIAM R. **Sexually Antagonistic Zygotic Drive: A New Form of Genetic Conflict between the Sex Chromosomes.** *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 7(3): a017608. March, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355276/>> Acesso em: 30 de Abril de 2017.

FRIBERG, URBAN; RICE, WILLIAM R. **Sexually Antagonistic Zygotic Drive: A New Form of Genetic Conflict between the Sex Chromosomes.** *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 7(3): a017608. March, 2015. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355276/>> Acesso em: 11 de Abril de 2017. In: BURT, A.; TRIVERS, R. *Genes in conflict: The biology of selfish genetic elements*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA, 2006.

GARRITY, G.M.; BELL, J.A.; LILBURN, T. "**Phylum XIV. Proteobacteria phyl. nov.**" In: D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley and G. M. Garrity (eds.), **Bergeys Manual of Systematic Bacteriology**, 2^a ed., vol. 2 (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria), Springer, New York, 2005, p. 1. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1224&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>> Acesso em: 11 de Abril de 2017.

GHELELOVITCH, S. **Genetic determinism of sterility in the cross-breeding of various strains of *Culex autogenicus* Roubaud**. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, v. 234, n. 24, p. 2386–8, 9 jun. 1952.

GLOWSKA E.; DRAGUN-DAMIAN A.; DABERT M.; GERTH M. **New *Wolbachia* supergroups detected in quill mites (Acari: Syringophilidae)**. Infect Genet Evol. 30:140-6. March, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25541519>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

GIESZCZYKIEWICZ, M. **Zagadnienie systematiki w bakteriologii - Zur Frage der Bakterien-Systematic**. Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences Serie des Sciences Biologiques, 1:9-27. 1939. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=766&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

GOTOH, T.; NODA, H.; FUJITA, T.; IWADATE, K.; HIGO, Y.; SAITO, S.; OHTSUKA, S. ***Wolbachia* and nuclear-nuclear interactions contribute to reproductive incompatibility in the spider mite *Panonychus mori* (Acari: Tetranychidae)**. Heredity (Edinb). 94(2):237-46. February, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15578046>> Acesso em: 16 de Abril de 2017

GRIFFITHS, ANTHONY J. F. **Introdução à genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 10^a ed., p. 44, 523. 2013.

HERTIG, M.; WOLBACH, S.B. **Studies on Rickettsia-Like Micro-Organisms in Insects**. 1924, J. Med. Res. 44, 329-374.7. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2041761/>> Acesso em: 11 de Abril de 2017

HERTIG, M. **The rickettsia, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp. n.) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens***. Parasitol, 28:453-486. 1936 Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=953&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

HOFFMANN, A. A.; MONTGOMERY, B.L.; POPOVICI, J.; ITURBE-ORMAETXE I.; JOHNSON, P.H.; MUZZI, F.; GREENFIELD, M.; DURKAN, M.; LEONG, Y. S.; Y. DONG; COOK, H.; AXFORD, J.; CALLAHAN, A. G.; KENNY, N.; OMODEI, C.; MCGRAW, E. A.; RYAN, P. A.; RITCHIE, S. A.; TURELLI, M.; O'NEILL, S. L. **Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission**. Nature, Vol. 47625, p.454 - 457. August, 2011. Disponível

em: <<https://www.nature.com/nature/journal/v476/n7361/full/nature10356.html>>
Acesso em: 20 de Março de 2017.

HORNETT, EMILY, A.; MORAN, BRUCE; REYNOLDS, LOUISE A.; CHARLAT, SYLVAIN; SAMUEL, TAZZYMAN; WEDELL, NINA; JIGGINS, CHRIS, D.; HURST, GREG D. D. **The Evolution of Sex Ratio Distorter Suppression Affects a 25 cM Genomic Region in the Butterfly *Hypolimnas bolina***. PLoS Genet. 10(12): e1004822. December, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4256269/>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

IKEDA, T.; ISHIKAWA, H.; SASAKI, T. **Infection density of *Wolbachia* and level of cytoplasmic incompatibility in the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella***. J Invertebr Pathol. 84(1):1-5. September, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13678706>> Acesso em: 11 de Abril de 2017.

