

XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

Quantificação e estimativas de parâmetros genéticos de níveis de infecção de *Babesia bovis* em bovinos Braford e Hereford

Ligia Cavani^{1*}, Fernando F. Cardoso², Claudia C. Gúlias Gomes², Alexandre R. Caetano³, Naiara M. Augusto da Silva³, Rodrigo Giglioti¹, Cintia H. Okino⁴, Márcia C. de Sena Oliveira⁴, Henrique N. Oliveira¹

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, Brasil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

⁴Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brasil

*Autor correspondente: ligiacavani@hotmail.com

Resumo: O objetivo desse trabalho foi quantificar o nível de infecção por *Babesia bovis* (*B. bovis*) em bovinos das raças Braford e Hereford por meio de técnicas moleculares baseadas em PCR e estimar parâmetros genéticos para essa característica. Amostras de sangue de 1898 animais foram utilizadas para as quantificações por meio da técnica de qPCR para obter o número de cópias de *B. bovis* usando primers específicos que flanqueiam o fragmento do gene do citocromo B desse protozoário, e posteriormente transformados em log base 10 ($x+1$). Os mesmos animais foram genotipados utilizando o painel de SNPs Illumina BovineSNP50. O modelo incluiu efeitos fixos de grupo contemporâneo, efeitos aleatórios representados como efeito genético aditivo direto para cada animal, e resíduo. Efeitos da proporção Nelore, heterozigose e recombinação também foram considerados no modelo como covariáveis. Foi utilizado o método single-step GBLUP e os componentes de variância foram estimados via amostrador de Gibbs utilizando inferência Bayesiana sob modelo animal. A média fenotípica foi 1,187. A herdabilidade foi baixa (0,103), porém indica a existência de variabilidade genética aditiva para a característica e, portanto, pode ser utilizada para selecionar bovinos Braford e Hereford mais resistentes a *B. bovis*.

Palavras-chave: babesiose, herdabilidade, qPCR.

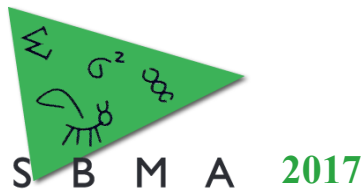
Quantification and estimates of genetic parameter for tick count and infection level of *Babesia bovis* traits in Braford and Hereford cattle

Abstract: This study aimed to quantify infection level of *Babesia bovis* using PCR technique and to estimate genetic parameters for this trait in Braford and Hereford cattle. Blood samples from 1898 animals were collected for quantification using the qPCR assays to obtain the number of copies of *B. bovis* with specific primers that flank the fragment of the mt-cyB gene of this protozoary. These records were transformed in log base 10 ($x + 1$). The same animals were genotyped by using Illumina BovineSNP50. The model included fixed effects of contemporary group, random effects that represented additive genetic direct effects of each animal, and residuals. Also, the effects of Nelore breed proportion, heterozygosity, and recombination loss were included in the model as covariates. The single-step GBLUP method was used, and the variance components were estimated by Gibbs sampler using Bayesian inference in a animal model analysis. The phenotype mean was 1.187. The heritability was low (0.103), but shows that there is additive genetic variability. Therefore, the study trait can be used to select Braford and Hereford cattle resistant to *B. bovis*.

Keywords: babesiosis, heritability, qPCR.

Introdução

A *Babesia bovis* (*B. bovis*) e *Babesia bigemina* são protozoários causadores da babesiose bovina e, juntos com o *Anaplasma marginale*, formam o conjunto de agentes etiológicos da tristeza parasitária bovina (TPB), levando a importantes perdas para a indústria pecuária de regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, a ocorrência da babesiose segue a dispersão do carrapato *Rhipicephalus*



(*Boophilus microplus*), considerado o único vetor desses parasitas; porém a eliminação temporária do carrapato traz riscos de surtos de babesioses que podem provocar mortalidade no rebanho. A existência de variação fenotípica nos níveis de infecção por *B. bovis* e dentro de raças e entre raças zebuínas e taurinas já foram demonstradas (Bilhassi et al., 2014), contudo não há estudos focados na seleção para resistência desse parasita. O objetivo desse trabalho foi quantificar o nível de infecção por *B. bovis* em bovinos das raças Braford e Hereford por meio de técnicas moleculares baseadas em PCR e estimar parâmetros genéticos para essa característica.

