

## Otimização de PCR para estudo da diversidade genética de *Babesia bigemina* em amostras de sangue de bezerros da raça Canchim naturalmente infectados

Gabrielly de Oliveira Lopes<sup>1</sup>; Cíntia Hiromi Okino<sup>2</sup>; Henrique Nunes de Oliveira<sup>3</sup>; Márcia Cristina de Sena Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Medicina Veterinária, UNICEP, São Carlos, São Carlos, SP. Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP; gabyoliveiralopes16@gmail.com.

<sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Professor do Departamento de Zootecnia, FCAV, Unesp, Jaboticabal, SP.

*Babesia bigemina* é um protozoário que se multiplica nos eritrócitos dos bovinos e induz uma grave anemia hemolítica. A ocorrência da doença segue a dispersão do carrapato *Rhipicephalus microplus*, considerado o único vetor biológico desse parasita. Apesar da ampla distribuição desses parasitas no Brasil, pouca informação está disponível sobre a diversidade genética das cepas circulantes. Neste experimento o objetivo foi padronizar uma técnica de PCR para a amplificação de parte do gene que codifica a região ITS 1 (internal transcribed spacer 1) do rDNA de *B. bigemina*. Esse gene foi escolhido por apresentar grande variabilidade, facilitando as análises de filogenia. Amostras de sangue de bezerros da raça Canchim, monitorados por qPCR desde o nascimento e detectados como positivos foram usadas para a extração do DNA genômico e foram usados na padronização da PCR. As amostras de sangue foram extraídas usando o kit Easy (invitrogen), no volume de 60  $\mu$ l. As reações de PCR no volume final de 10  $\mu$ l foram otimizadas usando os primers CGTCCCTGCCCTTTGTA e TATTTCTTTTCTGCCGCTT com a temperatura de anelamento de 52°C, em 40 ciclos de 94°C para desnaturação e 68°C para extensão. Os amplicons produzidos apresentaram aproximadamente 1041 pb, estando de acordo com o esperado. As sequências amplificadas foram purificadas e submetidas a sequenciamento usando o método Sanger. Os fragmentos sequenciados mostraram muitas sobreposições de bases, inviabilizando as análises filogenéticas. Novos primers serão desenhados com o objetivo de amplificar uma região do mesmo gene, que permita a identificação das bases.

**Apoio financeiro:** Embrapa seg. 02.17.00.005.00.00, FAPESP n. 2016/07216-7, CNPq PIBIC n. 10/2020

**Área:** Produção animal.

**Palavras-chave:** *Babesia bigemina*, hemoparasitas, diversidade genética.

**Número Cadastro SisGen:** AD22351