JIGGINS, F. M.; HURST, G. D.; SCHULENBURG, J. H.; MAJERUS, M. E. **Two male-killing *Wolbachia* strains coexist within a population of the butterfly *Acraea encedon***. Heredity 86, p.161–166. 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11380661>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

JOUBERT, ALBERT D.; WALKER, THOMAS; CARRINGTON, LAUREN B.; BRUYNE, JYOTIKA T.; KEIN, DUONG H. T.; HOANG, NHAT LE THANH; CHAU, NGUYEN VAN VINH; ITURBE-ORMAETXE, IÑAKI; SIMMONS, CAMERON P. ; O'NEILL, SCOTT L. **Establishment of a *Wolbachia* Superinfection in *Aedes aegypti* Mosquitoes as a Potential Approach for Future Resistance Management**. PLoS Pathog, 12(2): e1005434. February, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4758728/>> Acesso em: 20 de Março de 2017

JOHNSON, K. N. **The Impact of *Wolbachia* on Virus Infection in Mosquitoes**. Viruses, 7(11): 5705–5717. November, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4664976/>> Acesso em: 08 de Março de 2017.

JOHNSTON, KELLY L. ; COOK, A. N. DARREN; BERRY, NEIL G.; HONG, DAVID W.; CLARE, RACHEL, H.; GODDARD, MEGAN; FORD, LOUISE; NIXON, GEMMA L.; O'NEILL, PAUL M.; WARD, STEPHEN A.; TAYLOR, MARK J. Identification and prioritization of novel anti-*Wolbachia* chemotypes from screening a 10,000-compound diversity library. **Sci Adv**. 3(9): eaao1551. September, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5617373/>> Acesso em: 1 de Outubro de 2017.

KAGEYAMA, D.; NARITA, S.; WATANABE, M. **Insect Sex Determination Manipulated by Their Endosymbionts: Incidences, Mechanisms and Implications**. Insects, 3(1): 161–199. March, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4553623/>> Acesso em: 08 de Março de 2017.

KOZEK, W. J. **Transovarially-transmitted intracellular microorganisms in adult and larval stages of *Brugia malayi***. J Parasitol. 63(6):992-1000. December, 1977.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/592054>> Acesso em: 20 de Março de 2017.

KHETARPAL, NIYATI; KHANNA, IRA. **Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies.** J Immunol Res. 6803098. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4971387/>> Acesso em: 23 de Junho de 2017.

LAVEN, H. **A possible model for speciation by cytoplasmic isolation in the Culex pipiens complex.** Bull World Health Organ. 37(2): 263–266. 1967. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2554334/>> Acesso em: 20 de Março de 2017.

LANDMANN, FREDERIC; VORONIN, DENIS; SULLIVAN, WILLIAM; TAYLOR, MARK J.. **Anti-filarial Activity of Antibiotic Therapy Is Due to Extensive Apoptosis after Wolbachia Depletion from Filarial Nematodes.** PLoS Pathog, 7(11): e1002351. November, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3207916/>> Acesso em: 29 de Abril de 2017.

LAMBERCHTS, LOUIS; FERGUSON, NEIL M.; HARRIS, EVA; HOLMES, EDWARD C.; MCGRAW, ELIZABETH A.; O'NEILL, SCOTT L.; OOI, ENG E.; RITCHIE, SCOTT A.; RYAN, PETER A.; SCOTT, THOMAS W.; SIMMONS, CAMERON P.; WEAVER, SCOTT C.; **Assessing the epidemiological impact of Wolbachia deployment for dengue control Lancet Infect Dis.** PMC. April, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4824166/>> Acesso em: 11 de Abril de 2017.

LEPAGE, D.; BORDENSTEIN, S. **Wolbachia: can we save lives with a great pandemic?** Trends Parasitol. 29(8): 385–393. August, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3775348/>> Acesso em: 31 de Março de 2017.

