

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE GENÔMICA DA RESISTÊNCIA E RESILIÊNCIA DE
BOVINOS DA RAÇA ANGUS AO *Anaplasma marginale* E
AO *Rhipicephalus microplus***

Cherlynn Daniela da Silva Arce
Estatística

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE GENÔMICA DA RESISTÊNCIA E RESILIÊNCIA DE
BOVINOS DA RAÇA ANGUS AO *Anaplasma marginale* E
AO *Rhipicephalus microplus***

Discente: Cherlynn Daniela da Silva Arce

Orientador: Dr. Henrique Nunes de Oliveira

Coorientador: Dr. Francisco Ribeiro de Araújo Neto

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus
de Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Genética e Melhoramento Animal**

2022

A668a Arce, Cherlynn Daniela da Silva
Análise genômica da resistência e resiliência de bovinos da raça Angus ao *Anaplasma marginale* e ao *Rhipicephalus microplus* / Cherlynn Daniela da Silva Arce. -- Jaboticabal, 2022
112 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Henrique Nunes de Oliveira
Coorientador: Francisco Ribeiro de Araújo Neto

1. Anaplasmoses. 2. Ixodídeos. 3. Genoma. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ANÁLISE GENÔMICA DA RESISTÊNCIA E RESILÊNCIA DE BOVINOS DA RAÇA
Angus AO *Anaplasma marginale* E AO *Rhipicephalus microplus*

AUTORA: CHERLYNN DANIELA DA SILVA ARCE

ORIENTADOR: HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA

COORDENADOR: FRANCISCO RIBEIRO DE ARAUJO NETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em GENÉTICA E
MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV Unesp Jaboticabal



Dr. RODRIGO GIGLIOTI (Participação Virtual)
IZ - Instituto de Zootecnia / Nova Odessa/SP



Prof. Dr. HUMBERTO TONHATI (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. AMANDA MARCHI MAIORANO (Participação Virtual)
Uberlândia/MG / Universidade Federal de Uberlândia - ufu



Prof. Dr. DANISIO PRADO MUNARI (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia e Ciências Exatas DECEX / FCAV UNESP Jaboticabal



Jaboticabal, 21 de junho de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Cherlynn Daniela da Silva Arce, nasceu 03 de agosto de 1987 em Curitiba, Paraná. Em 2009 ingressou no curso graduação em Bacharelado em Estatística na Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba, Paraná. Durante a graduação foi integrante do grupo PET Estatística sob tutela do Prof. Dr. Lucambio Perez e, posteriormente, da Profa. Dra. Silvia Shimakura, tendo como linha de pesquisa a área de Análise de Sobrevivência. Em 2015, iniciou o Mestrado em Genética e Melhoramento Animal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) em Jaboticabal, São Paulo. Sob orientação do Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira e da Dra. Camila Urbano Braz defendeu a dissertação Comparação de métodos de construção de haplótipos em estudo de associação genômica ampla com dados simulados. Em 2018, ingressou no Doutorado em Genética e Melhoramento Animal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) em Jaboticabal, São Paulo, sob orientação do Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira e do Prof. Dr. Francisco Ribeiro de Araujo Neto.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001: Processos nº 88882.180647/2018-01 e nº 88887.529041/2020- 00.

À Unesp, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, aos funcionários e professores da UNESP-Jaboticabal pelo apoio na minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira, pela sua orientação, auxílio, compreensão e paciência.

Ao Prof. Dr. Francisco Ribeiro de Araujo Neto, pela sua orientação, auxílio, reuniões fora do horário comercial, compreensão e paciência.

A todos que compuseram as bancas pelo seu tempo e sugestões: Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, Prof. Dr. Humberto Tonhati, Prof. Dr. Danísio Prado Munari, Profa. Dra. Amanda Marchi Maiorano, Dr. Rodrigo Giglioti.

A todos membros da equipe do Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira na Embrapa Sudeste pelos dados, em especial à Dra. Marcia Cristina de Sena Oliveira pelas correções e auxílio.

A todos, citados e não citados, que contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

A todos não citados, mas de alguma forma contribuíram com o presente trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Classificações epidemiológicas e controle dos parasitas.....	4
2.2 Mecanismos de defesa dos bovinos.....	6
3 REFERÊNCIAS.....	11
CAPÍTULO 2 – RESISTÊNCIA DE BOVINOS TAURINOS À <i>Anaplasma marginale</i> E AO <i>Rhipicephalus microplus</i>.....	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.1 Dados fenotípicos.....	24
2.2 Dados genotípicos.....	26
2.3 Modelo estatístico.....	26
2.4 Análise do Estudo de Genômica Ampla (GWAS).....	28
3 RESULTADOS.....	29
3.1 Parâmetros genéticos e fenotípicos.....	29
3.2 Análise de Estudo de Genômica Ampla (GWAS).....	30
3.3 Análise Funcional.....	32
3.4 Genes candidatos para infecção por <i>A. marginale</i> e infestação por <i>R. microplus</i>	34
4 DISCUSSÃO.....	38
4.1 Análise Genômica Ampla (GWAS).....	40
4.2 Genes candidatos para infecção por <i>A. marginale</i>	41
4.3 Genes candidatos para infestação por <i>R. microplus</i>	43
5 CONCLUSÃO.....	46
6 REFERÊNCIAS.....	46

CAPÍTULO 3 – RESILIÊNCIA GENÉTICA AO <i>Rhipicephalus microplus</i> EM BOVINOS DA RAÇA ANGUS.....	86
RESUMO.....	86
ABSTRACT.....	87
1 INTRODUÇÃO.....	88
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	89
2.1 Banco de dados fenotípico e genotípico.....	89
2.2 Estimação de componentes de variância e parâmetros genéticos.....	89
2.3 Análises Genômicas para resiliência.....	91
2.4 Análise de Associação Genômica e Funcional.....	93
3 RESULTADOS.....	94
3.1 Estimativas de parâmetros genéticos.....	94
3.2 Seleção Genômica para resiliência ao carrapato.....	95
3.3 Prospecção de regiões genômicas de importância para resiliência.....	95
4 DISCUSSÃO.....	98
4.1 Estimativas de parâmetros genéticos.....	98
4.2 Seleção genômica para resiliência ao carrapato.....	99
4.3 Análise de rotas metabólicas de importância para resiliência.....	100
4.4 Considerações sobre a utilização da resiliência ao carrapato em programas de melhoramento.....	103
5 CONCLUSÃO.....	104
6 REFERÊNCIAS.....	105

ANÁLISE GENÔMICA DA RESISTÊNCIA E RESILIÊNCIA DE BOVINOS DA RAÇA ANGUS AO *Anaplasma marginale* E AO *Rhipicephalus microplus*

RESUMO – Dentre os principais ectoparasitas que acometem os bovinos no Brasil, o carrapato do boi é considerado o mais importante do ponto de vista econômico no Brasil devido ao fato de ser o único transmissor biológico das *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* e o principal transmissor da *Anaplasma marginale* que são os principais hemoparasitas causadores do complexo de doenças denominado de Tristeza Parasitária Bovina (TPB). O objetivo deste trabalho foi estudar os mecanismos de defesa de resistência de bovinos taurinos Angus ao *Anaplasma marginale* e ao *Rhipicephalus microplus* utilizando modelo animal de repetibilidade bi-característico e de resiliência ao *R. microplus* utilizando Modelos de Norma de Reação, conjuntamente com estudo de associação genômica ampla (GWAS). No Capítulo 2 foi estudado a resistência de bovinos taurinos Angus ao *A. marginale* e ao *R. microplus*. Foram estimadas herdabilidades baixas de 0,0854 e 0,1929, para *A. marginale* e *R. microplus*, respectivamente. As estimativas de repetibilidade variaram de baixa a moderada, 0,1602 e 0,2514, para *A. marginale* e *R. microplus*, respectivamente. A correlação genética entre a resistência a ambos os parasitas foi baixa e não significativa (0,1711). Realizou-se um estudo de GWAS e análise funcional dos genes candidatos, identificando os genes GJA1, PTPRZ1, LAX1, CRACR2A, IGF1 para infecção por *A. marginale*; e os genes candidatos CD74, SLIT2, CSF1R, DNML1, PPARGC1B e GAB2 para infestação por *R. microplus*. As seleções para resistência a estes parasitas são características que poderão ser implementadas em programas de melhoramento genético com respostas de longo prazo, devido as suas herdabilidades. No Capítulo 3 foi feito o estudo sobre resiliência genética ao *R. microplus* em bovinos da raça Angus. Foram estimadas herdabilidade para o ganho de peso pós-desmama sobre o gradiente de resiliência que variaram de 0,198 até 0,393, com valores menores observados nos ambientes intermediários. Na validação cruzada da análise de seleção genômica o ssBLUP obteve-se melhores resultados do que o BLUP. Realizou-se um estudo de GWAS e análise funcional identificando as rotas metabólicas significativas: “resposta celular ao Interferon alfa, resposta a vírus”, “processo catabólico do rRNA”, “ligação de colágeno envolvida na adesão de matriz celular”, “regulação da atividade de endopeptídeos do tipo cisteína envolvidos no processo apoptótico”. A seleção para resiliência ao carrapato é uma característica que poderá ser implementada em programas de melhoramento genético; entretanto por ser uma característica latente, devem ser realizados estudos sobre resistência e tolerância afim de otimizar a aplicação da resiliência. Os resultados obtidos neste trabalho enriquecem a discussão sobre mecanismos de defesas naturais de controle ao *R. microplus* ao *A. marginale*.

Palavras-chave: parasitismo, anaplasmose, carrapato do boi, taurinos, mecanismos de defesa, tristeza parasitária bovina, genômica, normas de reação

GENOME ANALYSIS OF RESISTANCE AND RESILIENCE OF ANGUS BEEF TO *Anaplasma marginale* AND *Rhipicephalus microplus*

ABSTRACT - Among the main ectoparasites that affect cattle in Brazil, the cattle tick is considered the most important from the economic point of view in Brazil since it is the only biological transmitter of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* and the main transmitter of *Anaplasma marginale*, which are the main hemoparasites that cause the complex of diseases called Cattle Tick Fever (CTF). The objective of this work was to study the defense mechanisms of resistance of taurine Angus cattle to *Anaplasma marginale* and *Rhipicephalus microplus* using a bi-characteristic repeatability animal model and of resilience to *R. microplus* using Reaction Norm Models, together with genome-wide association study (GWAS). In Chapter 2 the resistance of taurine Angus cattle to *A. marginale* and *R. microplus* was studied. Low heritabilities of 0.0854 and 0.1929 were estimated for *A. marginale* and *R. microplus*, respectively. Repeatability estimates ranged from low to moderate, 0.1602 and 0.2514, for *A. marginale* and *R. microplus*, respectively. The genetic correlation between resistance to both parasites was low and not significant (0.1711). A GWAS study and functional analysis of candidate genes were performed, identifying the genes GJA1, PTPRZ1, LAX1, CRACR2A, and IGF1 for *A. marginale* infection; and the candidate genes CD74, SLIT2, CSF1R, DNM1L, PPARGC1B and GAB2 for *R. microplus* infestation. Selections for resistance to these parasites are traits that could be implemented in breeding programs with long-term responses due to their heritabilities. In Chapter 3, a study on genetic resilience to *R. microplus* in Angus cattle was carried out. Heritabilities were estimated for post-weaning weight gain over the resilience gradient that ranged from 0.198 to 0.393, with lower values observed in the intermediate environments. In cross-validation of the genomic selection, analysis ssBLUP obtained better results than BLUP. A GWAS study and functional analysis were performed to identify the significant metabolic pathways: "cellular response to Interferon alpha, response to viruses", "catabolic process of rRNA", "collagen binding involved in cell-matrix adhesion", "regulation of cysteine-like endopeptidase activity involved in the apoptotic process". The selection for tick resilience is a trait that can be implemented in breeding programs; however, because it is a latent trait, studies on resistance and tolerance should be carried out to optimize the application of resilience. The results obtained in this study enrich the discussion on mechanisms of natural defenses to control *R. microplus* and *A. marginale*.

Key-words: parasitism, anaplasmosis, cattle tick, taurine, defense mechanisms, bovine parasitic disease, genomics, reaction norms

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais países em produção, consumo e exportação de carne bovina no mundo (USDA FAS, 2020). Características de maciez e marmoreio na carne são considerados índices de qualidade e palatabilidade que podem ocasionar melhor aceitação do produto pelo consumidor (Tizioto et al., 2013, Leal-Gutiérrez e Mateescu, 2019), principalmente no mercado internacional. Para atender estas exigências, o cruzamento de raças taurinas e zebuínas é uma estratégia que tem sido implementada no mercado nacional pelos criadores (Rodrigues et al., 2017).

Animais *Bos indicus* são mais resistentes a ectoparasitas do que taurinos (Riek, 1962; Bianchin et al., 2007). Animais resultantes do cruzamento de taurinos e zebuínos, com maior proporção taurina, possuem menor resistência a ectoparasitas (Singh e Ghosh, 2003; Silva et al., 2007).

Os principais ectoparasitas que acometem os bovinos no Brasil são: *Rhipicephalus microplus* (carrapato do boi), *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres), *Dermatobia hominis* (mosca-berneira) e *Cochliomyia hominivorax* (mosca da bicheira) (Grisi et al., 2014). Dentre os principais ectoparasitas citados, o carrapato do boi é considerado o mais importante do ponto de vista econômico no Brasil devido ao fato de ser o único transmissor biológico da babesiose bovina e o principal transmissor da *Rickettsia Anaplasma marginale* (Love, 1972, Lincoln et al., 1987, Stiller et al., 1989; Palmer et al., 2001). A *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* são os principais hemoparasitas causadores do complexo de doenças denominado de Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Vidotto e Marana, 2001, Trindade et al., 2011).

O controle dos carrapatos geralmente é feito por aplicações de carrapaticidas (Dantas-Torres et al., 2012). A utilização de raças de bovinos com mecanismos imunológicos mais eficientes contra os ectoparasitas é uma importante alternativa de controle. Além de propiciar redução das perdas econômicas, tal alternativa também está associada à melhora do bem-estar animal e diminuição da contaminação ambiental causada pelo uso de carrapaticidas.

A resistência natural dos hospedeiros aos parasitas é o mecanismo de controle mais conhecido e estudado. Animais resistentes mantêm a baixa carga parasitária, interferindo nas taxas de infestação/infecção ou na reprodução do patógeno (Veríssimo, 2013). Outro mecanismo utilizado pelos animais nesse sentido é a capacidade de prevenir e reparar os danos infligidos pelos patógenos aos hospedeiros, sendo esse mecanismo conhecido como tolerância (Doeschl-Wilson e Kyriazakis, 2012).

