

ESTUDO PRELIMINAR DA RELAÇÃO ENTRE MARCADORES GENÉTICO-BIOQUÍMICOS E RESISTÊNCIA AO CARRAPATO EM GADO DE CORTE

Lúcia Lúcia L. Panepucci¹, Maurício M. de Alencar¹ e Gilson P. de Oliveira¹

RESUMO — Foram analisados os marcadores genético-bioquímicos de 120 animais das raças canchim e nelore, que sofreram infestações artificial e natural de carrapatos (*Boophilus microplus*). Para relacionar os marcadores genéticos com a resistência ao carrapato, os animais foram classificados como sendo de alta ou baixa resistência, quando possuíam resistência acima ou abaixo da média do seu grupo de raça, sexo e tipo de infestação, respectivamente. A análise dos marcadores foi realizada por meio de eletroforese em gel de amido para seis sistemas protéicos sanguíneos: albumina, amilase, transferrinas, hemoglobina, anidrase carbônica e nucleosídeo fosforilase. Houve evidências de associação ($P < 0,05$) entre baixa resistência ao carrapato e transferrina E no gado nelore, e entre alta resistência e amilase C no gado canchim.

Termos para indexação: Marcadores genético-bioquímicos, polimorfismos protéicos, carrapato, gado de corte.

Relationship between genetic markers and resistance to tick infestation in beef cattle

ABSTRACT — Gene markers were analysed in 120 animals from the Canchim and Nelore breeds. Tick infestation was studied in natural and artificially infested animals, that were classified as having high or low resistance to tick burden when re-

sistance was over or below average of each sex, breed and type of infestation (natural or artificial) group. Gene markers were studied by starch gel electrophoresis for six protein systems: albumin, amylase, transferrin, hemoglobin, carbonic anhydrase and nucleoside phosphorylase. It was detected association ($P < 0,05$) between low resistance to tick infestation and transferrin E in the Nelore breed, and between high resistance and amylase C in the Canchim breed.

Key words: Genetic markers, protein polymorphism, tick infestation, beef cattle.

INTRODUÇÃO

A variabilidade genética e sua expressão nas proteínas do sangue vem sendo largamente estudada em todas as espécies animais (LEWONTIN, 1974; BURNS, 1975; MCDERMID et alii, 1975; BAKER & MANWELL, 1980; GONZALEZ et alii, 1987). Essas características genético-bioquímicas são controladas por pares de genes, geralmente, codominantes, cujos fenótipos permanecem inalterados durante toda a vida, apresentando uma segregação mendeliana simples.

Vários estudos relacionam características morfofuncionais e adaptativas de diferentes raças de bovinos com as frequências relativas de diferentes marcadores genéticos (OSTERHOFF & NEETHLING, 1969; BRAEND, 1972; KIDDY, 1979). Assim, o fato de

1 — Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) — Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE) de São Carlos - SP.

o gado zebu ter uma freqüência comparativamente maior do que o gado europeu para o alelo B da hemoglobina e para o alelo E da transferrina, entre outros, poderia estar associado à rusticidade e adaptação aos trópicos (BAKER & MANWELL, 1980; PANPUCCI, 1988). Da mesma maneira, a amilase C tem uma freqüência maior em gado europeu, junto com outros alelos, que assim confeririam a este gado a adaptabilidade de que dispõe nos ambientes que se desenvolve.

Muitos estudos têm sido realizados, desde a década de sessenta, relacionando características de produção animal com grupos sanguíneos e polimorfismos protéticos do sangue (NEIMAMM SORENSEN & ROBERTSON 1961; FRANCIS & ASHTON, 1967; BRUM et alii 1970; CARR et alii, 1974; KIDDY et alii, 1975; KIDDY, 1979; MEGGIOLARO, 1981; BAKER & MANWELL, 1983; RIBAS, 1985; GELDERMANN et alii, 1985; LOZOVAYA & GOLOVCHENKO, 1987). O melhor exemplo de relação entre variantes bioquímicas e resistência a doenças foi detectado no homem, em virtude de haver sido encontrados indivíduos com hemoglobina S mais resistentes à malária (ALLISON, 1955).

FRANCIS & ASHTON (1967) e ASHTON et alii (1968) relacionaram os genótipos da amilase com a carga de carrapatos em gado cruzado (brahman-bos *tauros*). CARR et alii (1974) detectaram uma correlação positiva entre a hemoglobina C (HbC) com a presença e a quantidade de carrapatos encontrados em gado zebu de Zâmbia.