LE CLEC'H, W.; CHEVALIER, F.D.; GENTY, L.; BERTAUX, J.; BOUCHON, D.; SICARD, M. **Cannibalism and predation as paths for horizontal passage of Wolbachia between terrestrial isopods.** PLoS One, 10;8(4):e60232. April, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23593179>> Acesso em: 20 de Abril de 2017.

LI, SHAO-JIAN; AHMED, MUHAMMAD Z.; NING, LV.; SHI, PEI-QIONG; WANG, XING-MIN; JI-LEI, HUANG; QIU, BAO-LI. **Plant-mediated horizontal transmission of Wolbachia between whiteflies.** The ISME Journal (2017) 11, 1019–1028; doi:10.1038/ismej.2016.164. Published online, 9 December, 2016. Disponível em: <<http://www.nature.com/ismej/journal/v11/n4/full/ismej2016164a.html>> Acesso em: 26 de Junho de 2017.

MA, W.J.; VAVRE, F.; BEUKEBOMM, L. W. **Manipulation of arthropod sex determination by endosymbionts: diversity and molecular mechanisms.** Sex Dev. Epub, 8(1-3):59-73. December, 2013. Disponível em: <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24355929?log\\$=activity](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24355929?log$=activity)> Acesso em: 15 de Junho de 2017.

MCMENIMAN, C.J.; LANE, A.M.; FONG, A.W.; VORONIN, D.A.; ORMAETXE, I.I.; YAMADA, R.; MCGRAW, E.A.; O'NEIL, S.L. **Host Adaptation of a *Wolbachia* Strain after Long-Term Serial Passage in Mosquito Cell Lines.** Appl Environ Microbiol, 74(22): 6963–6969. November, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2583474/>> Acesso em: 19 de Junho de 2017.

MCMENIMAN, C.J.; LANE, R.V.; CASS, B.N.; FONG, A.W.; SIDHU, M.; WANG, Y.F.; O'NEILL, S.L. **Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*.** Science, 2;323(5910):141-4. January, 2009. Disponível em: <<http://science.sciencemag.org/content/323/5910/141.long>> Acesso em: 31 de Março de 2017

MING, Q.L.; SHEN, J.F.; CHENG, C.; LIU, C.M.; FENG, Z.J. ***Wolbachia* Infection Dynamics in *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and Their Effects on Host Mating Behavior and Reproduction.** J Econ Entomol, 108(3):1408-15. June, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26470269>> Acesso em: 5 de Junho de 2017.

MIN, KYUNG-TAI; BENZER, SEYMOUR. ***Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death.** Proc Natl Acad Sci USA, 30; 94(20): 10792–10796. September, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC23488/>> Acesso em: 31 de Março de 2017

MOREIRA, LUCIANO A.; ITURBE-ORMAETXE, IÑAKI; JEFFERY, JASON A.; LU, GUANGJIN; PYKE, ALYSSA T.; HEDGES, LAUREN M. ; ROCHA, BRUNO C. ; HALL-MENDELIN, SONJA; DAY, ANDREW; RIEGLER, MARKUS; HUGO, LEON E. ; JOHNSON, KARYN N. ; KAY, BRIAN H. ; MCGRAW, ELIZABETH A. ; HURK, ANDREW F. VAN DEN; RYAN, PETER A. ; O'NEILL, SCOTT L. **A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium.** Cell, 24;139(7):1268-78. December, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20064373>> Acesso em: 22 de Agosto de 2017

MURRAY, PATRICK R.; ROSENTHAL, KEN S.; KOBAYSHI, S.; PFALLER, MICHAEL A. **Microbiologia Médica.** 7a Ed.. Rio De Janeiro: Ed. Guanabara Koogan p.604, 2000.

OMS. **Organização Mundial da Saúde.** Global Strategy for dengue prevention and control, 2012–2020 August, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/>> Acesso em: 08 de Maio de 2017.