A resiliência (previamente definida como “resistência aos efeitos da infecção/infestação”) é a habilidade do animal de manter seu desempenho apesar da exposição a cargas patogênicas e do possível dano do patógeno ao sistema imunológico do hospedeiro (Bisset et al., 1996, Rashidi, 2016). Animais resilientes podem apresentar uma redução mínima em seus desempenhos durante um surto. A compreensão dos mecanismos de defesa dos bovinos aos carrapatos possibilita a adoção de estratégias que auxiliem no controle de doenças transmitidas por patógenos e para o melhoramento genético de populações de animais como uma forma alternativa de controle estratégico de parasitas e bem-estar animal.

O presente estudo tem como objetivo verificar a possibilidade de se selecionar animais com maior capacidade de controlar infestações por carrapato *R. microplus* e/ou infecções por *A. marginale* bem como identificar genes envolvidos no processo. Para isso serão estimados parâmetros genéticos e realizados estudos de associação genômica ampla (GWAS) para identificação e prospecção de genes relacionados às características de resistência e resiliência de bovinos da raça Angus ao *A. marginale* e ao *R. microplus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Infestações parasitárias dependem de condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento das fases de vida livre dos parasitas nas pastagens. No Brasil o carrapato *Rhipicephalus microplus* encontra condições favoráveis ao seu desenvolvimento, durante quase todos os meses do ano, com poucas exceções. O aumento da população de carrapatos e surtos das hemoparasitoses por eles transmitidas ocorrem, principalmente, em meses de clima mais quente (Santos et al.,

2009) e, provocam perdas econômicas consideráveis na produção de bovinos (Grisi et al., 2002, Shild et al., 2008, Grisi et al., 2014).

Os hospedeiros dos patógenos que os carrapatos transmitem são humanos, animais domesticados e selvagens (Baneth, 2014). A abrangência territorial, de transmissão de diferentes patógenos e hospedeiros, sua longevidade, alto potencial reprodutivo e a capacidade de ingerir grandes quantidades de sangue em um período relativamente longo, torna o carrapato um animal de grande interesse de estudo (Dantas-Torres et al., 2012, Šimo et al., 2017).

As glândulas salivares dos carrapatos são de fundamental importância para sua sobrevivência. A complexidade de funções que este órgão possui varia desde a obtenção e manutenção de hidratação (Sauer et al., 2000, Mathias, 2013); na fixação do carrapato no hospedeiro; na sua alimentação; na possível transmissão de patógenos além de servir como veículo no combate da resposta imunológica do hospedeiro; assim como na sua reprodução (Feldman-Musham et al., 1970, Mathias, 2013).

Para se alimentar, o carrapato rompe o tecido cutâneo do hospedeiro com suas quelíceras (Roy et al., 2018), injeta sua saliva no sistema circulatório do hospedeiro e ingurgita o fluído composto de sangue do animal e saliva, continuando este processo em padrões alternados (Šimo et al. 2017).

O organismo do hospedeiro reage à essa lesão cutânea com dor e irritação local, coagulação, inflamação, ativação complementar, reparação do tecido lesionado, resposta imune adaptativa, vasoconstrição e tampão hemostático (Franceschetti et al., 2009, Heinze et al., 2014, Šimo et al., 2017).

Para contrapor a reação do organismo do hospedeiro, o carrapato apresenta estratégias farmacológicas que bloqueiam a transmissão de dor e irritação local, inibe a hemóstase e manipula as respostas imunológica, angiogênica e de reparação do tecido lesionado no hospedeiro (Franceschetti et al., 2009, Mans, 2011; Kazimirova e Stibraniova, 2013, Stibrániová et al., 2013, Wikel, 2013, Valdes, 2014, Kotal et al., 2015, Chmelar et al., 2016, Šimo et al., 2017), criando um ambiente favorável para a propagação de patógenos dos quais são vetores (Wikel et al., 1999, Kazimirova e Stibraniova, 2013, Šimo et al., 2017).

Em hospedeiros infectados com doenças transmitidas por carrapatos, o patógeno desta enfermidade pode ser ingerido quando o artrópode se alimenta (Baneth, 2014, Šimo et al., 2017, Roy et al., 2018). Os patógenos ingeridos, ao chegar no intestino, cruzam o epitélio digestivo e se dirigem as glândulas salivares (Šimo et al., 2017) sendo liberados na saliva quando o carrapato se alimentar novamente.

Em algumas espécies de carrapatos, o patógeno pode permanecer no intestino do artrópode para se reproduzir e somente depois migrar para as glândulas salivares, como é o caso da interação do *R. microplus* e da *A. marginale* (Ribeiro e Lima, 1996) independente do estágio do carrapato (Palmer et al., 1988, Aguirre et al., 1994).

A transmissão da *Anaplasma marginale* pode ocorrer em duas fases do carrapato: a transestadial, em que a infecção no ácaro ocorre em um estágio diferente da transmissão da bactéria, e a intraestadial, que ocorre quando um macho adulto do ácaro se contamina em um bovino portador da *A. marginale* e, posteriormente, transmite a *Rickettsia* para um outro bovino não contaminado (Kocan et al., 1992a, Kocan et al., 1992b, Kessler, 2001).

Diferentemente no caso dos bovinos, estudos na literatura divergem em comprovar se existe indício da transmissão transovariana da *A. marginale* em carrapatos (Shimada et al., 2004, Baldrige et al., 2009) ou se não existe (Esteves et al., 2015).

Após a transferência da bactéria ao sangue bovino, a *Rickettsia* parasita as margens dos eritrócitos, o que origina seu nome *A. marginale*, podendo alcançar o total de quatro a oito *Rickettsias* em um único eritrócito e chegando a contaminar até 70% do total de hemácias do animal (Kocan et al., 2003), o que a torna a Anaplasmosse uma doença mais infecciosa do que as Babesioses, que se divide em dois merozóides, geralmente, em um único eritrócito (Mosqueda et al., 2012) O período de incubação da *A. marginale* dura, em média, 28 dias, podendo variar de 7 até 60 dias, dependendo da gravidade da infestação (Kocan et al., 2003).

2.1 Classificações epidemiológicas e controle dos parasitas

Os carrapatos são artrópodes cujo domínio geográfico abrange os territórios tropical e subtropical do globo (Jongejan e Uilenberg, 2004, Parola et al., 2005, Colwell

et al., 2011, Roy et al., 2018, Burrow et al., 2019). No Brasil, *R. microplus* é o principal vetor de *Anaplasma marginale* e único vetor biológico de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, que são os principais agentes da Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Vidotto e Marana, 2001, Trindade et al., 2011, Dantas-Torres et al., 2012, De Meneghi et al., 2016). Do ponto de vista epidemiológico, nas áreas onde os vetores estão presentes a TPB ocorre na forma de endemia estável ou instável. As regiões livres de vetores são denominadas de instabilidade endêmica enzoótica (Mahoney e Ross, 1972, De Meneghi et al., 2016, Sacco, 2002).

Nas regiões de estabilidade enzoótica os carrapatos encontram condições ambientais favoráveis para o seu desenvolvimento durante todos ou quase todos os meses do ano. Nessa situação que prevalece no Brasil, os hemoparasitas são inoculados nos bovinos de forma constante, o que confere imunidade ao rebanho. Nessa situação a ocorrência de surtos é rara e os casos clínicos podem aparecer em bezerros, que são mais resistentes e por isso mais fáceis de serem tratados e curados.

Quando as condições climáticas não permitem o desenvolvimento dos carrapatos por um longo período, os bovinos permanecem sem contato com os ácaros e também com os hemoparasitas. Isso provoca a queda dos níveis de imunidade dos rebanhos e quando as condições climáticas voltam a ser favoráveis, ocorrem surtos que afetam os animais de todas as idades e podem provocar altas mortalidades e grandes prejuízos. Essa situação é conhecida como de instabilidade endêmica (Mahoney e Ross, 1972, Sacco, 2002, De Meneghi et al., 2016).

Economicamente, Grisi et al (2014) estimaram que a perda potencial devido ao parasitismo em bovinos no Brasil, na ausência de medidas de controle, era de US\$13,96 bilhões em 2011, sendo que 23,18% desse valor foi devido ao carrapato do boi, e essa porcentagem foi particionada entre o gado leiteiro (28,50%) e o gado de corte, subdividindo-se entre *Bos taurus* (49,05%), *B. taurus* cruzado com *B. indicus* (11,63%) e *B. indicus* (10,80%).

Com o objetivo de reduzir as perdas econômicas advindas das infestações pelo carrapato e das infecções pelos agentes da TPB, o uso de acaricidas químicos tem sido frequentemente empregado. No entanto, essa estratégia apresenta falhas, principalmente devido ao aumento da resistência dos carrapatos aos princípios ativos disponíveis nos produtos que ocorrem devido ao uso indiscriminado dos produtos nos

animais (Dantas-Torres et al., 2012). Este fenômeno é um problema de grande magnitude para o combate a TPB, por dificultar o controle do vetor e consequentemente da anaplasmoses e babesioses. Assim, formas alternativas têm sido consideradas para combater o carrapato (Villareal et al., 2017, Luns et al., 2021, Nava et al., 2021), sendo que nos últimos anos tem ganhado destaque explorar o potencial genético dos animais principalmente para a resistência aos parasitas (Ibelli et al., 2012, Biegelmeyer et al., 2015, Feltes et al., 2021).

2.2 Mecanismos de defesa dos bovinos

Os seres vivos possuem mecanismos de defesa que são inerentes ao indivíduo. Para fins didáticos a resistência pode ser classificada como inata ou adquirida e interfere na reprodução ou capacidade de infestação/infecção do patógeno. Por exemplo, zebuínos são mais resistentes aos carrapatos e albergam esses parasitas em menores números (Veríssimo, 2013).

Riek (1962) usou infestações experimentais sucessivas para estudar a resposta imune a esse parasita em bovinos de diferentes grupos genéticos. Ele observou que animais *cruzados B. indicus X B. taurus* foram mais resistentes que as raças taurinas e essa resistência adquirida era resultante da hipersensibilidade a secreção salivar dos ácaros, que provocava a formação de pápula e exsudação serosa no lugar da pele onde o carrapato se fixava. Os animais mais resistentes apresentavam também maiores níveis de eosinófilos e histamina, indicando uma resposta alérgica. Já os animais mais suscetíveis apresentavam reações mais leves às infestações. A resistência inata foi observada apenas em alguns animais *B. indicus*.

Ao contrário da resistência a doenças, a característica de tolerância atua na prevenção e reparação do dano infligido pelo patógeno ao hospedeiro (Doeschl-Wilson e Kyriazakis, 2012). Este mecanismo de defesa possui efeito positivo ou neutro em relação ao patógeno, dessa forma o hospedeiro não interfere na evolução do patógeno (Råberg et al., 2007).

A resiliência é a habilidade do hospedeiro manter o desempenho apesar da carga patogênica e do dano do patógeno causado ao sistema imunológico do hospedeiro durante um surto (Bisset et al., 1996, Rashidi, 2016). Essa característica

é muitas vezes utilizada em estudos sem a distinção entre resistência e tolerância (Rashidi, 2016) provavelmente por ser função de ambos (Knap e Doeschl-Wilson, 2020), tornando assim difícil a distinção entre os mecanismos.

Alguns estudos demonstram que resistência e tolerância são negativamente correlacionadas geneticamente (Rågberg et al., 2007, Rashidi, 2016). Assim, animais que sejam selecionados somente para resistência podem ter suas defesas imunológicas, de reparo e manutenção, comprometidas em relação à tolerância, demonstrando, assim, a importância do estudo conjunto dessas características para o melhoramento genético animal.

Estudos com a tolerância a doenças tem mostrado dificuldade de estimar variação genética para essa característica (Doeschl-Wilson e Kyriazakis, 2012; Rashidi, 2016). Hayward et al. (2014) não encontraram nenhuma evidência de variação genética aditiva significativa em dados de ovinos infectados por nematoides. Entretanto, Rågberg et al. (2007) obtiveram variância genética aditiva significativa utilizando a menor quantidade de células vermelhas contra o pico do nível de parasitemia como medida de tolerância a um hemoparasita entre diferentes linhagens clones de ratos.

A dificuldade em encontrar variação genética para a característica de tolerância a doenças pode ser devido a diversos fatores, tais como a dificuldade de obtenção de dados de carga patogênica individual ao longo do tempo, a dificuldade de modelar as distribuições das medidas das cargas parasitárias, a dificuldade em obter a quantidade necessária de animais e de fenótipos, dados clínicos ou outros dados de acompanhamento constante da evolução da doença.

Um animal pode ser resiliente, resistente e tolerante ao mesmo tempo (Mulder e Rashidi, 2017). Knap e Doeschl-Wilson (2020) mostraram a relação matemática entre resiliência, resistência e tolerância, em que a resiliência foi definida como uma função da relação aditiva de resistência e tolerância.

Para ilustrar essa relação, supomos que três animais com mesmo desempenho de vigor, A, B e C, foram infestados/infectados por um patógeno ao mesmo tempo. Ao comparar os animais, o animal A tem menor carga patogênica e maior desempenho é categorizado como resistente, porém é igualmente resiliente ao animal B pois ambos possuem o mesmo desempenho. O animal B possui maior carga patogênica e mesmo

desempenho que o animal A e é caracterizado como igualmente resiliente a A, porém é igualmente resistente ao animal C pois ambos possuem a mesma carga patogênica. O animal C é o mais acometido pelo patógeno pois além de ter maior carga patogênica, teve seu desempenho decrescido, porém ele é igualmente tolerante ao animal A pois ambos possuem a mesma angulação. O animal B é mais tolerante que o animal A, pois a angulação de sua reta é menor que a do animal A (Figura 1).

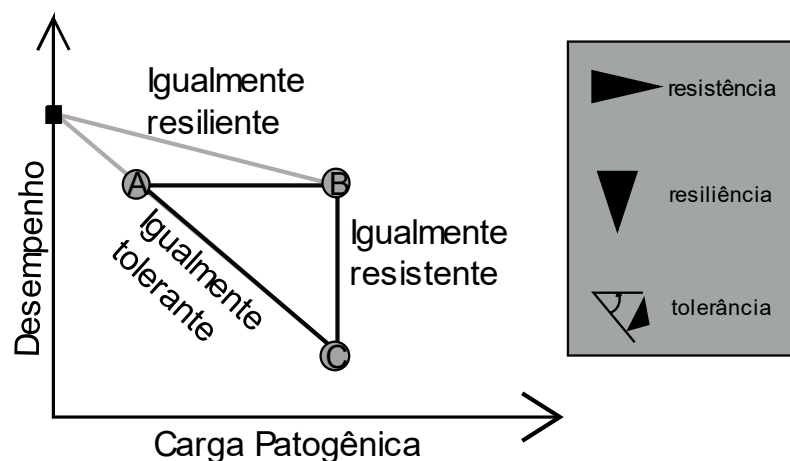


Figura 1. Ilustração da relação entre resistência, resiliência e tolerância, adaptado de Doeschl-Wilson e Lough (2014).