O carrapato do boi, *Boophilus microplus*, é um ectoparasito responsável por sérios problemas, afetando a economia da bovinocultura de inúmeros países. Dependendo do nível de infestação, ele pode interferir na produção animal (GEE et alii, 1972), na transmissão de doenças (STEWART et alii, 1981) e no aproveitamento de couro (OLIVEIRA, 1983).

A caracterização biológica de uma nova raça deve ser feita através da comparação com outras, em determinados tipos de ambiente e manejo. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), por intermédio da Unidade de Execução de Pesquisa

de Âmbito Estadual (Uepae) de São Carlos, vem há algum tempo desenvolvendo projetos de pesquisa com a finalidade de avaliar o desempenho da raça canchim em comparação à raça nelore. Dentro deste contexto OLIVEIRA & ALENCAR (1987) e OLIVEIRA et alii (1988) avaliaram a resistência da raça canchim ao carrapato em comparação à raça nelore, em infestação artificial e natural, respectivamente, verificando maior resistência nos animais zebuínos, apesar da elevada resistência observada nos animais da raça canchim.

O presente trabalho tem como objetivo verificar a relação entre marcadores genético-bioquímicos e resistência ao carrapato nas raças canchim e nelore, visando obter mais informações a respeito dessas duas raças.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com animais das raças canchim e nelore, pertencentes aos rebanhos da Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de São Carlos, Uepae de São Carlos, SP. Foram utilizados 120 animais que sofreram infestações artificial e natural de carrapatos (*Boophilus microplus*, Canestrini). Para a infestação artificial utilizaram-se 30 animais canchins e 30 animais nelores, sendo metade de cada sexo, nascidos em 1984, que aos 15,5 meses de idade receberam duas infestações de 20.000 larvas de carrapato, cada um, em intervalo de 14 dias. Dezoito dias após cada infestação, foram feitas três contagens, em dias alternados, do número de fêmeas ingurgitadas do lado esquerdo do animal.

Na infestação natural, utilizaram-se também 60 animais, metade de cada raça e sexo, nascidos em 1985, que com idade média de 19 meses foram colocadas em pastagens de *Andropogon gayanus*. Foram feitas contagens de carrapatos do lado esquerdo do animal, a cada 28 dias, totalizando 12 contagens ao longo do período experimental.

Os animais da raça canchim, utilizados no presente estudo, são oriundos do rebanho da própria Uepae de São Carlos, podendo ser considerados

como sendo amostra representativa da raça, visto que grande parte dos rebanhos de gado canchim foram formados, a partir deste rebanho. Os animais da raça nelore, apesar de terem nascido na Uepae de São Carlos, são filhos de vacas adquiridas na fazenda Santa Sofia, situada no município de Presidente Venceslau, SP, e de touros adquiridos do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo, Estação Experimental de Sertãozinho, ambos controlados (filhos de pais e mães registradas) e que representavam um número razoável de linhagens da raça.

Amostras de sangue foram extraídas da veia jugular de todos os animais infestados, e centrifugadas por 15 minutos a 3 000 rpm. O plasma foi reservado e as hemácias foram lavadas por três vezes em solução salina, 0,9% NaCl. Foram analisados seis sistemas genéticos: albumina (Alb), transferrina (Tf), amilase (Am), he-

moglobina (Hb), nucleosídeo fosforilase (NP) e anidrase carbônica (CA). Os marcadores genéticos foram identificados por eletroforese em gel de amido horizontal, usando técnica especial para cada um deles: albumina (KRISTJANSSON, 1963), transferrinas (GELDERMANN, 1970), amilase (GEBICKE-HAERTER & GELDERMANN, 1977), hemoglobina (BRAEND, 1971), nucleosídeo fosforilase (EDWARDS et alii, 1971), e anidrase carbônica pela técnica de precipitação da hemoglobina (PANEPUCCI, 1988).

Para relacionar os marcadores genéticos com a resistência ao carrapato, os animais foram classificados como sendo de baixa ou alta resistência ao parasito, quando carregavam número de carrapatos, respectivamente acima ou abaixo da média do seu grupo, média esta obtida para cada raça, sexo e tipo de infestação (Quadro 1). Desta maneira, pode-se juntar os sexos e os dados dos dois tipos de infestação.

QUADRO 1 — Média* dos números de carrapatos por raça, sexo e tipo de infestação

Raça	Sexo	Infestação	
		Artificial	Natural
Canchim	Machos	79,0	17,0
	Fêmeas	49,0	5,3
Nelore	Machos	10,0	7,5
	Fêmeas	2,1	2,2

*contagem do lado esquerdo do animal.

