

# INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES PARA RESISTÊNCIA AO CARRAPATO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE E SEUS CRUZAMENTOS

L. DE ALMEIDA-REGITANO CORREIA\*<sup>1</sup>; M. C. OLIVEIRA DE SENNA<sup>1</sup>; M. DE ALENCAR MELLO<sup>1</sup>; M. CARVALHO ESPERÂNDIO<sup>2</sup>; R. ANDRÉO<sup>3</sup>; L. MELETTI<sup>4</sup>; C. G. GASPARIN<sup>5</sup>; M. MIYATA<sup>5</sup>; B. WALDOMIRO<sup>1</sup>; A. M. SILVA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Pecuária Sudeste; <sup>2</sup>FZEA-USP; <sup>3</sup>Uniará; <sup>4</sup>UNESP; <sup>5</sup>UFSCar.

luciana@cpps.embrapa.br

## RESUMO

A associação entre as frequências alélicas de três locos microssatélites próximos a genes candidatos e a contagem de carrapatos, avaliada por infestação artificial, foi investigada em fêmeas da raça Nelore e cruzados com Angus, Simental e Canchim. Correlações positivas e significativas ( $P < 0,05$ ) foram observadas para o alelo 2 do marcador ILSTS054 e alelo 7 do marcador BL4. Os alelos 3 e 5 do marcador BL4 apresentaram correlações negativas e significativas ( $P < 0,05$ ) com a média de carrapatos em pelo menos uma infestação. Esses resultados deverão ser investigados em um número maior de animais a fim de verificar a correlação do genótipo marcador e com resistência ou com origem racial.

**Palavras chave:** bovino, *Boophilus microplus*, marcador molecular, resistência genética.

## ABSTRACT

The association between allelic frequencies at three microsatellite loci closely linked to candidate genes and tick counts, evaluated by artificial challenge, was investigated in Nelore and in crossbred Angus, Simental and Canchim x Nelore cows. Positive and significant correlations were obtained between tick counts and frequencies of allele 2 of ILSTS054 and of allele 7 of BL4. Alleles 3 and 5 of BL4 were negatively correlated to tick counts in at least one challenge. These results should be further investigated in a larger sample to access whether the correlation is with resistance or breed origin.

**Key words:** bovine, *Boophilus microplus*, molecular marker, genetic resistance.

## INTRODUÇÃO

O carrapato *Boophilus microplus* é responsável por grandes perdas na produção de carne e de leite, além de causar prejuízos à qualidade do couro. O desenvolvimento de marcadores genéticos para resistência ao *Boophilus microplus* tem sido apontado como uma alternativa para facilitar o melhoramento para resistência, uma vez que a avaliação fenotípica dessa característica é de difícil implantação na rotina de programas de melhoramento. No presente trabalho, três marcadores microssatélites situados próximos aos genes do Interferon Gama (IFNG), das imunoglobulinas A e G e do Fator de Necrose Tumoral (TNF $\alpha$ ) foram analisados em fêmeas da raça Nelore e cruzados com Angus, Simental e Canchim, com a finalidade de relacionar as frequências alélicas com a média de contagem de carrapatos de cada grupo genético em infestações artificiais.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Animais:** Foram utilizadas fêmeas das seguintes composições raciais: Nelore (NI, N= 216), Angus X Nelore (TA, N=145 ), Simental X Nelore (TS, N=146 ) e Canchim X Nelore (RC, N=203).

**Infestações artificiais:** Quatro infestações foram realizadas em um subconjunto de 16 fêmeas de cada grupo genético, depositando-se aproximadamente 10.000 larvas infectantes de *Boophilus microplus* no dorso do animal. O número de carrapatos adultos foi contado no lado esquerdo do animal, do 19º ao 20º dia após cada infestação. As análises de correlação entre as médias de carrapatos observados em cada grupo genético e frequência de um dado alelo no respectivo grupo genético, foram realizadas pelo método de Pearson, para cada contagem separadamente.