Ao ajustar modelos para estudar estes mecanismos de defesa é necessário incluir dados de variáveis específicas para cada mecanismo para evitar que ocorra efeito de confundimento entre as características. Na análise da resistência deve-se mensurar a carga patogênica ao nível de indivíduo e seu desempenho produtivo ao longo da infestação/infecção evidenciando a característica (Doeschl-Wilson et al., 2012). Para tolerância, além dos fatores citados para resistência devem-se incluir informações de vigor (dados fenotípicos na ausência de carga patogênica) ou de dados longitudinais, ou seja, a mensuração de diversas exposições aos parasitas ao longo do tempo, de preferência sendo mensuradas informações dos animais infestados/infectados ao mesmo instante de tempo (Doeschl-Wilson et al., 2012).

Em dados de campo, dificilmente todos os animais serão infectados/infestados ao mesmo instante de tempo, também é difícil estimar o período temporal em que o animal foi infestado/infectado. Tampouco serão coletados dados de todos os animais se estes não apresentarem sintomas clínicos tendo poucas ou uma repetição por

animal (Burgan, 2016) e talvez não seja possível mensurar dados de vigor, principalmente se o patógeno tiver transmissão transplacentária. A dificuldade em mensuração torna-se um desafio quando um parasita for vetor de outros parasitas, como no caso do presente estudo, sendo difícil mensurar qual a extensão do dano de cada um no hospedeiro e como eles interagem entre si.

No caso do carrapato, o clima não é o único ambiente favorável para a reprodução de *R. microplus*. O bovino que é tolerante ou resiliente também criará um ambiente favorável para o carrapato. Em rebanho que haja mais bovinos tolerantes maior poderá ser a população de refúgio do carrapato pois o animal tolerante é capaz de manter seu desempenho e não ter sintomas clínicos.

Embora a TPB seja muito estudada, a compreensão entre a interação destes parasitas é pouco conhecida. Na literatura existem diversos estudos sobre bovinos e *R. microplus*, incluindo estudos de expressão gênica (Tabor et al., 2017, Moré et al., 2019), estimação de (co)variância genética entre os níveis de infecção/infestação pelos parasitas (Giglioti et al., 2018), *B. bovis* e *B. bigemina*, *R. microplus* em bovinos (Giglioti et al., 2016, Cavani et al., 2020a, Cavani et al., 2020b, David, 2021), ou por *A. marginale*, *R. microplus* em bovinos (Romero, 2021). Dentre os últimos cinco últimos trabalhos citados anteriormente, os autores não exploraram outro mecanismo de defesa além da resistência e somente David (2021) fez análise funcional.

Estudos experimentais que analisam o nível de infestação do carrapato e infecção de anaplasmose com bovinos Nelore (resistentes) e Brangus (susceptíveis) foram realizados por Andreotti et al. (2018) e Martins et al. (2020). Andreotti et al. (2018) em experimento com dois grupos de animais, g1 e g2, em que g1 era constituído de bovinos Nelore e Brangus e g2 somente de Brangus. Os autores observaram que não houve diferença significativa para ganho de peso entre animais dos dois grupos e todos os animais foram infectados por *B. bigemina* e *A. marginale*, mas não houve infecção por *B. bovis*. Os autores ainda complementaram que os animais Nelore apresentaram menos carrapatos que os demais, os bovinos Brangus do g1 apresentaram contagem de carrapatos 27% menor do que os Brangus do g2, mostrando que os animais Nelore (resistentes) diminuem a infestação das pastagens.

Martins et al. (2020) fizeram experimento com Nelore e Brangus. Os autores reportaram que não houve diferença de ganho de peso entre as duas raças e que

todos os animais foram infectados com *A. marginale*. Os autores complementam que os bovinos Nelore possuíam menor número de carrapatos do que os bovinos Brangus.

Estes dois estudos indicam que bovinos Nelore são mais resistentes ao carrapato do que animais Brangus. Entretanto, bovinos Brangus foram igualmente resilientes quando comparados aos Nelore pois apresentaram desempenhos de ganho de peso próximos apesar de possuírem maior carga parasitária. Ambas as raças foram infectadas por hemoparasitas e não demonstraram sinais clínicos. Portanto, podem ser consideradas susceptíveis pois a definição de susceptibilidade é a probabilidade (relativa) de se tornar infectado dado a exposição ao patógeno, sendo o oposto da resistência, ou seja, indivíduos poucos susceptíveis são mais resistentes e vice-versa (Doeschl-Wilson e Kyriazakis, 2012, Hulst et al., 2021). Na literatura, estudos de resiliência à nematoides gastrointestinais foram reportados com (Eysker et al., 2000, Kelly et al., 2013, Zapa et al., 2021), porém não foram feitos estudos de GWAS e análise funcional.

A resiliência é uma variável latente, ou seja, é uma variável que não é diretamente observável ou não é diretamente mensurável, mas que pode ser mensurada a partir de outra variável observável (Bollen, 2002).

Estudos de Normas de Reação (NR) possibilitam analisar a interação Genótipo x Ambiente (GxE) em dados de animais ou plantas. Estes modelos são comumente utilizados para analisar o desempenho genético ao longo de um gradiente ambiental tanto em variáveis diretamente observáveis quanto em variáveis latentes (Mulder, 2016). Como são necessários poucos parâmetros para estimação das variáveis que possibilitam interpolação, modelos NR são mais recomendáveis para analisar a continuidade do ambiente do que modelos que não possuem interação GxE (De Jong e Bijma, 2002).

Modelos NR aumentam a acurácia do EBV ou GEBV ambiente-específico em comparação a modelos que ignoram a interação (GxE) (Silva et al., 2014, Rashidi et al., 2014, Mulder, 2016). Tais modelos foram utilizados na literatura para estimação de características de resistência ao carrapato do boi em bovinos (Mota et al., 2018), tolerância a Síndrome Respiratória Porcina em porcas (Rashidi et al., 2014) e resiliência ao balanço energético negativo em búfalas (Araujo Neto et al., 2022) sendo estas características avaliadas pela inclinação do efeito aleatório das NR (Berghof et

al., 2019, Knap e Doeschl-Wilson, 2020). Mulder (2016) em estudo com modelos NR com a resiliência utilizando simulação observaram que houve maior ganho de resposta a seleção genômica ao utilizar modelos que exploram a interação (GxE).

Selecionar para resiliência é menos desafiador do que selecionar para resistência pois são necessários saber informações, a priori, de grupos de contemporâneos e de dados de desempenho (Mulder e Rashidi, 2017). Para estimação da resistência, além destes dados também são necessários dados de carga patogênica. Entretanto, dependendo do patógeno a obtenção de dados de carga patogênica pode ser de difícil mensuração ou altamente custoso.

O custo mensurável da resiliência é baseado em custos econômicos como perda econômica de produção e gastos com tratamento médico veterinário além de custos laborais como a aplicação do tratamento médico e a detecção de doenças (Berghof et al., 2019). Dependendo do índice de seleção empregado pela propriedade, os custos econômicos podem estar embutidos em custos de características de produção. O ganho ao selecionar a característica de resiliência não abrange somente ao ganho genético, mas também aos custos laborais pois ao ter animais resilientes no rebanho o produtor terá menor labor em detectar animais acometidos com a doença (Berghof et al., 2019).

Ao utilizar modelos de Norma de Reação para mensurar a resiliência, pode-se interpretar que o valor econômico da resiliência é a quantidade do desempenho que é capturado por uma unidade de aumento da resiliência, ao longo da norma de reação do desempenho atual do hospedeiro a um dado nível de carga patogênica ambiental em relação ao vigor, que pode resultar em melhorias na resistência ou tolerância em qualquer combinação viável (Knap e Doeschl-Wilson, 2020).

3 REFERÊNCIAS

Aguirre DH, Gaido AB, Vinabal AE, De Echaide ST, Guglielmone AA (1994) Transmission of *Anaplasma marginale* with adult *Boophilus microplus* ticks fed as nymphs on calves with different levels of *rickettsaemia*. **Parasite** 1:405-407.

Arriero E, Pérez-Tris J, Ramírez A, Remacha C (2018) Trade-off between tolerance and resistance to infections: an experimental approach with malaria parasites in a passerine bird. **Oecologia** 188:1001-1010.

Baldrige GD, Scoles GA, Burkhardt NY, Schloeder B, Kurtti TJ, Munderloh UG (2009) Transovarial transmission of Francisella-like endosymbionts and Anaplasma phagocytophilum variants in Dermacentor albipictus (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology** 46:625-32.

Baneth G (2014) Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. **International Journal for Parasitology** 44:591-596.

Berghof TVL, Poppe M, Mulder HA (2019) Opportunities to Improve Resilience in Animal Breeding Programs. **Frontiers in Genetics** 9:692.

Bianchin I, Catto BJ, Kichel NA, Torres AAR, Honer MR (2007) The effect of the control of endo- and ectoparasites in weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, 39:287-96.

Biegelmeyer P, Nizoli LQ, da Silva SS, dos Santos TRB, Dionello NJL, Gulas-Gomes CC, Cardoso FF (2015) Bovine genetic resistance effects on biological traits of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 208:231-237.

Bisset SA, Morris CA, Squire DR, Hickey SM (1996) Genetics of resilience to nematode parasites in young Romney sheep - use of weight gain under challenge to assess individual anthelmintic treatment requirements. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 39:313-323.

Bollen, KA (2002). Latent variables in psychology and the social sciences. **Annual review of psychology** 53: 605-634.

Burgan SC (2016) From Tolerance to Transmission: Linking Within-Individual to Community-Level Disease Processes. 89f. Dissertação (**Mestrado em Ciência Biológica**) – University of South Florida – Estados Unidos.

Burrow HM, Mans BJ, Cardoso FF, Birkett MA, Kotze AC, Hayes BJ, Mapholi M, Dzama K, Marufu MC, Githaka NW, Djikeng A (2019) Towards a new phenotype for tick resistance in beef and dairy cattle: a review. **Animal Production Science** 58:1401-1427.

Cavani L, Braz CU, Giglioti R, Okino CH, Gúlias-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira MCS, Cardoso FF, de Oliveira HN (2020a) Genomic Study of *Babesia bovis* Infection Level and Its Association With Tick Count in Hereford and Braford Cattle. **Frontiers in Immunology** 11:1905.

Cavani L, Lopes FB, Giglioti R, Bresolin T, Campos GS, Okino CH, Gúlias-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira ACS, Cardoso FF, Rosa GJM, Oliveira HN (2020b) Inferring phenotypic causal networks for tick infestation, *Babesia bovis* infection, and weight gain in Hereford and Braford cattle using structural equation models. **Livestock Science** 238:1-8.

Chmelař J, Kotál J, Kopecký J, Pedra JHF, Kotsyfakis M (2016) All for one and one for all on the tick-host battlefield. **Trends in Parasitology** 32:368-377.

Colwell DD, Dantas-Torres F, Otranto D (2011) Vector-borne. Parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. **Veterinary Parasitology** 182:14-21.

David G (2021) **Estudo de associação genômica ampla dos níveis de infestação por carrapato e níveis de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bovinos da raça Angus**. 91f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Unesp, Jaboticabal.

Dantas-Torres F; Chomel BB; Otranto D (2012) Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology** 28:437-446.

de Araujo Neto FR, Dos Santos JCG, da Silva Arce CD, Borquis RRA, Dos Santos DJA, Guimarães KC, do Nascimento AV, de Oliveira HN, Tonhati H (2022) Genomic study of the resilience of buffalo cows to a negative energy balance. **Journal of Applied Genetics** 63:379-388.

De Meneghi D, Stachurski F, Adakal H (2016) Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. **Frontiers in Public Health** 4:239.

Doeschl-Wilson AB, Kyriazakis I (2012) Should we aim for genetic improvement in host resistance or tolerance to infectious pathogens?. **Frontiers in Genetics** 3:1-2.

Doeschl-Wilson AB, Villanueva B, Kyriazakis I (2012) The first step toward genetic selection for host tolerance to infectious pathogens: obtaining the tolerance phenotype through group estimates. **Frontiers in Genetics** 3:265.

Doeschl-Wilson AB, Lough G (2014) Inferring genetic resilience of animals to infectious pathogens – opportunities and pitfalls. In: **Breeding Focus 2014 – Improving Resilience**. Australia: CSIRO Agriculture, Armidale p. 19-30.

Esteves E, Pohl PC, Klafke GM, Reck J, Fogaça AC, Martins JR, Daffre S (2015) Low temperature affects cattle tick reproduction but does not lead to transovarial transmission of *Anaplasma marginale*. **Veterinary Parasitology** 214:322-6.

Eysker M, Boersema JH, Kooyman FNJ, Ploeger HW (2000) Resilience of second year grazing cattle to parasitic gastroenteritis following negligible to moderate exposure to gastrointestinal nematode infections in their first year. **Veterinary Parasitology** 89:37-50.

Feldman-Musham B, Borut S, Saliternik-Givant S (1970) Salivary secretion of the male tick during copulation. **Journal of Insect Physiology** 16:1945-9.

Feltes GL, Michelotti VT, Prestes AM, Rorato PRN, Mello FCB, Oliveira MM, Roso VM (2021) Genetic and environmental factors that affect tick infestation in Nelore x Angus crossbreed cattle. **Ciência Rural** 51 e20200677.

Fontes-Puebla AA, Bernal JS (2020) Resistance and tolerance to root herbivory in Maize were mediated by domestication, spread, and breeding. **Frontiers in Plant Science** 11:223.

Francischetti IM, Sa-Nunes A, Mans BJ, Santos IM, Ribeiro JM (2009) The role of saliva in tick feeding. **Frontiers in Bioscience** 14:2051-2088.

Giglioti R, Oliveira HN, Santana CH, Ibelli AMG, Néo TA, Bilhassi TB, Rabelo MD, Machado RZ, Brito LG, Oliveira MCS (2016) *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection levels estimated by qPCR in Angus cattle from an endemic area of São Paulo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases** 7:657-662.

Giglioti R, Oliveira HN, Bilhassi TB, Portilho AI, Okino CH, Marcondes CR, Oliveira MCS (2018) Estimates of repeatability and correlations of hemoparasites infection

levels for cattle reared in endemic areas for *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology** 250:78-84.

Grisi L, Leite RC, Martin JRS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, León AAP, Pereira JB, Villela HS (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology** 23:150-156.

Heinze DM, Carmical JR, Aronson JF, Alarcon-Chaidez F, Wikel S, Thangamani S (2014) Murine cutaneous responses to the rocky mountain spotted fever vector, *Dermacentor andersoni*, feeding. **Frontiers in Microbiology** 5:198.

Howick VM, Lazzaro BP (2014) Genotype and diet shape resistance and tolerance across distinct phases of bacterial infection. **BMC Ecology and Evolution** 14:56.

Hulst AD, de Jong MCM, Bijma P (2021) Why genetic selection to reduce the prevalence of infectious diseases is way more promising than currently believed. **Genetics** 217:iyab024.

Ibelli AMG, Ribeiro ARB, Giglioti R, Regitano LCA, Alencar MM, Chagas ACS, Paço AL, Oliveira HN, Duarte JMS, Oliveira MCS (2012) Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. **Veterinary Parasitology** 186:425-430.

