

Bagé, RS
Dezembro, 2011

Autores

Fernando Flores Cardoso^{1,2},
Cláudia Cristina Gulias Gomes¹,
Maurício Morgado de Oliveira^{1,3},
Vanerlei Mozaquatro Roso⁴,
Mario Luiz Piccoli⁴,
Fernanda Varnieri Brito⁴,
Roberto Hiroshi Higa⁵,
Samuel Resende Paiva^{2,6},
Marcos Vinicius G. B. da Silva^{2,7},
Luciana C. de Almeida Regitano^{2,8},
Alexandre Rodrigues Caetano^{2,6},
Ignacio Aguilar⁹.

¹ Embrapa Pecuária Sul

² Bolsista do CNPq

³ Bolsista da CAPES/PNPD

⁴ Gensys Consultores Associados

⁵ Embrapa Informática Agropecuária

⁶ Embrapa Recursos Genéticos
e Biotecnologia

⁷ Embrapa Gado de Leite

⁸ Embrapa Pecuária Sudeste

⁹ Instituto Nacional de Investigación
Agropecuária - INIA (R.O.U)

Predição da resistência genética ao carrapato de bovinos Braford e Hereford a partir de um painel denso de marcadores moleculares

O problema do carrapato bovino

O carrapato bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) é uma das principais causas de perdas produtivas na bovinocultura brasileira. A espécie encontra-se distribuída entre os paralelos 32°N, passando pelo sul dos Estados Unidos, região mediana do México e norte da África, e 32°S, cortando o sul do Brasil, o centro do Uruguai e da Argentina e o sul da Austrália (GONZALES, 2003). O parasitismo provoca diminuição de desempenho dos animais e desvalorização dos couros pelo hematofagismo, e gastos elevados com tratamentos acaricidas (FAO, 2004; GRISI et al., 2002). Além disso, o prejuízo é agravado pela transmissão de outros agentes etiológicos, como *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores da tristeza parasitária bovina (TPB) (REGITANO et al., 2006; RIBEIRO, 1989). Estimativas sugerem que as perdas anuais, apenas no Brasil, sejam da ordem de dois bilhões de dólares (GRISI et al., 2002).

Fotos: Cláudia Cristina Gulias Gomes



O carrapato é também o principal limitante para introdução de bovinos de origem britânica na vasta região tropical do país, através de sistemas de cruzamentos com as populações zebuínas existentes, uma vez que animais *Bos taurus* têm maior suscetibilidade a infestações por carrapatos quando comparados a animais *Bos indicus* (FRISCH, 1999). O aumento da proporção de genética britânica no rebanho bovino nacional permitiria aprimorar o potencial genético do rebanho, principalmente em relação a características de precocidade sexual e de terminação, e de qualidade da carne.

Por outro lado, as condições climáticas encontradas no sul do país, causam uma queda populacional de carrapatos nos meses de baixa temperatura, e permitem a ocorrência de em média apenas três gerações do *R. microplus* nos meses quentes do ano, com níveis crescentes de parasitismo de setembro a maio (ALVES-BRANCO et al., 2000). Essa variação dos níveis de infestação no decorrer do ano gera uma instabilidade enzoótica, impedindo a imunização natural e constante dos animais contra os agentes da TPB, causando surtos dessa doença quando há novos aumentos da população de carrapatos. Um levantamento realizado em 2005 pelo Sistema SEBRAE/SENAR/FARSUL constatou que aproximadamente 40% dos

produtores do Rio Grande do Sul registraram casos de TPB, com perda média de 5,7 animais/ano (ANDRADE et al., 2007).

Os carrapaticidas desempenham uma função indispensável no controle desse parasito, mas podem ocasionar a presença de resíduos na carne, comprometendo a segurança do alimento. Além disso, o uso repetido desses tratamentos tem historicamente levado ao aparecimento de cepas do parasito resistentes aos princípios ativos utilizados nos carrapaticidas (JONSSON; HOPE, 2007), gerando grandes despesas com tratamentos ineficazes e a necessidade de altos investimentos para descoberta de novas drogas. Por outro lado, embora os bovinos sejam capazes de desenvolver uma resposta imunológica após exposições sucessivas aos carrapatos (DOSSA et al., 1996), o desenvolvimento de vacinas de alta eficiência ainda não foi bem sucedido por causa da grande habilidade dos parasitos em modular o sistema imune do hospedeiro (BROSSARD; WIKEL, 2004).

