

Estudo da diversidade genética de *Babesia bigemina* em amostras de sangue de bezerros da raça Canchim naturalmente infectados

Gabrielly de Oliveira Lopes¹; Cíntia Hiromi Okino²; Henrique Nunes de Oliveira³; Márcia Cristina de Sena Oliveira²

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

²Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

³Professor 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 de uma PCR. As amostras de sangue foram extraídas usando o kit Easy (Invitrogen), para o volume final de 60 µl. As reações de PCR foram otimizadas usando os primers F: CGTCCCTGCCCTTTGTA e R:TATTTTCTTTTCTGCCGCTT com a temperatura de anelamento de 52°C, em 40 ciclos de 94°C para desnaturação e 68°C para extensão. Os amplicons produzidos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose e apresentaram aproximadamente 1041 pb, estando de acordo com o esperado. Essas sequências foram purificadas usando o kit Purelink Gel Extraction (ThermoFisher), quantificadas com Qubit HS DNA e fluorômetro Qubit (ThermoFisher) e submetidas a sequenciamento usando o método Sanger. Os fragmentos sequenciados foram editados usando o programa Chromas e foram comparadas com suas homólogas depositadas no GenBank usando o programa Blastn. As amostras experimentais e as duas homólogas foram usadas para construção de uma matriz de alinhamento usando o programa Clustal IX 2.1. A matriz de alinhamento obtida foi editada novamente usando o programa Genedoc e usada para construção de uma árvore filogenética usando o programa Mega 11. Os fragmentos sequenciados não se agruparam de acordo com suas origens, indicando que muitos fatores além da região geográfica podem influenciar o desenvolvimento de diferenças no DNA que codifica o gene ITS1. Apesar disso, as amostras dos animais do presente experimento se agruparam separadamente, tanto os animais controle (17 e 20) originários de rebanho da raça Holandesa, como os demais, originados de rebanho de corte (Canchim). Apesar dos dois rebanhos pertencerem à mesma fazenda experimental, as diferenças encontradas indicam que as interações entre os parasitas e os hospedeiros podem ser importantes na emergência de novas cepas.

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