Análise de marcadores: Os marcadores foram selecionados com base na sua posição, próximos aos genes IFNG (BTA5), TNF $\alpha$  (BTA23) e IgG (BTA21). Os produtos de amplificação com iniciadores específicos para cada loco foram analisados no seqüenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

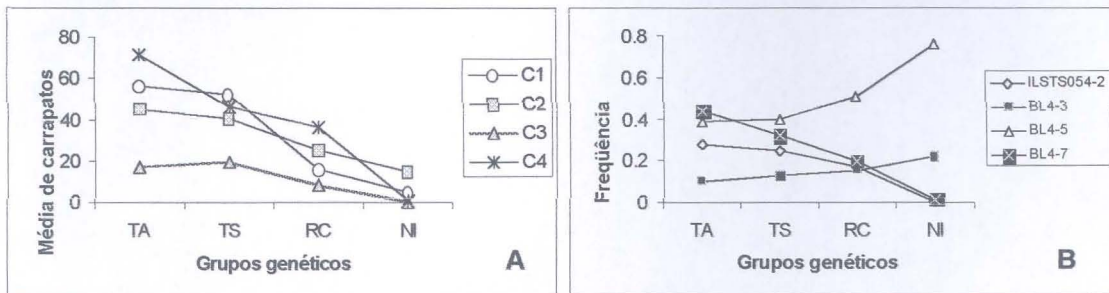
As médias das quatro contagens de carrapatos variaram de 4,98 na raça Nelore a 27,91 nos cruzados Angus X Nelore. Os marcadores ILSTS054 (BTA21) e BL4 (BTA5) apresentaram 9 alelos e o marcador Cyp21 (BTA23), 19 alelos, nos quatro grupos genéticos analisados. Correlações positivas e significativas ( $P < 0,05$ ) foram observadas para o alelo 2 do marcador ILSTS054 e alelo 7 do marcador BL4 em três das quatro contagens. Os alelos 3 e 5 do marcador BL4 apresentaram correlações negativas e significativas ( $P < 0,05$ ) com a média de carrapatos em pelo menos uma contagem (Tabela I).

**Tabela I.** Valores de correlação de Pearson entre as médias de contagem dos quatro grupos genéticos e frequência dos alelos 3, 5 e 7 do microsatélite BL4 e do alelo 2 do microsatélite ILSTS054. As probabilidades do teste de significância são apresentadas entre parêntesis.

Contagens	Alelos			
	BL4-3	BL4-5	BL4-7	ILSTS054-2
C1	-0.889 (0.111)	-0.899 (0.101)	0.951 (0.049)	0.920 (0.080)
C2	-0.952 (0.048)	-0.949 (0.050)	0.988 (0.012)	0.967 (0.033)
C3	-0.920 (0.079)	-0.961 (0.039)	0.933 (0.067)	0.964 (0.036)
C4	-0.987 (0.014)	-0.946 (0.054)	0.987 (0.013)	0.961 (0.039)

Apesar de bastante preliminares, os resultados apontam para uma forte associação entre as frequências de alguns alelos dos marcadores BL4 e ILSTS054 e o número de carrapatos observados (Figura 1).

O marcador BL4 encontra-se a aproximadamente 2 cM do gene IFNG, que tem sido apontado como importante candidato na modulação da resposta de mamíferos a carrapatos Battsetseg et al. (2002). O nível circulante de imunoglobulinas G (IgG) foi positivamente associado à taxa de infestação, porém, Kashino et al. (2005) demonstraram que raças de bovinos sensíveis ao *Boophilus microplus* apresentam depressão dos níveis circulantes de IgG, o que não ocorreu com a raça Nelore, considerada como resistente. No presente trabalho, o único alelo do marcador ILSTS054 que apresentou correlação significativa com contagem de carrapatos não está presente na raça Nelore. A investigação do efeito desses marcadores deverá ser realizada em um maior número de animais a fim de confirmar os resultados.



**Figura 1.** Médias de quatro contagens de carrapatos nos grupos genéticos TA, TS, RC e NI (A) e frequências dos alelos 3, 5 e 7 do microsatélite BL4 e do alelo 2 de ILSTS054 nos quatro grupos genéticos (B).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Battsetseg, B., Mamiro, K., Inoue, N., Makala, L., Nagasawa, H., Iwakura, Y., Toyoda, Y., Mikami, T., Fujisaki, K. 2002. Immune Responses of Interferon Gamma (IFN- $\lambda$ ) Knock Out Mice to Repeated *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) Nymph Infestations. *Journal of Medical Entomology* 39: 173-176.
- Kashino, S., Resende, J., Sacco, A.M.S., Rocha, C., Proença, L., Carvalho, W.A., Firmino, A.A., Queiroz, R., Benavides, M., Gershwin, L.J., De Miranda Santos, L.K.F. 2005. *Boophilus microplus*: The pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. *Experimental Parasitology* 110:12-21