

## **ASSOCIAÇÃO DOS ALELOS BoLA-DRB3 E BoLA-DQA1 COM A TOLERÂNCIA À ANAPLASMOSE E BABESIOSE EM BOVINOS DAS RAÇAS CRIOULA LAGEANA E FLAMENGA EM AMBIENTE DE CLIMA TEMPERADO <sup>1</sup>**

Ellen Lara Miguel<sup>2</sup>, Joandes Henrique Fontequê<sup>3</sup>, Mariana da Silva Casa<sup>4</sup>, Graziela Vieira Fontequê<sup>4</sup>, Carla Ivane Ganz Voguel<sup>5</sup>, Luiz Cláudio Miletti<sup>5</sup>, Guillermo Giovambattista<sup>6</sup>, Maria do Socorro Maués Albuquerque<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Vinculado ao projeto “Associação dos alelos BoLA-DRB3 e BoLA-DQA1 com a tolerância à anaplasmosse e babesiose em bovinos das raças Crioula Lageana e Flamengo em ambiente de clima temperado”

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PROBIC/UDESC

<sup>3</sup> Orientador, Departamento de Medicina Veterinária – CAV – joandes.fontequê@udesc.br

<sup>4</sup> Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - PPGCA – CAV

<sup>5</sup> Colaborador, Departamento de Produção Animal e Alimentos – CAV

<sup>6</sup> Colaborador, Universidade Nacional de La Plata na Argentina (CONICET)

<sup>7</sup> Colaborador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - EMBRAPA

A raça Crioula Lageana é criada extensivamente na região do Planalto Catarinense e originou-se a partir dos primeiros bovinos que chegaram ao Brasil, trazidos por colonizadores espanhóis e portugueses. Estes animais passaram a sofrer seleção natural, tornando-se adaptados ao ambiente e mostrando rusticidade, características que hoje são desejáveis e agregam valor à raça. Acredita-se que o desafio das condições climáticas durante os rigorosos invernos da região Sul, a ausência de alimento, os predadores e o próprio abandono nas grandes extensões rurais, contribuíram para a formação de uma raça adaptada às condições ambientais das regiões de altitude e clima subtropical.

A variabilidade genética é essencial para o sucesso de programas de melhoramento animal. O seu conhecimento, assim como, de genes relacionados à imunidade e resistência a enfermidades, permite uma visão mais ampla e moderna dos mecanismos que podem levar indivíduos ou grupos raciais a desenvolverem atributos interessantes. As raças localmente adaptadas reúnem características próprias que lhes conferem vantagens em seus ambientes de criação, como a resistência natural às doenças importantes. O gene DRB3.2, do Complexo de Histocompatibilidade Principal (MHC) dos bovinos, tem alta associação com várias enfermidades que acometem a espécie. Ainda assim, a raça, estado reprodutivo, manejo e ambiente também são fatores a serem considerados na tolerância a doenças, e devem estar associados às informações genéticas.

A anaplasmosse, é distribuída mundialmente, causadora de enormes prejuízos econômicos decorrentes da alta morbidade e mortalidade e dos custos com controle da doença. Da mesma forma, a babesiose, quando manifestada clinicamente, gera alta morbidade e mortalidade, além de perda da eficiência produtiva, gerando grandes prejuízos econômicos. Sendo assim, o objetivo do estudo foi determinar a variabilidade do locus BoLA-DRB3 em bovinos da raça Crioula Lageana por meio de sequenciamento, além de associar os alelos do gene BoLA-DRB3 à presença ou ausência da infecção natural por *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*.

Foram utilizadas 208 amostras de DNA de bovinos da raça Crioula Lageana, incluindo-se animais jovens e adultos, machos e fêmeas, de todas as categorias disponíveis. Todos os animais

foram submetidos ao exame físico, para a verificação de sinais clínicos compatíveis com as doenças clínicas, onde se aferiu a frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), movimentos ruminais (MR), temperatura retal e coloração das mucosas.

Para a análise molecular, as técnicas de PCR e nested-PCR (n-PCR) foram usadas para a amplificação do DNA de *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. Para *A. marginale*, foi realizada apenas uma reação de PCR, com primers baseados no gene MSP5 do agente da anaplasmosse. A amplificação do gene BoLA-DRB3 se deu através de PCR em etapa única, com os primers HLO30 e HLO32. A frequência alélica e o número de alelos para ambos os genes foram obtidos por meio de contagem direta. A associação entre cada alelo encontrado com a infecção por cada patógeno foi dada por meio de Qui-quadrado ( $p < 0,05$ ), seguido pela análise da Odds Ratio. Alelos com  $OR < 1$  são considerados de resistência e alelos com  $OR > 1$  são considerados alelos de susceptibilidade.

A partir do exame físico, observou-se que nenhum animal da raça Crioula Lageana apresentava sinais clínicos compatíveis com anaplasmosse ou babesiose, no entanto o diagnóstico molecular realizado, revelou que 79% dos animais estudados eram positivos para *A. marginale*, 69% positivos para *B. bovis* e 61% positivos para *B. bigemina*. Na análise de associação baseada no teste de Qui-quadrado e a análise da Odds Ratio, verificou-se que entre os alelos do gene BoLA-DRB3 encontrados na população, os alelos BoLA-DRB3\*001:01 ( $p < 0,001$ ;  $OR = 0,224$ ), com frequência de 7,93% na população e BoLA-DRB3\*024:06 ( $p = 0,007$ ;  $OR < 0,00001$ ), com frequência de 0,72% estão significativamente associados à resistência à infecção por *A. marginale* na raça Crioula Lageana. Em se tratando da infecção por *B. bovis* o alelo BoLA-DRB3\*011:01 ( $p = 0,002$ ;  $OR = 0,271$ ), com frequência de 6% na população, está associado à resistência à infecção. Quanto à *B. bigemina*, nenhum dos alelos obteve associação com a resistência à infecção pelo agente.

Neste estudo, foi possível estabelecer associação entre os alelos BoLA-DRB3\*001:01 e BoLA-DRB3\*024:06 e a infecção por *A. marginale* na raça Crioula Lageana. Da mesma forma, o alelo BoLA-DRB3\*011:01 associado à resistência à infecção por *B. bovis*. O alelo BoLA-DRB3\*001:01 já foi associado à resistência à mastite no gado Holandês, enquanto o alelo BoLA-DRB3\*011:01 já foi associado à resistência à infecção por *B. bigemina* e à resistência à Leucose Bovina na raça Hartón del Valle.

Variações na prevalência da enfermidade podem estar associadas à época de colheita das amostras, sendo que no período em que foram realizadas as colheitas de sangue, entre o verão e o outono, há maior eclosão de larvas de carrapatos e conseqüentemente mais bovinos parasitados, favorecendo a infecção por *A. marginale*. Estes dados demonstraram que há muitos fatores envolvidos com a resistência ou susceptibilidade à anaplasmosse ou babesiose. A linhagem, o contato com vetores e a adaptação dos animais ao ambiente também precisam estar em consonância com a genética dos animais. O estudo da raça Flamenga, assim como o sequenciamento do locus BoLA-DQA1 não foram realizados. Devido ao número pequeno de amostras da raça Flamenga, o sequenciamento não traria resultados satisfatórios, além de impossibilitar a realização da análise estatística.

Concluimos que a raça Crioula Lageana, mantém alta diversidade genética e possui alelos associados à resistência à infecção por *A. marginale* e *B. bovis*, reforçando a necessidade de se manter a variabilidade e heterozigidade do rebanho.

**Palavras-chave:** Genotipagem. Resistência. Raça Crioula.