



DESENHO DE PRIMERS PARA IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CARRAPATOS PERTENCENTES À FAMÍLIA ARGASIDAE DESIGNING OF PRIMERS TO TAXONOMIC IDENTIFICATION OF TICKS BELONGING TO THE ARGASIDAE FAMILY

C.L. Mafra¹, P.H.C. Lima¹, R.M. Barcelos¹, R.C. Klein¹, J.A. Dergam² & P.M. Vidigal³

¹Depto. Bioquímica e Biologia Molecular; ²Depto. Biologia Animal; ³Núcleo de Análise de Biomoléculas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

O desenvolvimento de estratégias para o diagnóstico molecular de representantes da Família Argasidae de carrapatos é de extrema necessidade devido ao reduzido nível de informações sobre a sua morfologia externa, biologia e ecologia, e a importância destes ácaros no que diz respeito a agentes patogênicos - no contexto das saúdes pública e silvestre. Neste estudo realizamos ensaios *in silico* com o objetivo de desenvolver primers gênero-específicos baseados no gene mitocondrial 16S para a identificação e diferenciação taxonômica de exemplares de carrapatos da Família Argasidae. Foram realizadas análises com 55 sequências correspondentes aos fragmentos do gene 16S referentes a cinco gêneros de argasídeos: *Argas*, *Antricola*, *Carios*, *Ornithodoros* e *Otobius*, dentre as depositadas no GenBank. Estas sequências foram separadas conforme o gênero, sendo alinhadas com o auxílio do aplicativo ClustalW2. Inicialmente foi utilizado o aplicativo PrimaClade visando identificar os possíveis primers gênero-específicos. Os primers pré-concebidos foram então modificados considerando-se resultados do alinhamento múltiplo e das análises de similaridade existente entre as sequências alinhadas dos gêneros considerados. Estas análises proporcionaram a predição dos conjuntos de primers mais específicos possíveis a cada gênero. A seguir, o aplicativo MEGA 6.0 auxiliou na verificação da possível similaridade, e consequentemente especificidade, existentes entre as sequências dos conjuntos de primers gênero-específico desenhados e as sequências *sense* e *anti-sense* das espécies de argasídeos referentes a cada gênero. Através desta estratégia foram direcionados cinco conjuntos gênero-específicos de primers para identificação do gene 16S para *Argas*, *Antricola*, *Carios* e *Ornithodoros*. Com a ferramenta PCR *in silico* do aplicativo FastPCR verificamos a amplificação das sequências 16S específicas a cada gênero em relação aos seus conjuntos de primers gênero-específicos correspondentes. Como resultado foram definidos cinco conjuntos, ou combinações de primers 16S denominados Arg1F/Arg1R, Antr1F/Antr1R, Car1F/Car1R, Orn1F/Orn1R e Orn2F/Orn1R, com os respectivos tamanhos aproximados de amplicons: 300, 350, 270, 309 e 280pb. Considerando o número reduzido de sequências disponibilizadas no GenBank, observamos que a viabilidade de amplificação está ligada a formalização do conjunto gênero-específico dos primers, visto que em sua maioria os primers individualmente não se apresentaram como gênero-específicos. Considerando estes resultados, os conjuntos de primers definidos serão direcionados para ensaios diagnósticos *in vitro*.

Palavras-chave: análise *in silico*, argasídeos, gene 16S, taxonomia molecular