

Estudo comparativo entre técnicas de extração de DNA para o futuro diagnóstico do endossimbionte *Wolbachia* em *Haematobia irritans*

Talita Barban Bilhassi¹

Lea Chapava²

Márcia S. de Oliveira²

Luciana Gatto Brito³

Thalita Athiê Néo⁴

Marcio Dias Rabelo⁵

¹Aluna de Doutorado em Genética e Melhoramento Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, talitabarban@yahoo.com.br

²Pesquisadora, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP;

³Pesquisadora A, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO;

⁴Aluna de Doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, SP.

⁵Analista, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

A mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) constitui-se em um dos ectoparasitos que geram maior estresse aos bovinos. Estima-se que as perdas econômicas ocasionada pela presença dessa mosca nos rebanhos bovinos brasileiros sejam superiores a R\$ 1,6 bilhões/ano. Grandes infestações interferem no desempenho dos animais, ocasionando em reduções no ganho de peso e na produção de leite, produzindo danos significativos à produção animal. Além disso, a mosca-dos-chifres consiste em vetores mecânicos de diversos patógenos que causam doenças. O controle é baseado no uso de inseticidas, no entanto, este método como ferramenta exclusiva de controle tem seu futuro comprometido, devido ao progressivo aumento no número de casos de resistência das moscas aos princípios químicos usados e a falta de perspectivas para o desenvolvimento de novas moléculas. Além disso, a presença de resíduos de medicamentos nos produtos de origem animal é apontada como um grave problema para a saúde pública e para a comercialização dos produtos de origem animal. Assim, a descoberta de métodos alternativos de controle é de extrema importância. Uma nova abordagem seria utilizar a bactéria endossimbiótica *Wolbachia pipientis* como controle biológico, a fim de interferir na transmissão de patógenos. O objetivo do estudo foi comparar três protocolos de extração de DNA para o futuro diagnóstico do endossimbionte *W. pipientis* em *Haematobia irritans*. Para tanto, foi avaliada a viabilidade desses métodos de extração em nove fêmeas de *Drosophila melanogaster* da linhagem SSJ 75: 1) Protocolo descrito por Li et al (2003) utilizando o nitrogênio líquido; 2) Protocolo adaptado de Sunnucks & Hales, 1996; Aljanabi & Martinez, 1997) e; 3) Protocolo 2, porém utilizando drosófilas maceradas. Para análise da qualidade, a razão entre as absorvâncias na faixa de A260nm e A280nm e a concentração em ng/μL das amostras de DNA foram avaliadas no espectrofotômetro (NanoDrop ND – 1000). Os resultados obtidos no espectrofotômetro mostraram que não houve diferenças entre os métodos 2 e 3, demonstrando que a maceração das moscas não interfere na qualidade (A260/280) e na concentração do DNA (ng/μL) extraído. Porém ambos apresentaram diferenças com relação ao método 1. Embora o primeiro protocolo tenha apresentado uma concentração de DNA (ng/μL) satisfatória, a qualidade foi abaixo do esperado (menor que 1,8), o que poderá interferir nos futuros estudos de detecção de *Wolbachia* por meio da Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo em Tempo Real (qPCR) em *H. irritans*, já que essa técnica molecular é de alta sensibilidade e especificidade

Palavras-chave: *Wolbachia*, controle biológico, saúde animal.

Apoio financeiro: Embrapa.

Área: Sanidade Animal/ Biotecnologia

Agradecimentos: Dra Sara Lustigman – New York Blood Center, Lindsley F. Kimball, Research Institute, New York/NY.