Jongejan F, Uilenberg G (2004) The global importance of ticks. **Parasitology** 129:S3-14.

Kazimírová M, Štibrániová I (2013) Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogens transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 3:43.

Kelly GA, K LP, Walkden-Brown W (2013) Measurement of phenotypic resilience to gastro-intestinal nematodes in Merino sheep and association with resistance and production variables. **Veterinary Parasitology** 193:111-117.

Kessler RH (2001) Considerações sobre a transmissão da *Anaplamose marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 21:177-179.

Kocan KM, Goff WL, Stiller D, Claypool PL, Edwards W, Ewing SA, Hair JA, Barron SJ (1992a) Persistence of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) transferred successively from infected to susceptible calves. **Journal of Medical Entomology** 29:657-668.

Kocan KM, Stiller D, Goff WL, Claypool PL, Edwards W, Ewing SA, McGuire TC, Hair JA, Barron SJ (1992b) Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. **American Journal of Veterinary Research** 53:499-507.

Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Meléndez RD (2003) Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology** 16:698-712.

Kotál J, Langhansová H, Lieskovská J, Andersen JF, Francischetti IM, Chavakis T, Kopecký J, Pedra JH, Kotsyfakis M, Chmelař J (2015) Modulation of host immunity by tick saliva. **Journal of Proteomics** 128:58-68.

Knap PW, Doeschl-Wilson A (2020) Why breed disease-resilient livestock, and how?. **Genetics Selection Evolution** 52:60.

Leal-Gutiérrez JD, Mateescu RG (2019) Genetic basis of improving the palatability of beef cattle: current insights. **Food Biotechnology** 33:193-216.

Lincoln SD, Zaugg JL, Maas J (1987) Bovine anaplasmosis: susceptibility of seronegative cows from an infected herd to experimental infection with *Anaplasma marginale*. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 190:171-173.

Love JN (1972) Cryogenic preservation of *Anaplasma marginale* with dimethyl sulfoxide. **American Journal of Veterinary Research** 33:2557-2560.

Luns DAR, Martins R, Pombal S, Rodilla JML, Githaka NW, Vaz IDS Jr, Logullo C (2021) Effect of essential oils against acaricide-susceptible and acaricide-resistant *Rhipicephalus* ticks. **Experimental and Applied Acarology** 83:597-608.

Mahoney DF, Ross DR (1972) Epizootiological factor in the control of bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal** 48:292-298.

Mans BJ (2011) Evolution of vertebrate hemostatic and inflammatory control mechanisms in blood-feeding arthropods. **Journal of Innate Immunity** 3:41-51.

Mathias M (2013) **Guia Básico de Morfologia Interna de Carrapatos Ixodídeos (Basic Guide of Internal Morphology of Ixodidae Ticks)**, Editora Unesp, p. 40-42.

Mikaberidze A e McDonald BA (2020) A tradeoff between tolerance and resistance to a major fungal pathogen in elite wheat cultivars. **New Phytologist** 226:879-890.

Moré DD, Cardoso FF, Madadu MA, Malagó-JR W, Gúlias-Gomes CC, Sollero BP, Ibelli AMG, Coutinho LL, Regitano LCA (2019) Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin. **BMC Genomics** 20:998.

Mosqueda J, Olvera-Ramirez A, Aguilar-Tipacamu G, Canto GJ (2012) Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. **Current medicinal chemistry** 19:1504-18.

Mota RR, Silva FF, Lopes PS, Tempelman RJ, Sollero BP, Aguilar I, Cardoso FF (2018) Analyses of reaction norms reveal new chromosome regions associated with tick resistance in cattle. **Animal** 12:205-214.

Mulder HA (2016) Genomic Selection Improves Response to Selection in Resilience by Exploiting Genotype by Environment Interactions. **Frontiers in Genetics** 7:178.

Mulder HA, Rashidi H (2017) Selection on resilience improves disease resistance and tolerance to infections. **Journal of Animal Science** 95:3346-3358.

Nava S, Toffaletti JR, Rossner MV, Morel N, Mangold AJ (2021) Alternative applications of the strategic control against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in a subtropical area. **Parasitology Research** 120:3653-3661.

Palmer GH, Rurangirwa FR, Mcelwain TF (2001) Strain composition of the ehrlichia *Anaplasma marginale* within persistently infected cattle, a mammalian reservoir of tick transmission. **Journal of Clinical Microbiology** 39:631-635.

Parola P, Paddock CD, Raoult D (2005) Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical microbiology reviews** 18:719-56.

Råberg L, Sim D, Read AF (2007) Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. **Science** 318:812.

Rashidi H, Mulder HA, Mathur P, van Arendonk JA, Knol EF (2014) Variation among sows in response to porcine reproductive and respiratory syndrome. **Journal of Animal Science** 92:95-105.

Rashidi H (2016) Breeding against infectious diseases in animals. 2016. 182 f. **Tese (Doutorado em Ciência Animal)** - Wageningen University, Países Baixos.

Ribeiro MFB, Lima JD (1996) Morphology and development of *Anaplasma marginale* in midgut of engorged female ticks of *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology** 61:31-39.

Riek RF (1962) Studies on the reactions of animals to infestation with ticks. VI. Resistance of cattle infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research** 13:532-550.

Rodrigues RT, Chizzotti ML, Vital CE, Baracat-Pereira MC, Barros E, Busato KC, Gomes RA, Ladeira MM, Martins TD (2017) Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) cattle through a proteomic and phosphoproteomic approach. **PLoS One** 12:1-21.

Romero ARS (2021) **Genomic studies of *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* infection levels in cattle**. 75 f. Tese (Doutorado em Melhoramento Genético Animal) - Unesp, Jaboticabal.

Roy BC, Estrada-Peña A, Krücken J, Rehman A, Nijhof AM (2018) Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. **Ticks and Tick-borne Diseases** 9:1069-1079.

Sauer JR, Essenberg RC, Bowman AS (2000) Salivary glands in ixodid ticks: control and mechanism of secretion. **Journal of Insect Physiology** 46:1069-78.

Silva FF, Mulder HA, Knol EF, Lopes MS, Guimarães SE, Lopes PS, Mathur PK, Viana JM, Bastiaansen JW (2014) Sire evaluation for total number born in pigs using a genomic reaction norms approach. **Journal of Animal Science** 92:3825-34.

Silva AM, Alencar MM, Regitano LCA, Oliveira MCS, Barioni Júnior W (2007) Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. **Genetics and Molecular Biology** 30:1150-1155.

Šimo L, Kazimirova M, Richardson J, Bonnet SI (2017) The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:281.

Singh NK, Ghosh S (2003) Experimental immunization of crossbred cattle with glycoprotein isolated from the larvae of *Hyalomma anatolicum anatolicum* and *Boophilus microplus*. **Experimental and Applied Acarology** 31:297-314.

Shimada MK, Yamamura MH, Kawasaki PM, Tamekuni K, Igarashi M, Vidotto O, Vidotto MC (2004) Detection of *Anaplasma marginale* DNA in larvae of *Boophilus microplus* ticks by polymerase chain reaction. **Annals of the New York Academy of Sciences** 1026:95-102.

Stiller D, Kocan KM, Edwards W, Ewing SA, Barron JA (1989) Detection of colonies of *Anaplasma marginale* in salivary glands of three *Dermacentor* spp infected as nymphs or adults. **American Journal of Veterinary Research** 50:1381-1385.

Tabor AE, Ali A, Rehman G, Garcia GR, Zangirolamo AF, Malardo T, Jonsson NN (2017) Cattle tick *Rhipicephalus microplus* host interface: a review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:506.

Tizioto PC, Decker JE, Taylor JF, Schnabel RD, Mudadu MA, Silva FL, Mourão GB, Coutinho LL, Tholon P, Sonstegard TS, Rosa AN, Alencar MM, Tullio RR, Medeiros SR, Nassu RT, Feijó GL, Silva LO, Torres RA, Siqueira F, Higa RH, Regitano LC (2013) Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological Genomics** 45:1012-1020.

Trindade HI, Almeida KS, Freitas FLC (2011) Tristeza parasitária bovina – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.16.

USDA FAS 2020. **Beef and Veal Trade - Selected Countries Summary**. Washington: United States Department of Agriculture - Foreign Agricultural Service. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/meat/en/>>. Acesso em: 04 de maio de 2020, 15:00.

Valdes JJ (2014) Antihistamine response: a dynamically refined function at the host-tick interface. **Parasites & Vectors** 7:491.

Vidotto O, Marana ERM (2001) Diagnosis in bovine Anaplasmosis. **Ciência Rural** 31:361-368.

Villarreal JPV, Santos PR, Silva MAMP, Azambuja RH, Gonçalves CL, Escareño JJH, Santos TRB, Pereira CMP, Freitag RA, Nascente PS (2017) Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 26: 299-306.

Wikel SK (1999) Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. **International Journal for Parasitology** 29:851-859.

Wikel SK (2013) Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. **Frontiers in Microbiology** 4:337.

Woolhouse ME, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. **Nature Genetics** 32:569-577.

Zapa DMB et al. (2021) Association between fecal egg count and weight gain in young beef cattle. **Livestock Science** 244:104335.

CAPÍTULO 2 – Resistência de bovinos taurinos Angus ao *Anaplasma marginale* e ao *Rhipicephalus microplus*

RESUMO – A Tristeza Parasitária Bovina é um complexo de doenças causado por três agentes etiológicos, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale*, todos transmitidos pelo *Rhipicephalus microplus*. Objetivou-se estimar a variação genética da característica de resistência de bovinos taurinos à *A. marginale* e *R. microplus*. Foram utilizados dados genotípicos, fenotípicos e de pedigree de 796 animais Angus provenientes de quatro fazendas participantes do programa de melhoramento genético Conexão Delta G no Rio Grande do Sul. Os grupos de contemporâneos (GCs) foram definidos por fazenda, ano, estação, grupo de manejo ao desmame e coleta. As contagens dos parasitas foram transformadas em logaritmo na base 10. As amostras de sangue dos animais foram genotipadas ou imputadas para 150k, após o controle de qualidade restaram 72.622 marcadores. Utilizou-se um modelo animal de repetibilidade bi-característico. As estimativas de herdabilidade foram baixas 0,0854 e 0,1929, para *A. marginale* e *R. microplus*, respectivamente. As estimativas de repetibilidade variaram de baixa a moderada, 0,1602 e 0,2514, para *A. marginale* e *R. microplus*, respectivamente. A correlação genética entre a resistência a ambos os parasitas foi baixa e não significativa (0,1711). Realizou-se um estudo de GWAS e análise funcional dos genes candidatos, identificando os genes GJA1, PTPRZ1, LAX1, CRACR2A, IGF1 para infecção por *A. marginale*; e os genes candidatos CD74, SLIT2, CSF1R, DNM1L, PPARGC1B e GAB2 para infestação por *R. microplus*. As seleções para resistência a estes parasitas são características que poderão ser implementadas em programas de melhoramento genético com respostas de longo prazo, devido as suas herdabilidades.

Palavras-chave: *Bos taurus*, anaplasmosse, carrapato do boi

CHAPTER 2 – RESISTANCE TO *Anaplasma marginale* AND *Rhipicephalus microplus* IN BOVINES

ABSTRACT - Bovine Parasitic Tristeza is a complex of diseases caused by three etiological agents, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale*, all transmitted by *Rhipicephalus microplus*. The objective was to estimate the genetic variation of resistance traits in taurine cattle to *A. marginale* and *R. microplus*. We used genotypic, phenotypic and pedigree data from 796 Angus animals from four farms participating in the genetic improvement program Conexão Delta G in Rio Grande do Sul. The groups of contemporaries (CGs) were defined by farm, year, season, management group at weaning and collection. The parasite counts were log-transformed in base 10. The blood samples from the animals were genotyped or imputed for 150k, after quality control 72,622 markers remained. A bi-characteristic repeatability animal model was used. Heritability estimates were low 0.0854 and 0.1929, for *A. marginale* and *R. microplus*, respectively. Repeatability estimates ranged from low to moderate, 0.1602 and 0.2514, for *A. marginale* and *R. microplus*, respectively. The genetic correlation between resistance to both parasites was low and not significant (0.1711). A GWAS study and functional analysis of candidate genes were performed, identifying the genes GJA1, PTPRZ1, LAX1, CRACR2A, IGF1 for *A. marginale* infection; and the candidate genes CD74, SLIT2, CSF1R, DNM1L, PPARGC1B and GAB2 for *R. microplus* infestation. Selections for resistance to these parasites are traits that could be implemented in breeding programs with long-term responses due to their heritability.

Key-words: *Bos taurus*, anaplasmosis, cattle tick

1 Introdução

Carrapatos são vetores de diferentes patógenos, como vírus, bactérias, helmintos e protozoários (de la Fuente et al., 2008). Sua importância na produção animal é devido aos prejuízos econômicos e, também aos efeitos sobre o bem-estar animal pois possuem vasto domínio territorial sendo difundidos globalmente (Brites-Neto et al., 2015, Rehman et al., 2017). Na pecuária bovina, o carrapato de maior interesse é o *Rhipicephalus microplus* (Vidotto e Marana, 2001, Trindade et al., 2011, Dantas-Torres et al., 2012, De Meneghi et al., 2016, Šimo et al., 2017; Jongejan e Uilenberg, 2004, Colwell et al., 2011).

Em bovinos, a *Rickettsia Anaplasma marginale* e os protozoários *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* são os três patógenos causadores da Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Vidotto e Marana, 2001, Trindade et al., 2011). A *Rickettsia Anaplasma marginale* é transmitida mecanicamente por intermédio de insetos hematófagos como moscas, mosquitos e mesmo por agulhas e seringas contaminadas e, biologicamente, por *R. microplus* (Vidotto e Marana, 2001, Trindade et al., 2011, Dantas-Torres et al., 2012, De Meneghi et al., 2016, Silva et al., 2021).

No Brasil, a TPB é considerada endêmica e de alta mortalidade. Os sintomas provocados pelos diferentes agentes são semelhantes, dificultando seu diagnóstico pois um animal pode ser acometido por mais de um hemoparasita ao mesmo tempo (Silva et al., 2021).

A compreensão da interação hospedeiro versus carrapato e *A. marginale* não foi completamente elucidada. Estudos reportaram experimentos com bovinos resistentes e susceptíveis infestados naturalmente com *R. microplus* e infectados naturalmente com *A. marginale* (Andreotti et al., 2018, Martins et al., 2020). Romero (2021) reportaram estimativas de componentes de (co)variância, e resultados de análises de Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS) no estudo de nível de infecção por *A. marginale* e de nível de infestação por *R. microplus*, em animais da raça Braford e Hereford. Entretanto não foram encontrados estudos sobre essas características em bovinos da raça Angus ou estudos que reportem análise funcional dos resultados do GWAS nessas características.

O presente estudo tem como objetivo analisar a existência de variação genética do nível de infestação/infecção em fêmeas de raça Angus naturalmente infestadas por *R. microplus* e infectadas por *A. marginale*, e proceder o GWAS para a identificação e prospecção de genes candidatos relacionados a essas características.