Frente aos grandes prejuízos causados, ao recorrente desenvolvimento de resistência do carrapato aos princípios ativos dos acaricidas e à ausência de alternativas eficazes de controle, o aumento da resistência genética do hospedeiro tem sido apontado como a única solução definitiva para o problema (FRISCH, 1999). A existência de variabilidade genética aditiva em bovinos para resistência ao carrapato foi relatada por vários autores (GOMES, 1992; OLIVEIRA et al., 1989; SILVA et al., 2010; VERÍSSIMO et al., 1997) e possibilita o uso da seleção como uma alternativa para enfrentar o carrapato.

A implantação de práticas de melhoramento genético nos rebanhos depende da identificação do grau de resistência ao carrapato de cada indivíduo. A contagem de carrapatos ao sobreano vem sendo utilizada desde 2001 como critério de seleção dos rebanhos da Conexão Delta G, uma associação de criadores das raças Hereford, Braford e Nelore com fazendas em sete estados do país (Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo). Entretanto, observou-se uma estimativa de herdabilidade apenas moderada nos rebanhos desses criadores. Isto é, somente ao redor de 20% da superioridade fenotípica dos animais para a resistência aos carrapatos era de

origem genética aditiva, quando os valores genéticos foram preditos considerando o pedigree dos animais, seu desempenho próprio e o de seus parentes (CARDOSO et al., 2006). Os estudos realizados estabeleceram, portanto, que o processo de coleta de dados deve ser melhorado e que alternativas tecnológicas inovadoras são necessárias para aumentar a confiabilidade nas estimativas geradas pelo processo de avaliação genética e, conseqüentemente, os ganhos genéticos decorrentes da seleção para essa característica.

Outro fator limitante identificado para o uso de avaliações genéticas em larga escala é o custo elevado da coleta de dados, pois além de requerer técnicos capacitados para realizar as contagens, é necessário expor os animais ao desafio por carrapatos, podendo diminuir o desempenho destes em outras características de importância econômica (p. ex., ganho de peso, taxa de prenhez etc.), aumentar os casos de TPB, contaminar pastagens, além da necessidade de tratamento de animais doentes.

Foto: Claudia Cristina Gullias Gomes



A alternativa da seleção genômica

A Embrapa, a Conexão Delta G e o Gensys firmaram um convênio em 2009, com vistas ao desenvolvimento de um projeto de pesquisa, que visa viabilizar o avanço do conhecimento dos mecanismos genéticos de resistência aos carrapatos em bovinos e, também, o desenvolvimento de métodos e estratégias para combinar ferramentas de genética quantitativa e molecular para implementar ferramentas de seleção genômica para essa característica.

A estratégia adotada envolveu os seguintes passos:

- 1- Coleta de dados de contagem de carrapatos para caracterização do nível de resistência em 3.114 animais das raças Hereford e Braford dos rebanhos vinculados à Conexão Delta G no sul do Brasil;
- 2- Formação de um banco de dados combinando informações de contagens de carrapatos coletadas desde 2001 pelo Gensys nesses rebanhos (3.413 registros), os dados de pedigree (incluindo mais de 15.000 animais) e as contagens durante a execução do projeto;
- 3- Coleta de sangue em cartão FTA e extração de amostras DNA de 2.160 animais (1.898 Braford e 262 Hereford), que tinha pelo menos duas contagens de carrapato dentro dos 3.114 avaliados, para estudo do código genético (genotipagem) com 54,6 mil marcadores do tipo polimorfismo de base única (SNP, do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*), cobrindo todo o genoma bovino (Illumina® Bovine SNP50 BeadChip). Adicionalmente, para aumentar a precisão das análises, foram obtidos os genótipos de 777 mil SNP para 40 touros pais, dentre os que tinham maior número de filhos avaliados e genotipados;
- 4- Utilização conjunta das informações de contagens de carrapato, pedigree e dos marcadores moleculares utilizando a metodologia de uma etapa (AGUILAR et al., 2010) para prever a resistência genética de animais das raças Hereford e Braford ao carrapato, por meio do procedimento denominado de seleção genômica (MEUWISSEN et al., 2001).