Material e Métodos

Amostras de sangue de 1898 animais (1730 Braford e 168 Hereford) de fazendas localizadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, foram coletadas da veia jugular usando sistema Vacutainer® em tubos contendo anticoagulante EDTA para extração de DNA. A quantificação de *B. bovis* foi realizada pela técnica de qPCR para obter o número de cópias usando primers específicos que flanqueiam o fragmento do gene do citocromo B desse protozoário (Buling et al., 2007). Os valores obtidos das quantificações, que representam o nível de infecção por *B. bovis*, foram transformados em log base 10 (x+1). Os mesmos animais foram genotipados utilizando o painel de SNPs Illumina BovineSNP50. Foram removidas amostras com call rate <0,90 e heterozigose 3 DP acima ou abaixo da média observada. Foram mantidos os SNPs com os critérios de qualidades: call rate >0,98, frequência do alelo raro ($\leq 0,03$), desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 10^{-7}$) e correlação entre SNPs ($\geq 0,98$).

O modelo incluiu efeitos fixos, efeitos aleatórios representados como efeito genético aditivo direto para cada animal, e resíduo. O efeito fixo foi composto pelo grupo contemporâneo (mesma fazenda, sexo, ano de nascimento, e grupo de manejo). Efeitos da proporção Nelore, heterozigose e recombinação também foram considerados no modelo como covariáveis. Grupos contemporâneos com menos de 5 animais foram excluídos das análises. Foi utilizado o método single-step GBLUP (ssGBLUP), onde as informações genômicas são incluídas na formação da matriz de parentesco conforme Aguilar et al. (2010). Os componentes de variância foram estimados via amostrador de Gibbs utilizando inferência Bayesiana sob modelo animal (300000 iterações, burn-in 30000) utilizando as informações genômicas. Foram utilizados os softwares da família Blupf90 (Misztal et al., 2002).

Resultados e Discussão

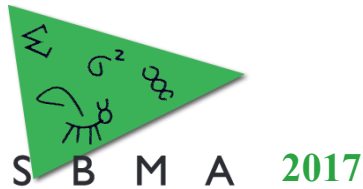
Após edição dos dados restaram 1.874 animais com informações fenotípicas para nível de infecção por *B. bovis* com média de 1,187, sendo o mínimo 0 e máximo 3,603. O número total de grupos de contemporâneos formados foi de 15, e as médias para proporção Nelore, heterozigose e recombinação foram de 0,318, 0,423 e 0,397, respectivamente. O número total de animais considerado nas análises, com e sem informação fenotípica, foi de 13.383, sendo 4.496 animais genotipados; além disso, o total de SNPs após controle de qualidade foi de 39.919.

A tabela 1 contém as estimativas dos componentes de variância e herdabilidade para nível de infecção por *B. bovis*. A herdabilidade foi baixa (0,103), porém indica a existência de variabilidade genética aditiva para a característica.

Tabela 1. Médias posterior e HPD (highest posterior density intervals) dos componentes de variância para a característica nível de infecção por *B. bovis* em bovinos das raças Braford e Hereford .

¹ Parâmetro	Média posterior	HPD
σ_a^2	0,039	0,019 – 0,062
σ_e^2	0,342	0,314 – 0,372
h^2	0,103	0,051 – 0,161

¹ σ_a^2 : componente de variância genética aditiva; σ_e^2 : componente de variância residual; h^2 : herdabilidade; EP: erro-padrão.



XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

Conclusão

A característica nível de infecção por *B. bovis* pode ser obtida utilizando técnicas moleculares baseadas em PCR e utilizada para selecionar bovinos Braford e Hereford mais resistentes a esse parasita, porém o progresso genético usando apenas os dados fenotípicos será lento.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (nº processos: 2015/13024-0 e 2016/07216-7), à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (projeto SEG 02.13.10.002) e à Conexão Delta G pelo fornecimento de animais e dados.

Literatura citada

AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **J. Dairy Sci.**, 93(2):743, 2010.

BILHASSI, T. B.; OLIVEIRA, H. N.; IBELLI, A. M. G.; GIGLIOTI, R.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA-SIQUEIRA, T. C. G.; BRESSANI, F. A.; MALAGÓ JR, W.; RESENDE, F. D.; OLIVEIRA, M. C. S. Quantitative study of *Babesia bovis* infection in beef cattle from São Paulo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 5:234-238, 2014.

BULING, A.; CRIADO-FORNELIO, A.; ACENZO, G.; BARBA-CARRETERO, J. C.; FLORIN-CHRISTENSEN, M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. **Vet. Parasitol.**, 147:16, 2007.

MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; STRABEL, T.; AUVRAY, B.; DRUET, T.; LEE, D. H. BLUPF90 and related programs (BGF90). In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 7, 2002, Montpellier. **Anais...** Montpellier, 2002. Disponível em: <<http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=28-07.pdf>>