2 Material e métodos

2.1 Dados fenotípicos

Foram utilizados dados de 1.024 fêmeas da raça Angus, nascidas em 2012 e 2013 em quatro propriedades localizadas no estado do Rio Grande do Sul e participantes do programa de melhoramento genético Conexão Delta G. As amostras de sangue e as contagens de carrapatos foram obtidas simultaneamente entre os meses janeiro e maio do ano de 2014, quando as fêmeas estavam com, em média, 550 dias de idade.

As amostras de sangue foram colhidas em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e foram encaminhadas ao laboratório para a extração de DNA, utilizando o kit DNA Easy (Invitrogen), genotipagem e quantificação dos níveis de infecção por *A. marginale*.

A quantificação absoluta do número de cópias do DNA de *A. marginale* foi realizada como descrito por Giglioti et al. (2019) no equipamento CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad, Hercules, CA, USA) em lotes de 40 amostras biológicas em duplicata, em placas multiplate™ de 96 poços. Os 16 poços restantes foram utilizados para controle positivo, controle negativo e para construção da curva padrão por meio de diluições seriadas de razão constante igual a 10 de DNA sintético gBlocks®. As estimativas do número de cópias do DNA alvo das amostras foram obtidas por meio do programa nativo do equipamento CFX96 utilizando como referência a curva padrão supracitada. Os valores padrão do programa foram utilizados para todos os parâmetros, exceto o limiar que foi estabelecido em 150 Unidades de Fluorescência Relativa (UFR) para todos os testes de qPCR. As amostras cujo desvio padrão das estimativas do número de cópias para as duas repetições excederam o valor de 0,5 foram refeitas e as que continuaram com desvios

padrão acima desse valor foram eliminadas. Os primers utilizados para a amplificação estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Primers *forward* (F) e *reverse* (R) usados nas reações de qPCR para avaliar o nível de infecção por *Anaplasma marginale*.

	Primers	Referência
<i>Anaplasma marginale</i>	F. TGGATGAAAGCCTGGAGATG	Giglioti et al. (2019)
	R. TGTTTCCAGACCTTCCCTAACT	

Em relação as contagens de carrapato, foram realizadas duas contagens subsequentes por animal, seguindo o método de contagem proposto por Wharton e Utech (1970), em que foram contadas apenas as fêmeas adultas com tamanho igual ou superior a 4,5 mm e inferior a 8 mm, que eram feitas em apenas um dos lados de cada animal. Após cada contagem, para evitar a perda de animais devido a exposição ao carrapato, foi administrado em todos os animais a medicação Ripercol conjuntamente com o banho com o carrapaticida Amitraz. Cada contagem foi realizada ao menos 41 dias após a aplicação do tratamento para que não houvesse interferência de efeito residual do tratamento na exposição natural dos animais aos carrapatos.

As contagens de carrapatos de *R. microplus* e o número de cópias de DNA de *A. marginale* foram transformadas em logaritmo na base dez ($\log_{10}(n + 1)$), onde n corresponde as contagens de carrapatos para o *R. microplus* e o nível de infecção para *A. marginale*, visando a normalização da distribuição.

Os grupos de contemporâneos (GC) foram compostos por animais nascidos na mesma fazenda, ano, estação, e que participavam do mesmo grupo de manejo ao desmame e estavam no mesmo grupo de coleta. Para o nível de infecção por *A. marginale*, foi também considerada a placa de análise do qPCR. No total foram formados 11 GC, com mínimo de 26 animais por GC, para as contagens de *R. microplus* e 33 GC, com mínimo de 4 animais por GC, para o nível de infecção por *A. marginale*. A diferença dos tamanhos dos GC foi devido ao efeito de placa incluído no GC da *Rickettsia* e ao fato de algumas amostras terem sido eliminadas por apresentarem valores de desvio padrão entre repetições maiores que 0,5 mesmo quando as análises laboratoriais foram refeitas. Para *A. marginale* o número de animais foi reduzido para 796 animais.

2.2 Dados genótipicos

Os animais foram genotipados com o chip Gene Seek™ Genomic Profiler Bovine, da Illumina® com aproximadamente 150 mil SNPs. O controle de qualidade dos dados foi feito utilizando o pacote SNPStats do programa R (Clayton, 2019; R Core Team, 2019). Foram eliminadas as informações dos animais com valores de *call rate* abaixo de 0,90, com valores fenotípicos que desviavam da média observada em ± 3 desvios padrões, com erros em relação ao sexo e observações duplicadas. Para os marcadores SNPs, foram mantidas informações pertinentes aos cromossomos autossomos que possuíam valores de *call rate* superior a 0,98, Frequência do Menor Alelo (MAF) maior que 0,03 e que apresentavam valores maiores que 10^{-7} para Hardy-Weinberg (H-W). SNPs faltantes em alguns animais foram imputados utilizando o programa FImpute (Sargolzaei *et al.*, 2014). Foram eliminados marcadores documentados com a mesma posição no mapa, resultando o total de 72.622 marcadores.

2.3 Modelo estatístico

Os parâmetros genéticos para contagem de carrapatos e de nível de infecção por *Anaplasma marginale* foram estimados utilizando o modelo de repetibilidade bi-característico bayesiano cuja representação matricial pode ser descrita da seguinte forma:

$$y = X\beta + Za + Wp + \varepsilon$$

Com distribuição conjunta dos vetores aleatórios a , p e ε :

$$\begin{bmatrix} a \\ p \\ \varepsilon \end{bmatrix} = N \left\{ \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} G_0 \otimes H & 0 & 0 \\ 0 & P_0 \otimes I & 0 \\ 0 & 0 & R_0 \otimes I \end{bmatrix} \right\},$$

em que y é o vetor das observações; β é o vetor dos efeitos fixos; a é o vetor aleatório dos efeitos genéticos aditivos diretos; p é o vetor aleatório dos efeitos de ambiente permanente; ε é o vetor aleatório dos resíduos; X , Z e W são as matrizes de incidência dos efeitos fixo, aleatório animal e aleatório de ambiente permanente, respectivamente. As matrizes G_0 , P_0 e R_0 são as matrizes de covariância dos efeitos aleatórios animal, ambiente permanente e residual, respectivamente; H e I são as matrizes de relacionamento genético aditivo e identidade, respectivamente. Os efeitos fixos foram compostos de GCs e placa de quantificação do DNA de *A. marginale*.

As distribuições dos efeitos aleatórios podem ser classificadas da seguinte maneira:

$$\begin{aligned} a &\sim N(0; H\sigma_a^2); \\ p &\sim N(0; I\sigma_p^2); \\ \varepsilon &\sim N(0; I\sigma_\varepsilon^2), \end{aligned}$$

em que, σ_a^2 , σ_p^2 e σ_ε^2 correspondem às variâncias genética aditiva, de ambiente permanente e residual, respectivamente. A matriz H combina informações de genótipos e pedigree (Aguilar et al., 2010; Legarra et al., 2009) e sua inversa pode ser descrita da seguinte forma:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

em que A_{22}^{-1} corresponde à inversa da matriz de parentesco dos animais genotipados. A matriz G foi estimada conforme VanRaden (2008):

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum_{i=1}^M (p_i(1 - p_i))},$$

em que, Z é a matriz de valores médios das frequências alélicas centrados em zero, M é o total de marcadores e p_i é a frequência alélica do i -ésimo marcador.

Para a estimação dos parâmetros genéticos, foi utilizada inferência bayesiana por meio do programa GIBBS2F90 (Misztal et al., 2018). Foram considerados um total de 850.000 amostras recolhidas de 100 em 100 (*thin*) e um período de *burn-in* de 200.000. O tamanho da cadeia foi resultado de várias análises buscando alcançar o tamanho mínimo de 200 amostras efetivas para cada variável.

2.4 Análise do Estudo de Genômica Ampla (GWAS)

Após a estimação dos componentes de (co)variância e obtenção dos valores genômicos, foi realizado o estudo de GWAS para o nível de infecção por *A. marginale* e de infestação por *R. microplus* utilizando-se o método ssGBLUP conforme proposto por Mizstal et al. (2009).

Obteve-se os efeitos e a variância explicada de cada janela composta de 10 marcadores adjacentes e não sobrepostos. Foram selecionadas 15 janelas que explicaram as maiores porcentagens das variâncias associadas com as características.

Para a identificação dos genes foi utilizada a ferramenta Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>) em conjunto com BioMart tool (Kinsella et al., 2011) e tendo como referência a sequência para espécie *Bos taurus* ARS-UCD 1.2 (Geer et al., 2009).

Dispondo da lista de genes, foi realizada análise funcional, empregando o pacote ClueGo (Bindea et al., 2009) disponível para o programa Cytoscape (Shannon et al., 2003). Para esta finalidade foram considerados a base de ontologia de Genes (Go) para processos de sistema imune com os seguintes parâmetros de análise: Kappa Score superior a 0,5; especificidade de Network global; sem mínimo de tamanho de cluster; foram considerados significativos valores de p corrigidos pelo teste de Bonferroni step down abaixo do nível de significância de 0,05.

Para complementar a identificação dos genes foram utilizadas as bases de dados de QTL *Cattle Quantitative Trait Locus Database* (Cattle QTLdb) (ARS_UCD1.2 em formato gff) obtida do site www.animalgenome.org (Hu et al., 2005, Hu e Reecv, 2007, Hu et al., 2013, Hu et al., 2016, Hu et al., 2019, Hu et al., 2021) e a base de anotação de genes *Bos taurus gene annotation* (ARS_UCD1.2 em formato gtf) obtida

do site https://www.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index (Howe et al., (2021)) conjuntamente com o pacote GALLO (Fonseca et al., 2020) do programa R (R Core Team, 2019).

3 Resultados

3.1 Parâmetros genéticos e fenotípicos

A herdabilidade e repetibilidade estimadas para o número de cópias de *A. marginale* foram de 0,0854 e 0,1602, respectivamente. Para o nível de infestação por *R. microplus*, as estimativas de herdabilidade e repetibilidade foram de 0,1929 e 0,2514, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativas de componentes de variância e seus intervalos de credibilidade de 95%, utilizando método ssGBLUP e inferência bayesiana: média e intervalo de alta densidade (em parênteses) das distribuições posteriores.

Parâmetro	Anaplasma	Carrapato
Variância genética aditiva	0,0295 (0,0005; 0,0605)	0,0094 (0,0045; 0,0141)
Variância de ambiente permanente	0,0260 (0,0003; 0,0584)	0,0030 (0,0002; 0,0062)
Variância residual	0,2884 (0,2492; 0,3257)	0,0365 (0,0322; 0,0408)
Herdabilidade	0,0854 (0,0018; 0,1725)	0,1929 (0,1043; 0,2836)
Repetibilidade	0,1602 (0,0573; 0,2594)	0,2514 (0,1701; 0,3312)
Correlação genética		0,1711 (-0,4083; 0,9534)
Correlação ambiente permanente		-0,3786 (-1,000; 0,8005)
Correlação residual		-0,0256 (-0,1211; 0,0704)

3.2 Análise do Estudo de Genômica Ampla (GWAS)

Os cromossomos 4, 5, 7, 9, 11, 14, 15, 16, 19, 20 e 27 apresentaram janelas associadas à característica nível de infecção por *A. marginale*, explicando no total 2,84% da variância genética. Em relação ao *R. microplus*, os cromossomos 1, 5, 6, 7, 8, 14, 15, 16, 17, 27 e 29 apresentaram janelas associadas à característica de nível de infestação explicando 3,13% no total. Embora em ambas as características os cromossomos 5, 7, 14, 15 e 27 apresentaram regiões associadas aos parasitas, nenhuma região genômica se sobrepõe, Figura 1.

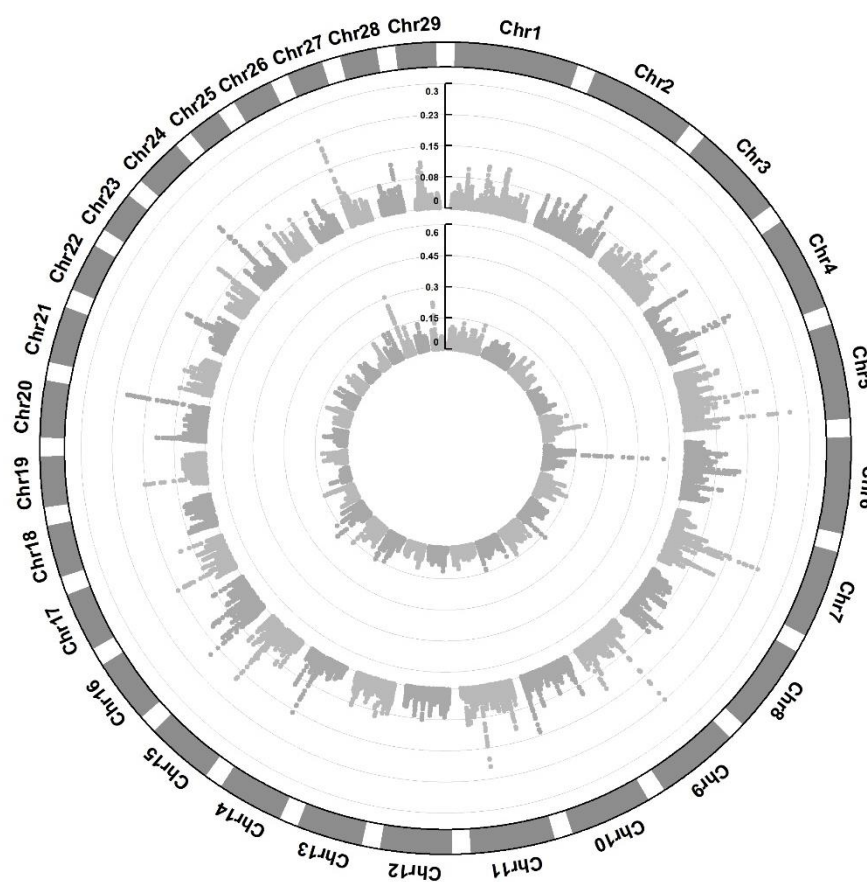


Figura 1. *Manhattan plot* circular da porcentagem de variância genética explicada por janelas sobrepostas compostas de 10 marcadores adjacentes para a resistência ao nível de infestação por *R. microplus* (menor círculo) e para a resistência o nível de infecção por *A. marginale* (maior círculo).

O *Manhattan plot* circular das variâncias explicadas sobrepostas e as informações de posição e porcentagem de variância explicada de cada janela não sobreposta estão na Figura 1 e Tabela 3, respectivamente. Informações sobre os

genes candidatos para o número de cópias de *A. marginale* e nível de infestação por *R. microplus* podem ser encontrados nas Tabelas Suplementares 1 e 2, respectivamente.

Tabela 3. Informações de cromossomo, posições inicial e final em pares de base (bp) das 15 janelas não sobrepostas compostas de 10 marcadores adjacentes com maior variância genética em ordem decrescente para resistência ao nível de *A. marginale* e *R. microplus*.