A associação entre a resistência ao carrapato e os marcadores genéticos foi avaliada pelo teste de qui-quadrado.

RESULTADOS

O Quadro 2 mostra a relação entre o número de animais, para cada genótipo, nos seis sistemas protéicos analisados e o nível de resistência (alta e baixa) ao carrapato para as raças nelore e canchim. Neste tipo de análise não foram observadas, pelo teste de qui-quadrado, diferenças significativas entre as classes (alta e baixa) dentro de cada genótipo e sistema protéico ($P >$

0,05).

Analisando-se o número de animais, em função dos alelos nos diferentes sistemas protéicos, foram detectadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para amilase ($\chi = 4,260$) e transferrinas ($\chi = 6,109$) das raças canchim e nelore respectivamente (Quadro 3). Assim, houve maior número de animais considerados de alta resistência que possuíam o alelo AmC do que animais de baixa resistência, no gado canchim, e maior número de animais considerados de baixa resistência que possuíam o alelo Tfe no sistema transferrinas no gado nelore.

QUADRO 2 — Número de animais por genótipo nos sistemas protéicos (SP) analisados por classe de resistência ao carrapato (Alta e Baixa) e raça (Canchim e Nelore), e valor correspondente do qui-quadrado (χ^2)

SP	Genótipo	Canchim			Nelore		
		Alta	Baixa	χ^2	Alta	Baixa	χ^2
Hb	AA	27	22	0,336	12	16	1,416
	AB	5	6		17	12	
	BB	—	—		—	3	
Am	BB	21	24	2,057	27	28	0,152
	BC	9	4		2	3	
	CC	2	—		—	—	
Alb	FF	8	10	1,247	2	3	0,181
	FS	15	13		10	11	
	SS	9	5		17	17	
Tf	AA	3	1	4,657	4	1	6,901
	DD	22	18		4	1	
	EE	1	1		4	8	
	AD	3	5		10	8	
	AE	—	2		6	11	
	DE	3	1		1	2	
CA	SS	29	24	0,388	13	13	0,445
	ZZ	2	3		—	—	
	SZ	1	1		13	16	
	FS	—	—		3	2	
NP	(HH e HL)	21	18	0,012	—	29	1,936
	LL	11	10		2	29	

Hb = hemoglobina; Am = amilase; Alb = albumina; Tf = transferrina; CA = anidrase carbônica e NP = nucleosídeo fosforilase.

DISCUSSÃO

A hemoglobina C descrita por CROCKETT et alii (1963) em gado zebu africano não foi detectada no presente trabalho nas raças canchim e nelore. No entanto, CARR et alii, (1974) encontraram correlação positiva, quando avaliaram a intensidade de infestação do carrapato com esta hemoglobina. No mesmo trabalho, os autores enfatizam a ausência de relação entre a intensidade desse ixodídeo e a amilase C. Entretanto, FRANCIS & ASHTON (1967), em trabalho semelhante, verificam que a frequência de AmB é maior no grupo menos infestado com carrapatos em gado cruzado australiano e que a distribuição da amilase nos 20 animais

menos infestados diferia significativamente da distribuição nos 20 animais mais infestados. ASHTON et alii, (1968), por outro lado, analisando 25 populações, produto de cruzamentos de zebu australiano e *Bos taurus*, totalizando 7741 animais, mostraram que animais com o genótipo AmC possuíam número significativamente maior de carrapatos que os outros genótipos.

Apesar de o trabalho de FRANCIS & ASHTON (1967) relacionar amilase B com alta resistência ao carrapato e o trabalho de ASHTON et alii (1968) relacionar amilase C com baixa resistência, o presente trabalho mostra resultados inversos, alta resistência ao carrapato e amilase C no rebanho canchim. Não obstante estes resulta-

QUADRO 3 — Número de alelos dos diferentes sistemas protéicos analisados (SP), por raça e classe de resistência (Alta e Baixa) e valor correspondente do qui-quadrado (χ^2)a

SP	Alelo	Canchim			Nelore		
		Alta	Baixa	χ^2	Alta	Baixa	χ^2
Hb	A	59	50	0,302	41	44	0,001
	B	5	6		17	18	
Am	B	51	52	4,260*	56	59	0,145
	C	13	4		2	3	
Alb	F	31	33	1,321	14	17	0,168
	S	33	23		44	45	
Tf	A	9	9	0,163	24	21	6,109*
	D	50	42		19	12	
	E	5	5		15	29	
CA	S	59	49	0,733	42	44	0,585
	Z	5	7		13	16	
	F	0	0		3	2	