Resultados experimentais

A utilização das informações de marcadores moleculares associados aos genes responsáveis pela resistência à infestação por carrapatos em bovinos Hereford e Braford permitiu aumentar a herança genética estimada desta característica passando dos 20%, tipicamente encontrados quando se usam somente informações de pedigree e os dados de contagens, para 29% no presente estudo. Portanto, os resultados obtidos mostram que foi possível explicar quase um terço das diferenças de infestação por carrapatos observadas entre os animais por meio de fatores genéticos aditivos, quando foram acrescentadas informações dos marcadores moleculares e utilizados conjuntamente os dados de contagens de carrapatos e o pedigree dos animais.

A validação desse resultado foi realizada pela comparação dos valores genéticos dos animais obtidos com base nas informações dos marcadores moleculares e do pedigree, antes da avaliação por meio da exposição aos carrapatos, com os valores genéticos calculados após os animais terem sido desafiados e suas contagens de carrapatos incluídas na avaliação genética. Essa estratégia compara os resultados obtidos pela seleção sem expor o animal ao carrapato, a qual já pode ser feita logo ao nascimento, com aquela realizada após o desafio com carrapatos ao redor de 18 meses de idade, que, por sua vez, tem como desvantagens o aumento do custo com tratamentos, a contaminação das pastagens e a ocorrência de casos de TPB.

A correlação entre os valores genéticos pelos dois procedimentos (já ao nascimento ou após o desafio e contagens de carrapatos aos 18 meses) foi de 0,72 para a raça Braford (Figura 1) e 0,60 para a raça Hereford. Esses valores de correlação, relativamente altos para Braford e Hereford, demonstram a viabilidade da utilização da seleção genômica nessas raças. Os valores mais baixos para a raça Hereford eram esperado pelo menor número de animais avaliados. Por outro lado, a correlação entre os valores genéticos estimados com base apenas no pedigree (sem informação de marcadores) antes e depois de obter os dados de contagens de animais jovens foi de apenas 0,27 (Figura 2). Utilizando estratégias semelhantes de seleção de animais logo ao nascimento, esses resultados permitiram estimar que os ganhos genéticos com a

Foto: Valtier José Potter



seleção genômica (que inclui as informações de marcadores) seriam duas vezes maiores do que os previstos com a seleção tradicional, baseada somente em dados de pedigree.

É importante destacar também na Figura 2, que muitos animais ficam com valor genético estimado pelo pedigree igual a zero, pois de fato não há

informação para caracterizar geneticamente os filhos de reprodutores múltiplos e de touros e vacas que não tenham outros filhos ou parentes com fenótipos (contagem de carrapatos). Por outro lado, observa-se na Figura 1 que os marcadores moleculares provêm informação para cálculo do valor genético de todos os animais, independentemente de seus pedigrees serem mais ou menos completos.

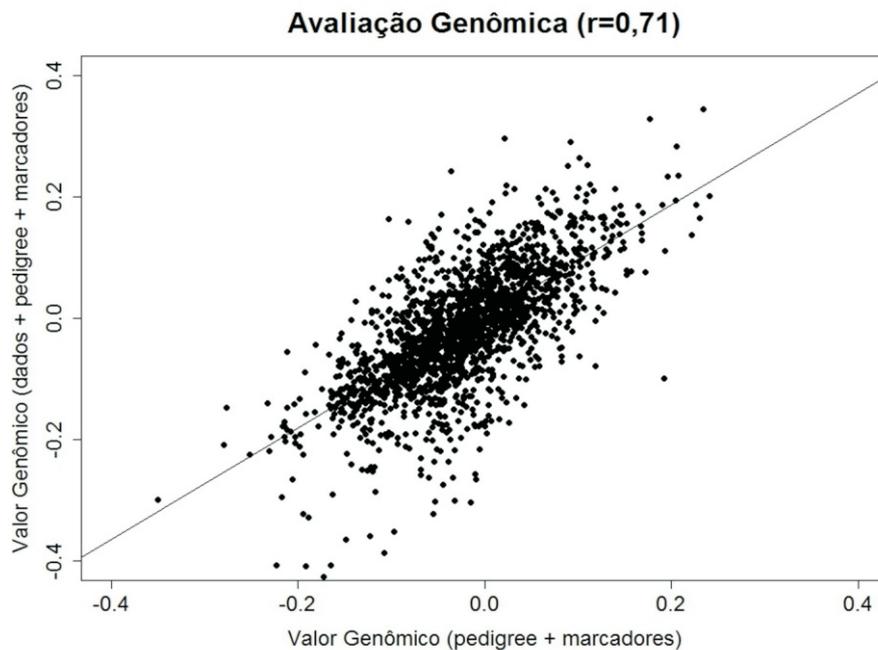


Fig. 1. Correlação (r) de valores genéticos de animais da raça Braford obtidos a partir de dados de contagens de carrapato, de pedigree e de marcadores moleculares aos 18 meses de idade e pela seleção genômica ao nascimento, usando somente dados de marcadores moleculares e pedigree.