Característica	Chr	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	% variância explicada	Genes
<i>A. marginale</i>	5	105646203	106646203	0,2564	FGF6, FGF23, TIGAR, CCND2, PARP11, CRACR2A, PRMT8, TSPAN11
	7	56443610	57443610	0,2285	PRELID2, GRXCR2, SH3RF2, PLAC8L1, LARS1
	9	29675954	30675954	0,2250	GJA1, U6, TBC1D32, bta-mir-12063
	27	2743779	3743779	0,2225	U6
	20	71017159	72017159	0,1989	CLPTM1L, TERT, SLC6A18, SLC6A19, bta-mir-12015, SLC12A7, NKD2
	11	67116154	68116154	0,1958	BMP10, GKN3P, GKN2, GKN1, ANTXR1, 7SK, GFPT1, NFU1, AAK1
	5	66064663	67064663	0,1835	IGF1, U6, PAH, ASCL1, U1
	24	26429832	27429832	0,1832	U6
	4	79881215	80881215	0,1746	-
	16	750539	1750539	0,1746	MYOG, U6, ADORA1, MYBPH, CHI3L1, BTG2, FMOD, PRELP, OPTC, ATP2B4, LAX1, ZC3H11A, SNRPE
	15	52937517	53937517	0,1716	PLEKHB1, RAB6A, U6, MRPL48, COA4, PAAF1, DNAJB13, UCP2, UCP3, C2CD3, 5S_rRNA, C2CD3, PPME1, P4HA3, PGM2L1, KCNE3, LIPT2
	4	85925806	86925806	0,1593	FEZF1, CADPS2, SUGCT, 7SK, PTPRZ1, AASS
	14	53396478	54396478	0,1565	U6, U5
	7	53942839	54942839	0,1535	NR3C1
	19	12324848	13324848	0,1513	APPBP2, C19H17orf64, USP32, U6, CA4, ZNHIT3, MYO19, PIGW, GGNBP2, DHRS11, MRM1, LHX1
<i>R. microplus</i>	6	39600031	39626059	0,5751	-
	27	6955584	7223480	0,3066	DEFB, DEFB4A, EBD
	6	39642080	39691245	0,2564	-
	29	18069929	18647026	0,2256	AAMDC, RSF1, CLNS1A, AQP11
	5	76659850	77144654	0,2064	-
	16	19904561	20127841	0,1933	-
	8	104806608	105308863	0,1650	-
	16	53418231	53627359	0,1626	-
	15	72588081	72796285	0,1591	-

14	74496096	74774438	0,1520	-
7	61621326	61879960	0,1468	ARSI, 5S_rRNA, TCOF1, CD74, RPS14
17	73678846	73915069	0,1451	-
6	23906558	24067760	0,1443	-
1	149721824	150008106	0,1438	-
27	7260308	7592764	0,1437	GPM6A

Para *A. marginale* os genes FGF23, GJA1, IGF1, ATP2B4, TERT, AASS, PAH, ASCL1, BTG2, LHX1, PTPRZ1, TBC1D32, BMP10, MYOG, FGF6 estão dentro das regiões cromossômicas associadas a característica de estudo e foram considerados significativos (valor de $p < 0,05$) na análise funcional abaixo, representado 18,68% do total de genes descritos na Tabela 3.

Para *R. microplus* os genes DEFB4A, EBD, AAMDC, RSF1, CLNS1A, AQP11, TCOF1, CD74, RPS14, GPM6A estão dentro das regiões cromossômicas associadas a característica de estudo e foram considerados significativos na análise funcional abaixo, representado 18,87% do total de genes descritos na Tabela 3.

3.3 Análise funcional

Na análise funcional do nível de infecção por *A. marginale*, observou-se 152 identificações de regiões codificantes e 32 regiões codificantes não anotadas. Foram encontrados 146 QTLs únicos de 165 identificados relacionados a 6 classes de características (Figura 2). Informações sobre os genes e QTL identificados estão nas Tabelas Suplementares 1 e 3 e classes de produção e Saúde foram identificadas.

Observou-se que QTLs relacionados a resistência ao *A. marginale* são relacionados a QTLs associados com características de interesse econômico pertencentes às 6 classes de QTLs definidas pelo AnimalQTLdb (Figura 2). As três principais classes foram: Produção de carne com 36,4%, Leite com 30,3% e Reprodução com 16,4%, representando o total de 83,1%.

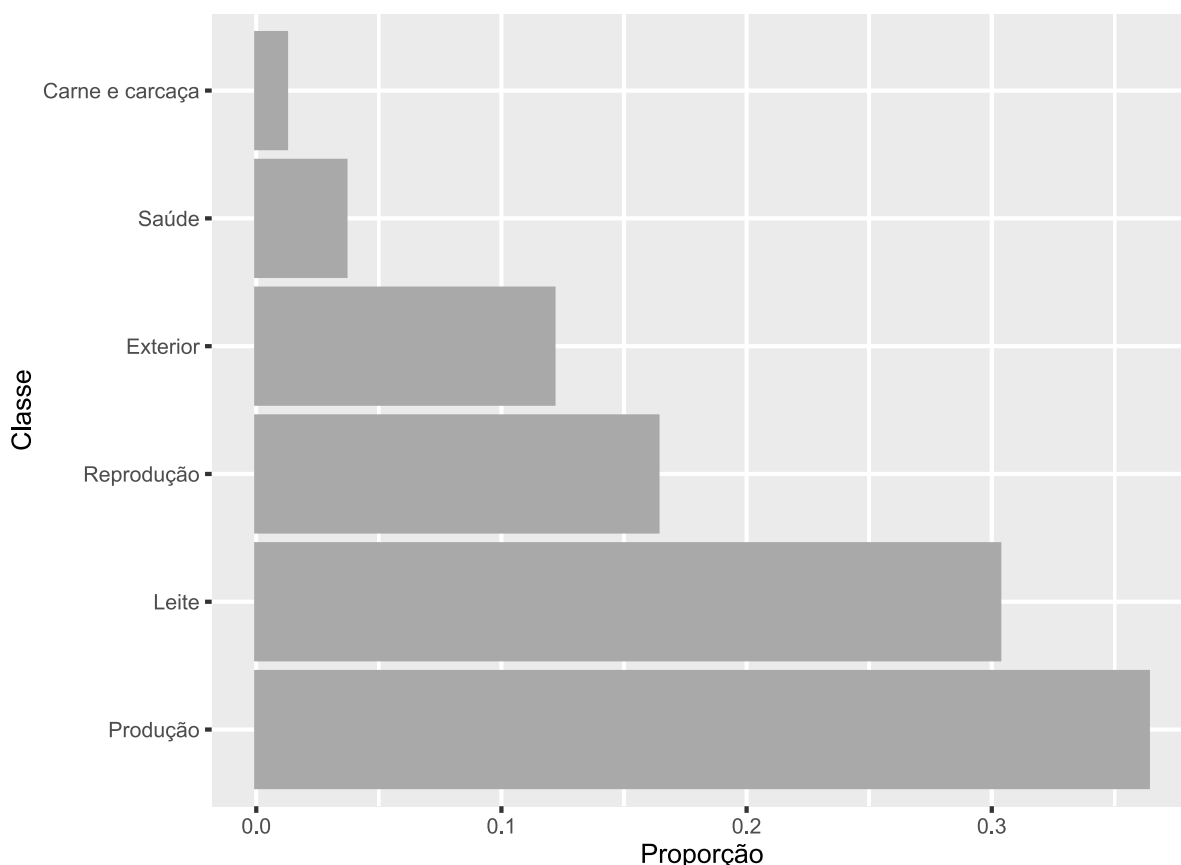


Figura 2. Classes de QTLs presentes nas regiões associadas à resistência o nível de infecção por *A. marginale*.

Na análise funcional do nível de infestação por *R. microplus*, observou-se 108 identificações de regiões codificantes e 34 regiões codificantes não anotadas. Foram encontrados 74 QTLs únicos de 96 identificados relacionados a 6 classes de características (Figura 3). Informações sobre os genes e QTL identificados estão nas Tabelas Suplementares 2 e 4.

Os QTLs relacionados a resistência ao *R. microplus* também são relacionados a QTLs associados com características de interesse econômico pertencentes às 6 classes de QTLs definidas pelo AnimalQTLd (Figura 3). As três principais classes foram: Reprodução com 41,7%, Leite com 27,1% e Exterior com 19,8%, representando 88,6% do total.

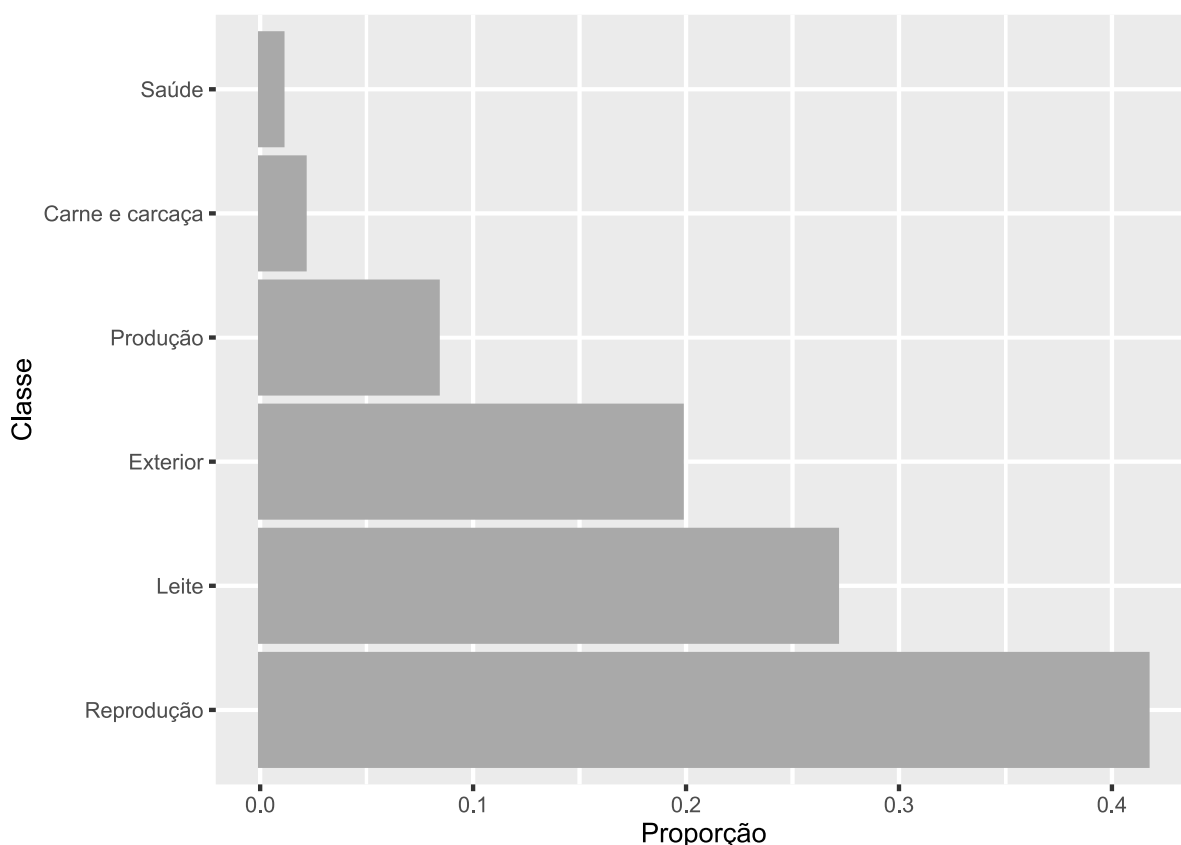


Figura 3. Classes de QTLs presentes nas regiões associadas à resistência o nível de infestação por *R. microplus*.

3.4 Genes candidatos para infecção por *A. marginale* e infestação por *R. microplus*

Pela análise funcional com o Cytoscape nenhuma rota metabólica foi significativa (valor de $p > 0,05$ cada) em relação a infecção por *A. marginale*. Entretanto, cinco genes estão relacionados a rotas metabólicas que podem estar associadas a característica estudada (Figura 4). Mais informações sobre posições inicial e final, cromossomo e descrição dos genes candidatos estão na Tabela Suplementar 1.

Em relação a infestação por *R. microplus*, apenas duas rotas metabólicas foram consideradas associadas a característica de estudo, quimiotaxia de granulócitos e regulação da quimiotaxia de granulócitos (valor de $p < 0,05$ cada) estando ambas relacionadas aos genes SLIT2, CSF1R, DNM1L, CD74. Assim como na análise funcional para o *A. marginale*, foram observadas rotas metabólicas não significativas

(valor de $p > 0,05$ cada) para o *R. microplus* ligadas a outros cinco genes (Figura 5). Demais informações sobre posições inicial e final, cromossomo e descrição dos genes candidatos estão na Tabela Suplementar 2.

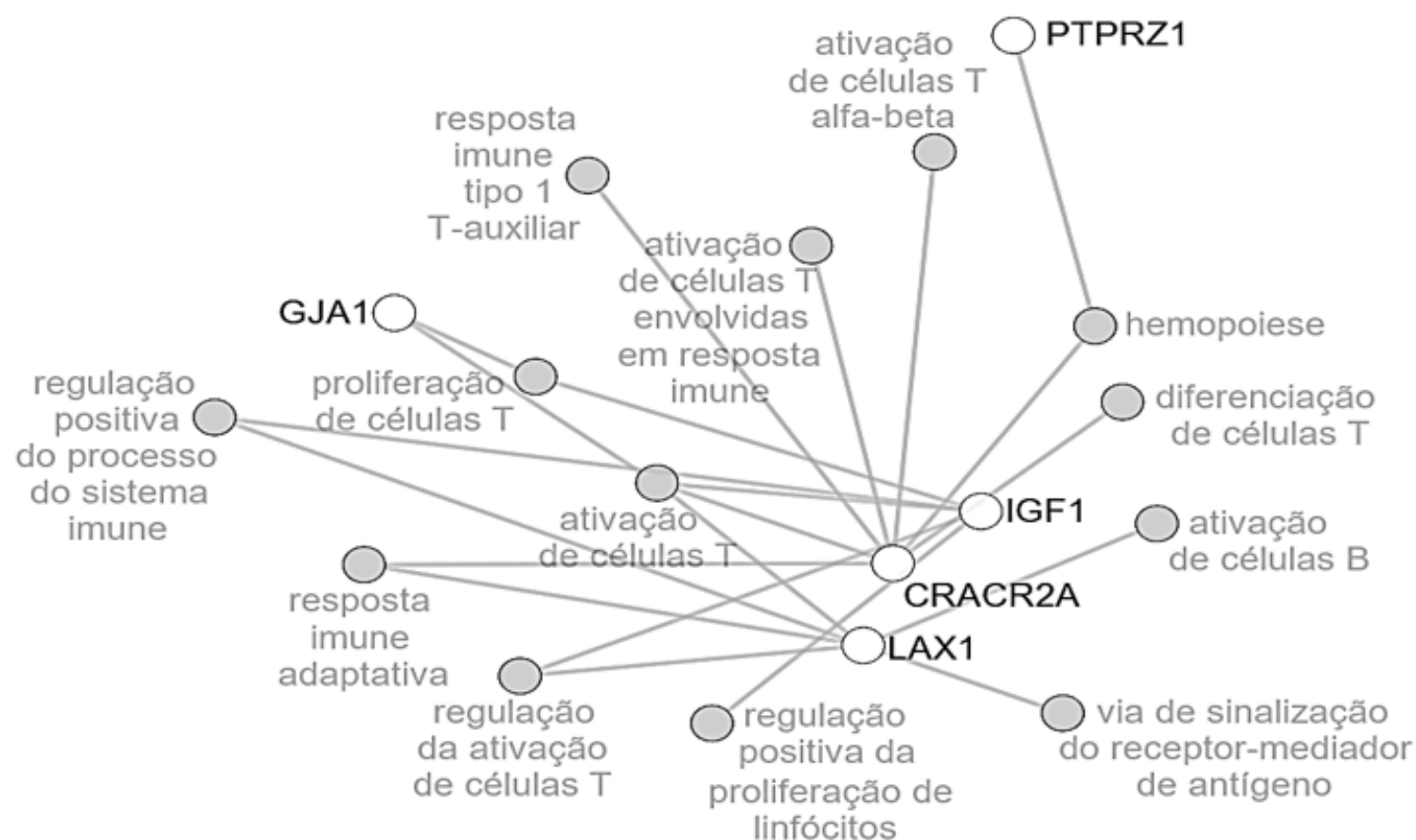


Figura 4. Genes e rotas metabólicas da análise funcional possivelmente associadas à resistência do nível de infecção por *A. marginale*.