* $P < 0,05$

a No calculo do qui-quadrado (χ^2) foram eliminadas classes com frequências muito baixas.

dos serem preliminares, devido ao pequeno número de animais analisados, é possível que o cruzamento realizado para obtenção da raça canchim tenha, de alguma maneira, por efeitos de pleiotropia ou ligação entre loci, determinado esta maior resistência em animais com amilase C. Isso explicaria, em parte, a ausência de relação entre resistência ao carrapato e amilase no gado nelore, que por sua vez mostrou relação entre baixa resistência e transferrina E. Foi sugerido que os alelos, encontrados com maior frequência em determinadas raças, confeririam a estas caracteres adaptativos (BRAEND, 1971, 1972; MCDERMID et alii, 1975; KIDDY, 1979). Assim, parece contraditório o fato de o alelo C da amilase estar relacionado no gado canchim com alta resistência ao carrapato, já que este alelo tem uma frequência maior em gado europeu que é, notoriamente, mais sensível à infestação que o zebu. Da mesma maneira, o alelo E da transferrina está associado aqui com baixa resistência ao carrapato e tem maior frequência em gado zebu que é tradicionalmente mais resistente ao carrapato que o gado europeu. Apesar destas contradições, é importante

ressalvar que a relação encontrada é um resultado preliminar e deverá ser melhor explorada em futuras pesquisas. De todas maneiras, a resistência ao carrapato é, sem dúvida, resultado de uma série de fatores genéticos e ambientais que, em diferentes graus, contribuem para a infestação.

O estudo pormenorizado de todos os fatores e a confirmação da relação do polimorfismo e a infestação pelo carrapato seriam de grande valia para a seleção de animais com resistência ao carrapato. Para tal, seria necessário a continuidade de experimentos nesta linha de pesquisa, e esta será a proposta para futuros trabalhos nessa área de estudo.

CONCLUSÕES

As análises realizadas entre os diferentes fenótipos para os diferentes sistemas proteicos e a infestação natural e artificial ao carrapato de animais nelores e canchins permitem sugerir:

1 — Associação ($P < 0,05$) entre baixa resistência ao carrapato do gado nelore e transferrina E;

2 — Associação ($P < 0,05$) entre alta resistência ao carrapato do gado canchim e amilase C.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao técnico agrícola, Sr. Francisco José de Ruzza, pela inestimável ajuda na coleta do sangue.