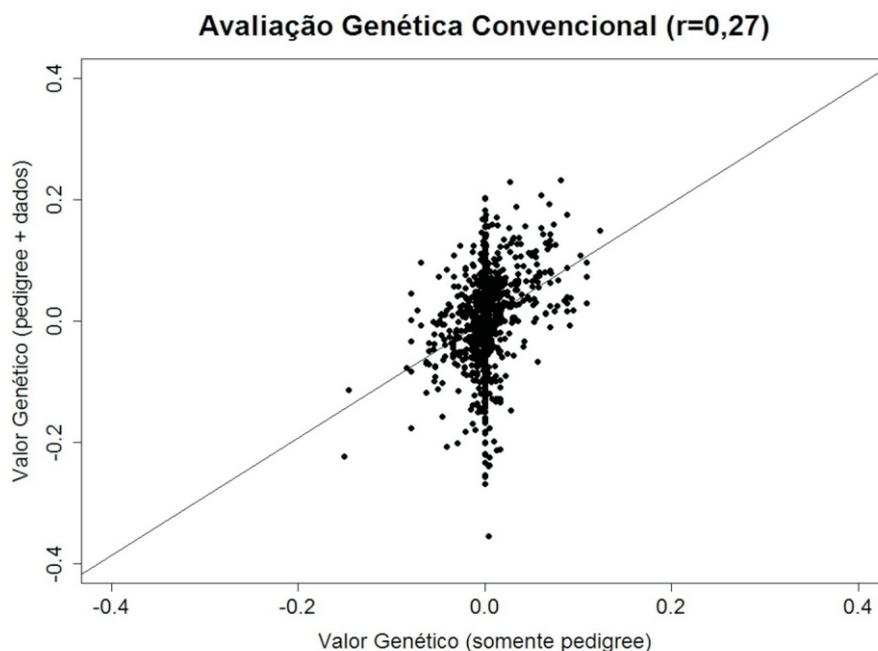


Fig. 2. Correlação (r) de valores genéticos de animais da raça Braford obtidos a partir de dados de contagens de carrapato e de pedigree aos 18 meses de idade e pela seleção ao nascimento pela média dos pais, usando somente dados de pedigree.

Procedimentos para aplicação prática

No estágio atual do projeto, o criador das raças Braford e Hereford que quiser selecionar um reprodutor com base na informação genômica para resistência ao carrapato deverá realizar os seguintes procedimentos:

- 1- Coletar a amostra de tecido para extração de DNA genômico, que pode ser: sangue em cartão FTA (apropriado para esse fim), uma dose de sêmen congelada em nitrogênio líquido ou 20 a 30 pelos da cauda, os quais devem ser arrancados preservando os bulbos das raízes desses pelos;
- 2- Enviar para um laboratório que faça o serviço de genotipagem nos chips da alta densidade (Illumina® BovineSNP50 BeadChip, Illumina Bovine HD BeadChip, Affymetrix® High-Density Bovine Chip), no Brasil ou no exterior;
- 3- Enviar os dados de genótipos e as informações de pedigree do(s) animal(is) de interesse ao Laboratório de Bioinformática e Estatística Genômica da Embrapa Pecuária Sul para cálculo dos valores genômicos;
- 4- Utilizar os valores genômicos para identificar e selecionar animais das raças Braford e Hereford mais resistentes ao carrapato.

Foto: Bernardo Potter



Considerações finais

Com o avanço do projeto nos próximos anos espera-se desenvolver também kits de diagnósticos comerciais baseados em marcadores moleculares para a resistência ao carrapato, bem como outras características relacionadas à produção, à reprodução e à qualidade de produto, que facilitem a aplicação prática da seleção genômica nas raças Hereford e Braford.