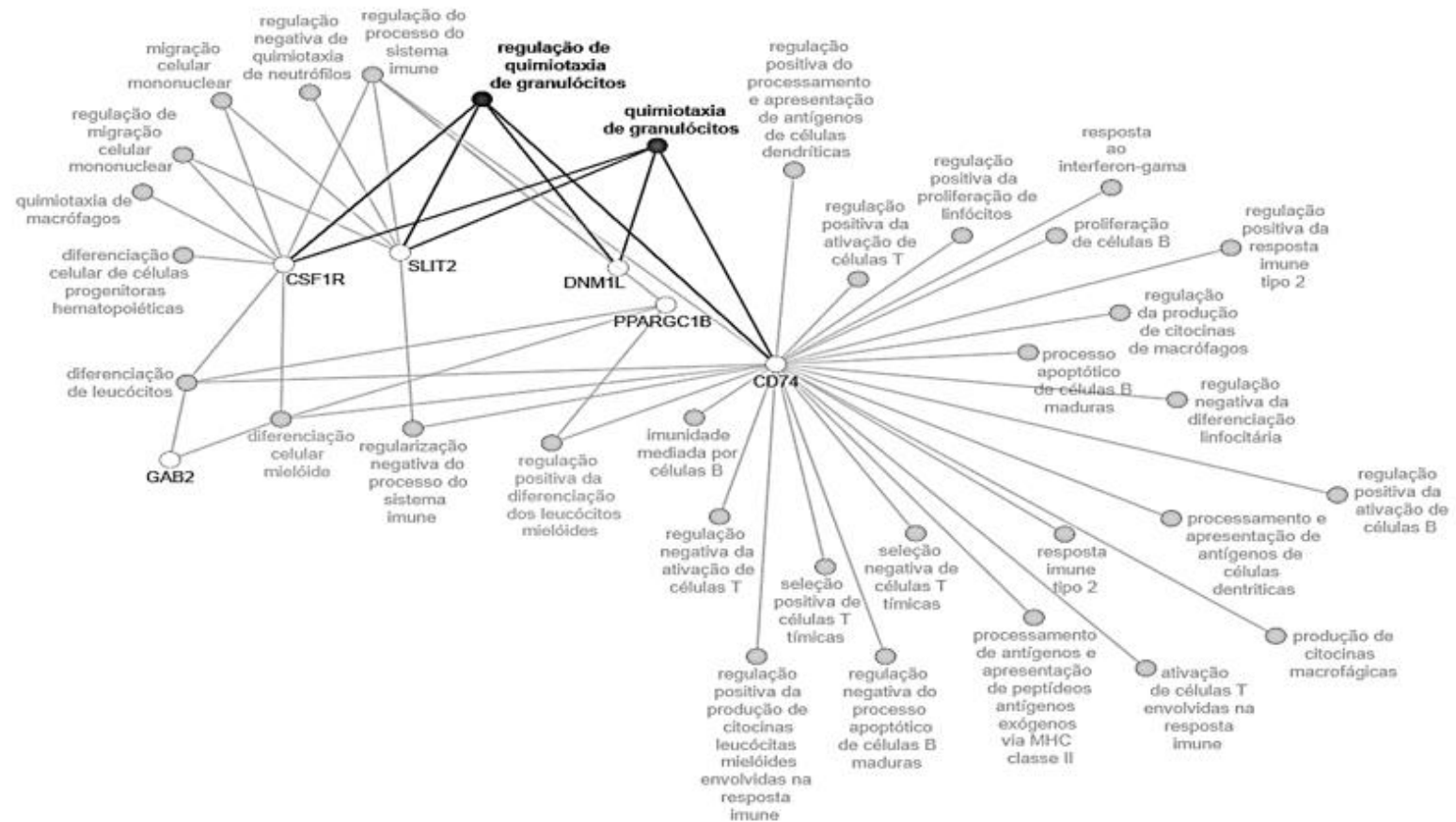


Figura 5. Genes e rotas metabólicas da análise funcional possivelmente associadas à resistência do nível de infestação por *R. microplus*.

4 Discussão

No presente estudo, foi estimada a baixa herdabilidade de 0,0854 para a resistência ao nível de infecção por *A. marginale*. Em estudos com outros patógenos de origem bacteriana também foram observadas estimativas de herdabilidade baixas. Em estudo sobre *Mycobacterium bovis*, principal agente da tuberculose bovina, foram reportadas herdabilidades de 0,14 e 0,12 em vacas e novilhas susceptíveis, respectivamente, e 0,18 em vacas com susceptibilidade confirmada em bovinos Holandeses (Bermingham et al., 2008). Em estudo de resistência a mesma *Rickettsia*, foram estimadas herdabilidades de baixa à moderada de 0,07-0,18 em bovinos leiteiros (Brotherstone et al., 2009).

Em estudo de resposta humoral em resposta à infecção de *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis* em vacas Holandesas foi documentada a herdabilidade de 0,102 (Mortensen et al., 2004) e com a mesma *Rickettsia* em bovinos leiteiros foram estimadas herdabilidades que variaram entre 0,02 e 0,05 (McGovern et al., 2019). Existe uma lacuna na literatura sobre estudos de estimação de componentes de (co)variância em relação ao nível de infecção por *Anaplasmas*. Estimativa de herdabilidade encontrada na literatura para nível de infecção por *A. marginale* foi apenas a reportada por Romero (2021) que também estimaram herdabilidade baixa (0,09) em estudo com bovinos Hereford e Braford. Tal resultado é semelhante ao documentado neste trabalho, e embora os autores tenham estudado outras raças, os animais são originários da mesma região.

A repetibilidade do nível de infecção por *A. marginale* foi baixa (0,1602), o que pode indicar que a observação da parasitemia em uma contagem tem pouca correlação com a parasitemia na coleta seguinte. Geralmente os animais são tratados quando desenvolvem a doença e quando os níveis de infestação por carrapato são altos e isso pode interferir nos resultados.

Na literatura a herdabilidade da resistência ao carrapato é variável. Ayres et al (2013) estimaram herdabilidade baixa de 0,08 na análise por modelo linear da resistência ao carrapato em bovinos mestiços de Hereford x Nelore. Mota et al. (2016) em estudo experimental de interação genótipo por ambiente da resistência de Hereford e Bradford estimaram herdabilidade de 0,19 para o modelo linear. Burrow

(2001) encontrou herdabilidades moderadas, 0,35, a altas, 0,44, para a resistência ao carrapato em bovinos compostos. Budeli et al. (2009) em estudo sobre a resistência a carrapatos em bovinos Bonsmara encontraram herdabilidade de 0,17 com a contagem média de carrapatos variando entre 25 (incluso) e 31 e de 0,03 (não significativo) para médias acima de 31. No presente estudo, a média de ambas as contagens foi de 54 carrapatos.

Em estudos na mesma região geográfica do presente trabalho com bovinos Hereford e Braford, herdabilidades de baixa magnitude de 0,127 (Cavani et al., 2020a) e magnitudes moderadas de 0,25 e 0,19 foram estimadas para a contagem de carrapato por Cavani et al., 2020b, Biegelmeyer et al. (2017), respectivamente, sendo o último resultado semelhante aos resultados deste estudo. Embora as herdabilidades sejam baixas é possível incluir estas características em programas de melhoramento genético animal.

A repetibilidade para o nível de infestação por *R. microplus* é variável na literatura, em bovinos naturalmente expostos iguais a 0,29 (Fraga et al., 2003), 0,29 (Biegelmeyer et al., 2017), 0,127-0,267 (Cavani et al., 2020a), 0,24 (David, 2021), sendo os últimos três estudos conduzidos na mesma região demográfica do presente trabalho; e em bovinos infestados artificialmente, 0,65 (Silva et al., 2007) e 0,62 (Maiorano et al., 2018).

Giglioti et al. (2016) em estudo com Angus machos, obtiveram repetibilidade estimada para o nível de infecções de *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* com valor de 0,05, atribuindo a baixa estimativa ao intervalo de tempo de contagem de 3 meses, sendo a primeira tendo apenas duas contagens no estado de São Paulo, a primeira em maio e a última em julho, abrangendo o período de outono e inverno. O presente estudo analisou duas contagens realizadas em intervalo de 41 dias nos meses de março e junho, que corresponde ao outono no Brasil e foi estimada a repetibilidade de 0,2514, similar as repetibilidades encontradas por Biegelmeyer et al. (2017), Cavani et al. (2020a), David (2021) descritas acima.

Giglioti et al. (2018) estimaram valores de repetibilidade que variaram de 0,06 até 0,38 discriminadas em quatro fases em fêmeas Canchim no estado de São Paulo. A repetibilidade estimada neste estudo é próxima da estimada na segunda fase (0,20), que abrange os períodos de fevereiro de 2014 – julho de 2014, final de verão e outono

no Brasil. Não obstante, foi estimada a repetibilidade de 0,2514 neste estudo corroborando com as repetibilidades documentadas na literatura.

As correlações genética e de ambiente permanente entre os níveis de infecção e infestação pelos parasitas foram estimadas, entretanto o intervalo de credibilidade apresentou grande amplitude e incluiu o zero. Esse resultado pode ser devido ao pequeno número de observações no banco de dados.

A única estimativa de correlação genética entre nível de infecção por *A. marginale* e de infestação por *R. microplus* encontrada na literatura foi de -0,019 (Romero, 2021). Giglioti et al. (2018) estimaram a correlação fenotípica entre as mesmas características em -0,11. As correlações genéticas e de ambiente permanente entre os parasitas estimadas neste estudo foram: baixa e positiva (0,1711) e baixa e negativa (-0,3786), respectivamente. Isto não era esperado uma vez que o *R. microplus* é um dos principais vetores do *A. marginale*, porém, além da dificuldade de estimação devido a limitação imposta pelo tamanho do banco de dados como descrito anteriormente, a *Rickettsia* pode ser transmitida por outros vetores ou por uso inadequado de materiais, como seringas contaminadas e não necessariamente haverá no campo muitos carrapatos que estarão contaminados e, conseqüentemente, contaminarão o hospedeiro com a *Rickettsia*.

4.1 Análise Gênica Ampla (GWAS)

Somente foi encontrado um estudo de GWAS do nível de infecção por *A. marginale* feito por Romero (2021) com bovinos Braford e Hereford. Os autores reportaram que os cromossomos 2, 5, 8, 10, 13, 17, 24 e 29 possuem genes candidatos relacionados ao nível de infecção por *A. marginale*. Apenas o cromossomo 5 encontrado neste estudo corrobora com os achados de Romero (2021), entretanto a região gênica não é a mesma.

Na literatura foram documentados os mesmos cromossomos aqui descritos na análise de resistência ao nível de infestação por *R. microplus*. Em estudo com Hereford e Braford foram verificados os cromossomos 1, 5, 6, 7, 14, 15, 16 (Mota et al., 2018) e os cromossomos 1, 5, 6, 7, 8, 14, 15, 16, 17, e 29. (Sollero et al., 2017) foram considerados associados a resistência ao carrapato. Em estudos com animais

mestiços Holandês e Gir os cromossomos 2, 5, 7, 14, e 27 (Gasparin et al., 2007 e Machado et al., 2010), em cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* os cromossomos 10 e 23 (Otto et al., 2018) foram documentados. Em estudo com gado Ngumi os cromossomos 1, 3, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 17, 18, 19 e 26 foram considerados associados a resistência a infestação por carrapatos sendo o *Amblyomma hebraeum* o mais frequente (Mapholi et al., 2016). Os resultados aqui apresentados são semelhantes ao de Sollero et al. (2017), com exceção do cromossomo 27, porém com diferentes regiões cromossômicas. Tais resultados indicam a natureza poligênica da resistência em relação à ambos os parasitas.

4.2 Genes candidatos para infecção por *A. marginale*

As vias metabólicas da análise funcional do nível de *A. marginale* são relacionadas ao sistema imune e biológico: regulação e adaptação de células musculares, processos biosintéticos, reprodutivos e homeostase. Tais resultados podem indicar possível resposta do sistema imunológico do animal em relação ao patógeno.

O gene GJA1, também conhecido como *connexin* 43 (Cx43), é classificado como *gap junction protein alpha 1* (Paznekas et al., 2003). Em estudo com infecção periodontal em ratos, Anand et al. (2008) observaram que o gene Cx43 possui papel importante na regulação de fagócitos e macrófagos atuando na modulação da resposta imune do hospedeiro em combater a infecção *in vivo* e que sua regulação possui efeito na sobrevivência do animal após ser acometido pela infecção bacteriana.

Em estudo com porcos e *Anaplasma phagocytophilum*, na análise PCR em Tempo Real RT-PCR e de hibridação *microarray* o gene GJA1, conjuntamente com os genes IL1RAPL1, TCR-alpha e TSP-4, relacionados a respostas imunes, apresentavam-se superregulados (upregulated) em animais infectados indicando que a infecção bacteriana pode ser controlada pelo hospedeiro pela ativação de seu sistema imune inato e adaptativo (Galindo et al., 2012, Tittarelli, 2021).

Em estudo com nematoides e ovelhas Merino, Zhang et al. (2019) também documentaram o gene GJA1 na resposta a infecção primária na seleção de rebanhos resistentes à infecção por *Haemonchus contortus*. Tais estudos apontam o potencial

de que o gene GJA1 seja um gene candidato na resistência ao nível de infecção por *A. marginale*.