OMS. **Organização Mundial da Saúde.** A global brief on vector-borne diseases. 2014 Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/111008/1/WHO_DCO_WHD_2014.1_eng.pdf?ua=1> Acesso em: 25 de Junho de 2017

O'NEILL S.L.; HOFFMAN A.; WERREN J. H. **Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction.** Oxford, 1997, UK: Oxford University Press.

OLIVEIRA, CAROLINE D.; MOREIRA, LUCIANO A. **Uso de *Wolbachia* no Controle Biológico**. Tópicos Avançados em Entomologia Molecular, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular. 2012. Disponível em: <<http://www.inctem.bioqmed.ufrj.br/biblioteca/arthrolivro-1/capitulo-19-uso-de-wolbachia-no-controle-biologico/view>> Acesso em: 20 de Março de 2017.

PAN, X; PIKE, A; JOSHI, D; BIAN, G; MCFADDEN, M.J; LU, P; LIANG, X; ZHANG, F; RAIKHEL, AS; XI, Z. The bacterium *Wolbachia* exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. ISME J. 03 Nov. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29099491>> Acesso em: 08 de Novembro de 2017.

PHILIP, C.B. "Tribe II. Ehrlichieae Philip, Trib. Nov." In: R.S. Breed, E.G.D. Murray, and N.R. Smith (eds.), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th edition. The Williams & Wilkins Co, Baltimore. pp. 948-949. 1957. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=942&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>> Acesso em: 17 de Outubro de 2017.

PIETRI, JOSE, E.; DEBRUHL, HEATHER; SULLIVAN, WILLIAN. **The rich somatic life of *Wolbachia***. *Microbiologyopen*, 5(6): 923-936. December, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5221451/#mbo3390-bib-0057>> In: Hertig M. (1936). **The Rickettsia, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp.n.) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens***. *Parasitology*, 28, 453. Acesso em: 19 de Junho de 2017.

PLoS Biol. **Genome Sequence of the Intracellular Bacterium *Wolbachia***. 2(3): e76. 2004. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.0020076>> Acesso em: 21 de Agosto de 2017.

RIEGLER, MARKUS; SIDHU, MANPREET; MILLER, J. W.; O'NEILL, SCOTT L.; **Evidence for a Global *Wolbachia* Replacement in *Drosophila melanogaster***. *Issue 15, Vol. 15, p1428–1433. 9 August, 2005*. Disponível em: <[http://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(05\)00770-?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982205007700%3Fshowall%3Dtrue](http://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(05)00770-?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982205007700%3Fshowall%3Dtrue)> Acesso em: 30 de Maio de 2017.

SARASA J; BERNAL A; FERNÁNDEZ-CALVÍN B; BELLA, J.L. ***Wolbachia* induced cytogenetical effects as evidenced in *Chorthippus parallelus* (Orthoptera)**. *Cytogenet Genome Res.* 139(1):36-43. 2013. Epub 2012 Aug 15. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22907174>

SASAKI, TETSUHIKO; ISHIKAWA, HAJIME. **Transinfection of *Wolbachia* in the Mediterranean Flour Moth, *Ephestia kuehniella*, by Embryonic Microinjection**. *Heredity*, 85, 130–135; 2000. Disponível em: <<http://www.nature.com/hdy/journal/v85/n2/full/6887340a.html>> Acesso em: 19 de Junho de 2017.

SCIENCEIMAGE. Disponível em: <<http://www.scienceimage.csiro.au/tag/crops/i/2357/spotted-alfalfa-aphid-being-attacked-by-parasitic-wasp/>> Acesso em: 22 de Setembro de 2017.

SINKINS, S.P.; CURTIS C.F.; O'NEILL S.L. **The potential application of inherited symbiont systems to pest control.** *Evol Appl* 8(8): 751–768. September, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4561566/>> In: SL O'Neill, AA Hoffmann, JH Werren, *Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction*, Oxford, 1997, University Press, New York, p. 155-175. Acesso em: 01 de Maio de 2017.