LITERATURA CITADA

1. ALLISON, A.C. Aspects of polymorphism in man. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 20: 239-255, 1955.
2. ASHTON, G.C.; SEIFERT, G. W. & FRANCIS, J. An association between serum amylase phenotype and tick infestation in cattle. *Aust. J. Biol. Sci.*, 21: 303-308, 1968.
3. BAKER, C.M. & MANWELL, C. Chemical classification of cattle. 1 Breed Groups. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 11: 127-150, 1980.
4. BAKER, C.M. & MANWELL, C. Electrophoretic variation of erythrocyte enzymes of domesticated mammals. In: *Red Blood Cells of Domestic Mammals*. Ed. by W.S. Agar & P.G. Board. Elsevier Sc. Publishers, 1983.
5. BRAEND, M. Hemoglobin variants in cattle. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 2: 15-12, 1971.
6. BRAEND, M. Studies on the relationships between cattle breeds in Africa, Asia and Europe: Evidence obtained by studies of blood groups and protein polymorphisms. *World Review of Animal Production*, 8: 9-14, 1972.
7. BRUM, E.W.; HINES, H.C.; LUDWICK, T.M. & RADER, E.R. Relationship between blood or milk polymorphisms and size measures of Holstein heifers. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 1: 247-252, 1970.
8. BURNS, J.M. Isozymes in evolutionary systematics. In: *Isozymes: Genetics and Evolution*. Academic Press N.Y. Vol IV:49-62, 1975.
9. CARR, W.R.; MACLEOD, J.; WOOLF, B. & SPOONER, R.L. A survey of the relationships of genetic markers, tick infestation level and parasitic diseases in Zebu cattle in Zambia. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 6: 203-214, 1974.
10. CROCKETT, J.R.; KOGER, M. & CHAPMAN, H.L. Genetic variations in hemoglobins of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 22 173-176, 1963.
11. EDWARDS, Y.H.; HOPKINSON, D.A. & HARRIS, A. Inherited variants of human nucleoside phosphorylase. *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 34: 395-397, 1971.
12. FRANCIS, J. & ASHTON, G.C. Tick resistance in cattle: Its stability and correlations with various genetic characteristics. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 45: 131-140, 1967.
13. GEBICKE-HAERTER, P.J. & GELDERMAN, H. Inheritance of amylases in blood serum of cattle. *Biochem. Genet.* 15(112): 59-73, 1977.
14. GEE, R.W.; BAINBRIDGE, M.H. & HASLAN, J.Y. Efeito do carapato do boi na produção de carne, na Australia. *Sci Zoot.*, 11 (124): 7-12, 1972.
15. GELDERMANN, H. An improved method for horizontal starch-gel electrophoresis. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 1: 229-234, 1970.
16. GELDERMANN, H.; PIEPER, V. & ROTH, B. Effects of marked chromosome sections on milk performance in cattle. *Theor. Appl. Genet.*, 70: 138-146, 1985.
17. GONZALEZ, P.; TUNON, M.J. & VALLEJO, M. Genetic relationships between seven Spanish native breeds of cattle. *Anim. Genet.*, 18: 249-256, 1987.
18. KIDDY, C.A. A review of research on genetic variation in physiological characteristics related to performance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 62(5): 818-824, 1979.
19. KIDDY, C.A.; MILLER, R.H.; STORMONT, C. & DICKINSON, F.N. Transferrin type and transmitting ability for production in dairy bulls. *J. Dairy Sci.*, 58: 1501, 1975.
20. KRISTJANSSON, F.K. (1963) Genetic control of two pre-albumins in pigs. *Genetics*, 48: 1059-1063.
21. LEWONTIN, R.C. *The genetic basis of evolutionary change*. New York, Columbia University Press, 1974.
22. LOZOVAYA, G.S. & GOLOVCHENKO, O. Blood groups and milk production of imported po-

- lish black-and-white lowland cattle. *Molecul. Mekhanizmy Genet. Profsessov.6 Vses. Simp.,Moskva*, 7.58.510.:P125, 1987.
23. MCDERMID, E.M.; AGAR, N.S. & CHAI, C.K. Electrophoretic variation of red cell enzyme systems in farm animals (review). *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 6: 127-174, 1975.
 24. MEGGIOLARO, D. Relazione tra le varianti genetiche della transferrina e la produzione del latte nelle bovine di razza Frisona Italiana. *Rev. Zoot. Vet.*, 9: 185-189, 1981.
 25. NEIMAMM-SORENSEN, A. & ROBERTSON, A. The association between blood groups and several production characteristics in three Danish cattle breeds. *Acta Agric. Scand.*, 11: 163-196, 1961.
 26. OLIVEIRA, G.P. DE. Fatores que afetam economicamente a produção de couros de bovinos. *Arq. Biol. Trenol.*, 26(3): 353-358, 1983.
 27. OLIVEIRA, G.P. DE. & ALENCAR, M.M. DE. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus* I. Infestação artificial. *Pesq. Agrop. Bras. Brasília*, 22(4):433-438, 1987.
 28. OLIVEIRA, G.P. DE; ALENCAR, M.M. DE & FREITAS, A.R. DE. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus* II Infestação natural. *Anais XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 24-29 julho, 1988, Viçosa, MG.
 29. OSTERHOFF, D.R. & NEETHLING, A. Recent studies on cattle transferrins. *J.S. Afr. vet. med. Ass.* 40(1): 75-80, 1969.
 30. PANEPUCCI, L. Carbonic anhydrase polymorphism in Nelore, Canchim and in a dairy crossbred cattle from Brazil. *Rev. Brasil. Genet.*, 11(4): 873-880, 1988.
 31. PANEPUCCI, L. A study of biochemical polymorphisms in European-Zebu dairy crossbred cattle and its relationships with European and Zebu cattle. *Brazil. J. Genetics*, 12(1): 27-37, 1989.
 32. RIBAS, M. Asociaciones entre grupos sanguíneos y rasgos productivos en el Charolais Cubano. I. Rasgos de crecimiento en estación de prueba de comportamiento. *Rvta. Cu. Cienc. Vet.*, 16(2): 175-182, 1985.
 33. STEWART, N.P.; DAGLIESH, R.J. & TRATT, T. Life cycles of the cattle tick and tick fever parasites. *Queensland Agric. J.*, 107(6): 305-308, 1981.