Essas ferramentas, uma vez incorporadas aos programas de seleção nacionais e internacionais, servirão para desenvolver linhagens de Hereford e Braford mais resistentes ao carrapato, as quais serão capazes de produzir carne de qualidade com menor uso de insumos em regiões de prevalência desse parasito.

Referências

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. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 2, p. 743-752, Feb. 2010.

ALVES-BRANCO, F. P. J.; PINHEIRO, A. C.; SAPPER, M. F. M. **Controle dos principais ectoparasitos e endoparasitos em bovinos de corte no Rio Grande do Sul**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2000. 54 p. (Embrapa Pecuária Sul. Documentos, 18).

ANDRADE, M. L.; MIELITZ NETTO, C. G. A.; NABINGER, C.; SANGUINÉ, E.; WAQUIL, P. D.; SCHNEIDER, S. Caracterização socioeconômica e produtiva da bovinocultura de corte no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Estudo e Debate, Lajeado, RS, v. 14, n. 2, p. 95-125, 2007.**

BROSSARD, M.; WIKEL, S. K. Tick immunobiology. **Parasitology**, New York, v. 129, p. S161-S176, 2004. Supplement.

CARDOSO, V.; FRIES, L. A.; ROSO, V. M.; BRITO, F. V. Estimates of heritability for resistance to *Boophilus microplus* tick evaluated by an alternative method in a commercial Polled Hereford x Nelore population in Brazil. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: Instituto Prociência, 2006. 1 CD-ROM.

DOSSA, S. C.; KAAYA, G. P.; ESSUMAN, S.; ODULAJA, A.; ASSOKU, R. G. K. Acquisition of resistance to the tick *Amblyomma variegatum* in Boran cattle, *Bos indicus* and the effects of *Trypanosoma congolense* and *Babesia bigemina* on host resistance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 62, n. 3-4, p. 317-330, Apr. 1996.

FAO. **Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants**. Rome, 2004. 216 p.

FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 57-71, Jan. 1999.

GOMES, A. **Resistência a infestação natural por larvas, ninfas e adultos de *Boophilus microplus* em vacas zebuínas da raça Gir, em função de sua idade, da gestação, da lactação e da seleção para produção leiteira, com e sem tratamento carrapaticida, ao longo de 12 estações consecutivas de um triênio**. 1992. 90 f. Tese (Doutorado em Ciência) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. 3.ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2003. 128 p.

GRISI, L.; MASSARD, L. C.; BORJA, G. E. M.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

JONSSON, N. N.; HOPE, M. Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 146, n. 3-4, p. 193–198, May 2007.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. **Genetics**, Baltimore, v. 157, n. 4, p. 1819–1829, Apr. 2001.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A. R. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. II. Infestação natural. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n. 10, p. 1267-1271, out. 1989.

REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; CARVALHO, M. E.; ANDRÉO, R.; MOREIRA, I. C.; NÉO, T. A.; BARIONI, W.; SILVA, A. M. **Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006. 48 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 9).

RIBEIRO, J. M. C. Role of saliva in tick/host interactions. **Experimental and Applied Acarology**, London, v. 7, n. 1, p. 15-20, Jun. 1989.

SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S. Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1477-1482, jul. 2010.

VERÍSSIMO, C. J.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, A. A. D.; RIBEIRO, W. R.; ROCHA, U. F. Resistência e suscetibilidade de bovinos leiteiros mestiços ao carrapato *Boophilus microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 54, n. 2, p. 1-10, 1997.

Circular Técnica, 41

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pecuária Sul
 Endereço: BR 153, km 603, Caixa Postal 242,
 96401-970 - Bagé, RS
 Fone: (53) 3240.4650
 Fax: (53) 3240.4651
 e-mail: sac@cppsul.embrapa.br

1ª edição on line



Comitê de Publicações

Presidente: Renata Wolf Suñé
Secretária-Executiva: Graciela Olivella Oliveira
Membros: Claudia Cristina Gulas Gomes, Daniel Portella Montardo, Estefanía Damboriarena, Graciela Olivella Oliveira, Jorge Luiz Sant'Anna dos Santos, Naylor Bastiani Perez, Renata Wolf Suñé, Roberto Cimirro Alves, Viviane de Bem e Canto.

Expediente

Supervisão editorial: Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul
Revisão de texto: Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul
Editoração eletrônica: Roberto Cimirro Alves