SIMHADRI ,RAMA K. ; FAST, M. , EVA; SCHULTZ, RONG GUO MICHAELA J. ; VAISMAN ,NATALIE ; ORTIZ ,LUIS ; BYBEE, JOANNA; SLATKO E., BARTON; FRYDMAN, HORACIO M. **The Gut Commensal Microbiome of *Drosophila melanogaster* Is Modified by the Endosymbiont *Wolbachia*.** *mSphere*, 2(5): e00287-17. Sep-Oct, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5597968/>>. Acesso em: 25 de Março de 2017 Acesso em: 9 de Outubro de 2017.

STOUTHAMER, R; RUSSELL, J, E; VAVRE, F; NUNNEY, L. **Intragenomic conflict in populations infected by Parthenogenesis Inducing *Wolbachia* ends with irreversible loss of sexual reproduction.** *BMC Evol Biol.* 28;10:229. July, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20667099>> Acesso em: 03 de Maio de 2017.

SULLIVAN, WILLIAN. **Manipulation of the manipulator.** *Nature*, Vol 543. March, 2017.

TAYLOR, M.J.; VORONIN, D.; JOHNSTON, K.L.; FORD, L. ***Wolbachia* filarial interactions.** *Cell Microbiol*, 15(4):520-6. April, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23210448>> Acesso em: 30 de Maio de 2017.

TEIXEIRA, LUÍS; FERREIRA, ALVARO; ASHBURNER, MICHAEL. **The Bacterial Symbiont *Wolbachia* Induces Resistance to RNA Viral Infections in *Drosophila melanogaster*.** *PLoS Biol*, 6(12): e1000002. December, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2605931/>> Acesso em: 4 de Agosto de 2017.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 8ed. Porto Alegre, Artmed, p.368. 2006.

ZABALOU, SOFIA; RIEGLER, MARKUS; THEODORAKOPOULOU, MARIANNA; STAUFFER, CHRISTIAN; SAVAKIS, CHARALAMBOS ; BOURTZIS, KOSTAS. ***Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 19; 101(42): 15042–15045. October, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC524042/>> Acesso em: 5 de Junho de 2017.

ZUG R.; HAMMERSTEIN, P. **Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected.** *PLoS One.* 7(6):e38544. July, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22685581>> Acesso em: 22 de Abril de 2017.

WEEKS, A.R; BREEUWER, J.A.; **Wolbachia-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites**. Proc Biol Sci. 7; 268(1482): 2245–2251. November, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1088872/>> Acesso em: 19 de Junho de 2017.

WEINERT, LUCY A.; ELI V. ARAUJO-JNR; AHMED, MUHAMMAD Z.; WELCH, JOHN J. **The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods**. Proc Biol Sci. 22; 282(1807): 20150249. May, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424649/>> Acesso em: 11 de Abril de 2017.

WERREN, J.H.; BALDO, L.; CLARK, M.E. **Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology**. Nat. Rev. Microbiol. 6, 741-51. 2008.

WERREN, J.H. **Biology of Wolbachia**. Annu. Rev. Entomol, 42:587–609. 1997.

WERREN, J.H. **Wolbachia run amok**. Proc Natl Acad Sci U S A, 14; 94(21): 11154–11155. October, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC34513/>> Acesso em: 16 de Abril de 2017.

WOESE, C.R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M.L. **Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:4576-4579. 1990. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=2&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>> Acesso em: 5 de Junho de 2017.

YEN, J.H; BARR, A. R.. **New Hypothesis of the Cause of Cytoplasmic Incompatibility in Culex pipiens L**. Nature, 232, 657 – 658. 27, August, 1971. Disponível em: <<https://www.nature.com/nature/journal/v232/n5313/abs/232657a0.html>> Acesso em: 19 de Junho de 2017.

YONG, ED. **I Contain Multitudes**. HarperCollins, 1^oed. p. 79-81, New York, 2016.