O gene PTPRZ1 é expresso em células B e possui grande importância na regulação e sobrevivência dessas células de defesa e sua ausência pode reduzir a proporção e o número de células B maduras no organismo influenciando na resposta imunológica adaptativa (Cohen et al., 2012, Cohen e Shachar, 2013). As células B atuam no sistema imune humoral e quando ativadas podem guardar memória da primeira infecção e assim tornar mais otimizada a resposta imunológica adaptativa em casos de reincidência (Mesquita Júnior et al., 2010).

Estudos experimentais com *A. marginale* e células T CD4⁺ evidenciam que o patógeno utiliza estrategicamente de rápida perda de produtores de interferon- γ (IFN- γ) (Brown et al., 1998). As citocinas ativam macrófagos aumentando a produção de óxido nítrico (NO) que possui ação tóxica na *Rickettsia* (Brown et al., 1998, Araújo et al., 2003) além da perda de memória imunológica, modulando a resposta imune do bovino com o objetivo de propagar sua persistência (Lahmers et al., 2005, Han et al., 2008, Han et al., 2010).

Bovinos mais jovens possuem altos níveis de (WC1)⁺ $\gamma\delta$ dos linfócitos T, sendo mais resistentes que os adultos à infecções por *A. marginale* (Roby et al., 1961, Jones et al., 1968, Lahmers et al., 2005). Em estudo experimental com bovinos Holandês de 6 meses de idade foi possível observar a ocorrência de desregulação disfuncional de *A. marginale* – específicos do linfócito T CD4⁺ preparados durante a infecção e a falha em estabelecer memória de longo-termo. Porém altos valores de *A. marginale* – IgG específico se mantiveram durante a infecção, apesar da deficiente resposta celular dos linfócitos T CD4⁺ (Han et al., 2010). Os autores complementam com a hipótese de que a falha em estabelecer longa memória da parte das respostas imunológicas das células T pode ser um mecanismo relevante na modulação do sistema imune do bovino por parte da *Rickettsia*.

O gene CRACR2A é um modulador de canais de cálcio por liberação de cálcio ativado (*calcium-release-activated calcium* - CRAC) atuando nas células T (Srikanth et al., 2010, Wilson et al., 2014, Woo et al., 2018). Suspeita-se de que esta proteína possa ter papel ativo na ativação de outras células de imunidade inata e adaptativa

(Wu et al., 2021). O gene LAX1 também possui relevância na codificação de proteínas adaptadoras associadas a membrana de linfócitos B e T (Hoang et al., 2019).

Em humanos, o gene IGF1 modula a produção de IgE em células B (Kim, et al., 2003, van Bilsen et al., 2008). A microbiota intestinal bovina pode ser modulada pelo gene IGF1 do hospedeiro influenciando no desenvolvimento do animal, inclusive auxiliando na proteção durante surtos de doenças (Yang e Charles, 2018).

4.3 Genes candidatos para infecção por *R. microplus*

O carrapato obtém sucesso em sua alimentação quando é apto a inibir a resposta homeostática e regeneração celular do hospedeiro, permitindo assim que a ingestão de sangue se torne constante (Boulanger e Wikel, 2021). A ação da picada do carrapato na pele do hospedeiro desencadeia sensações de coceira e dor que são transmitidas pelo sistema nervoso (Chiu et al., 2013, Wilson et al., 2013, Oetjen et al., 2017, Trier et al., 2019, Cohen et al., 2020) e esses estímulos levam ao hospedeiro a assear-se lambendo a região inflamada (Bennet, 1969).

Sem poder se alimentar adequadamente, o número de carrapatos parasitando o animal pode ser menor e a falta de nutrientes poderá levar a demora das fêmeas se tornarem ingurgitadas comprometendo o ciclo reprodutivo do ectoparasita, podendo ocorrer perda de até 54% das larvas presentes no animal (Koudstaal et al., 1978) e reduzir o número de fêmeas que possam se tornar ingurgitadas (Snowball, 1956).

Granulócitos são linfócitos, células de defesa do organismo, que possuem a estrutura de grânulo em sua composição e são compostas de neutrófilos (mais abundantes e com atuação nas imunidades inata e adquirida), eosinófilos, basófilos e mastócitos (Leliefeld et al., 2015, Tabor et al., 2017, Rosales, 2020).

Após a ruptura epitelial causada pela picada do carrapato, o sistema imune do hospedeiro reage ativando macrófagos, mastócitos e células dendríticas (Šimo et al., 2017). Macrófagos e mastócitos locais secretam citocinas responsáveis por ativar células endoteliais que capturam neutrófilos locais (Schramm e Thorlacius, 2004, Kolaczowska e Kubes, 2013, Nauseef e Borregaard, 2014, Tabor et al., 2017). Entretanto, suspeita-se que os neutrófilos possam destruir a matriz extracelular

facilitando a alimentação do carrapato (Tatchell e Bennett, 1969, Tatchell e Moorhouse, 1970, Tabor et al., 2017).

Em estudo com bovinos susceptíveis e resistentes ao *R. microplus*, Carvalho et al. (2010) observaram que bovinos Holandês apresentaram aumento do número de neutrófilos no local da lesão em relação a bovinos Nelore. Entretanto, não houve diferença entre as raças, indicando que o total de neutrófilos infiltrados não é modulado pelo agravamento da infestação. Este padrão também foi observado em estudo com larvas (Constantinou et al., 2010), carrapatos adultos (Marufu et al., 2014) e larvas e ninfas (Franzin et al., 2017).

Apesar de ser uma célula de defesa, especula-se que os neutrófilos façam parte da dieta de larvas de *R. microplus*, sendo observada sua ingestão dentro de 24 horas após a infestação (Constantinou et al., 2010). Entretanto, em bovinos resistentes, no local da lesão da picada do carrapato é formada uma vesícula intra-epi-dermal que é composta principalmente de neutrófilos que parecem dificultar o processo de alimentação de larvas e ninfas (Jonsson et al., 2014).

Bovinos taurinos respondem rapidamente à inflamação cutânea provocada pela infestação ativando granulócitos com mais intensidade do que zebuínos (Piper et al., 2010, Constantinou et al., 2010). Dos genes resultantes da análise funcional, nenhum foi documentado na literatura como gene candidato à resistência ao carrapato. Apenas a família do CD74 foi documentada em relação a via metabólica de células de defesa T (Tabor et al., 2017, Moré et al., 2019).

O gene candidato SLIT2 atua como mediador em respostas de hipersensibilidade de contato ao inibir células Langerhans resultando em um fator anti-inflamatório inicial em respostas imunes (Guan et al., 2003) e ao inibir a quimiotaxia auxiliando a prevenção de inflamação localizada (Tole et al., 2009).

O gene CSF1R, em estudo com ratos, foi expresso em monócitos e macrófagos e ausente de granulócitos e linfócitos (Grabert et al., 2020). Esse gene é mediador do crescimento e diferenciação de macrófagos e os granulócitos expressam CSF1R mRNA porém não traduzem a sua proteína (Sehgal et al., 2018).

O gene DNM1L é membro da família GTPases e codifica a DRP1 GTPase que possui papel importante no envelhecimento de granulócitos (Lin et al., 2020). O gene CD74 promove respostas quimiotáticas que facilitam a sinalização intracelular

associada à migração de macrófagos (Fan et al., 2011). Conjuntamente com fator inibidor de migração de macrófagos (*Macrophage migration inhibitory factor* – MIF) é induzido o acúmulo de neutrófilos em lesões (Takahashi et al., 2009).

O gene PPARGC1B é relacionado ao aumento de processo inflamatório, sendo documentado em estudos de artrite aguda por gota em humanos (Terkeltaub, 2017, Merriman e Terkeltaub, 2017, Galozzi et al., 2021). O gene GAB2 foi associado a vias de processos inflamatórios (Lee et al., 2011, Kondreddy et al., 2021) e indicado como um gene essencial na resposta de alergias (Gu et al., 2001), sua deficiência promove resistência a endotoxinas e infecções bacterianas (Kondreddy et al., 2021).

Basófilos, eosinófilos, mastócitos e o antígeno-específico IgE são células de defesas comumente encontradas em processos inflamatórios alérgicos (Stone, et al., 2010, Tabor et al., 2017). Reações imediatas de hipersensibilidade são iniciadas e propagadas pela produção do antígeno-específico IgE e sua fixação em receptores FcεRI em mastócitos e basófilos sendo central em doenças alérgicas (Stone, et al., 2010, Kurosaki et al., 2015). Em humanos, o gene IGF1 modula a produção de IgE em células B (Kim, et al., 2003, van Bilsen et al., 2008).

Segundo Carvalho et al., (2010), bovinos resistentes apresentaram diferença apenas para os granulócitos, eosinófilos e basófilos em relação a bovinos susceptíveis, sendo observado aumento destas células nos animais resistentes. Franzin et al. (2017) também observaram o aumento desses granulócitos em bovinos resistentes infestados por ninfas e mastócitos em infestados por larvas. Diferentemente, os autores observaram apenas aumento em eosinófilos em bovinos infestados por larvas e mastócitos em infestados por ninfas.

Em estudo *in vitro* da imunorregulação de macrófagos bovinos por fatores das glândulas salivares de uma cepa holandesa do *R. microplus* em sangue de vacas Hereford, Brake e Pérez de León (2012) observaram que no sangue dos bovinos expostos a extratos das glândulas salivares de carrapato livres de *B. bovis* e *B. bigemina*, obtidas após 2-3 dias de alimentação, a saliva do carrapato podem modular a habilidade de criação de uma resposta imune adequada.

5 Conclusão

Estimativas de herdabilidade e repetibilidade baixas e moderadas foram obtidas para resistência ao *A. marginale* e ao *R. microplus*, respectivamente, indicando que a resistência a estes parasitas são características podem ser inclusas em programas de melhoramento genético animal com obtenção de progresso genético a longo prazo. Entretanto, o fenótipo da contagem de carrapatos e do nível de infecção por *A. marginale* pode não ser bom indicador para seleção devido à baixa correlação genética obtida entre as duas características. Não é possível afirmar o impacto da seleção de uma característica em outra pois a correlação genética entre ambas foi próxima de zero.

As regiões cromossômicas, os genes candidatos e as vias metabólicas contribuíram para a compreensão dos mecanismos biológicos dos parasitas e podem ser informações promissoras para futuros estudos de associação de resistência aos níveis de infecção e infestação por *A. marginale* e por *R. microplus*, respectivamente.

6 Referências

Aguilar I, Legarra A, Cardoso F, Masuda Y, Lourenco D, Misztal I (2019) Frequentist p-values for large-scale-single step genome-wide association, with an application to birth weight in American Angus cattle. **Genetics Selection Evolution** 51:28.

Anand RJ, Dai S, Gripar SC, Richardson W, Kohler JW, Hoffman RA, Branca MF, Li J, Shi XH, Sodhi CP, Hackam DJ (2008) A Role for Connexin43 in Macrophage Phagocytosis and Host Survival after Bacterial Peritoneal Infection. **The Journal of Immunology** 181:8534-8543.

Andreotti R, Barros JC, Garcia MV, Rodrigues V da S, Higa L de OS, Duarte Po, Blecha IMZ, Bonatte-Junior P (2018) Cattle tick infestation in Brangus cattle raised with Nellore in central Brazil. **Semina: Ciências Agrárias** 39:1099-1114.

Araújo FR, Madruga CR, Soares CO, Kessler RH (2003) Progressos na imunização contra *Anaplasma marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 23:139-148.

Ayres DR, Pereira RJ, Boligon AA, Silva FF, Schenkel FS, Roso VM, Albuquerque LG (2013) Linear and Poisson models for genetic evaluation of tick resistance in cross-bred Hereford x Nelore cattle. **Animal Breeding and Genetics** 130:417-424.

Bayer J, Vaghela R, Drechsler S, Osuchowski MF, Erben RG, Andrukhova O (2021) The bone is the major source of high circulating intact fibroblast growth factor-23 in acute murine polymicrobial sepsis induced by cecum ligation puncture. **PLoS One** 16:e0251317.

Bennet GF (1969) *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. **Experimental Parasitology** 26:323-8.

Bianchin I, Catto BJ, Kichel NA, Torres AAR, Honer MR (2007) The effect of the control of endo- and ectoparasites in weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production** 39:287-96.

Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, Fridman WH, Pagès F, Trajanoski Z, Galon J (2009) ClueGo: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. **Bioinformatics** 15:1091-3.

Bishop SC (2012a) Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants in tropical production systems. **Animal** 6:741-747.

Bermingham ML, More SJ, Good M, Cromie AR, Higgins IM, Brotherstone S, Berry DP (2009) Genetics of tuberculosis in Irish Hostein-Friesian dairy herds. **Journal of Dairy Science** 92:3447-3456.

Biegelmeyer P, Gulas-Gomes CC, Roso VM, Dionello NJL, Cardoso FF (2017) Tick resistance genetic parameters and its correlations with production traits in Hereford and Braford cattle. **Livestock Science** 202:96-100.

Borjesson DL, Kobayashi SD, Whitney AR, Voyich JM, Argue CM, DeLeo FR (2005) Insights into Pathogen Immune Evasion Mechanisms: *Anaplasma phagocytophilum* Fails to Induce an Apoptosis Differentiation Program in Human Neutrophils. **The Journal of Immunology** 174:6364-6372.

Boulanger N, Wikel S (2021) Induced transient immune tolerance in ticks and vertebrate host: a keystone of tick-borne diseases? **Frontiers in Immunology** 12:625993.

Brake DK, Pérez de León AA (2012) Immunoregulation of bovine macrophages by factors in the salivary glands of *Rhipicephalus microplus*. **Parasites & Vectors** 14:5-38.

Brites-Neto J, Duarte KM, Martins TF (2015) Tick-borne infections in human and animal population worldwide. **Veterinary World** 8:301-15.

Brotherstone S, White IMS, Coffey M, Downs SH, Mitchell AP, Clifton-Hadley RS, More SJ, Good M, Woolliams JA (2009) Evidence of genetic resistance of cattle to infection with *Mycobacterium bovis*. **Journal of Dairy Science** 93:1234-1242.

Brown WC, Shkap V, Zhu D, McGuire TC, Tuo W, McElwain TF, Palmer GH (1998) CD4+ T-lymphocyte and immunoglobulin G2 responses in calves immunized with *Anaplasma marginale* outer membranes and protected against homologous challenge. **Infection and Immunity** 66:5406-5413.

Budeli MA, Nephawe KA, Norris D, Selapa NW, Bergh L, Maiwashe A (2009) Genetic parameter estimates for tick resistance in Bonsmara cattle. **South African Journal of Animal Science** 39: 321-327.

Burrow HM (2001) Variances and covariances between productive and adaptive traits and temperament in a composite breed of tropical beef cattle. **Livestock Production Science** 70:213–233.

Burrow HM, Mans BJ, Cardoso FF, Birkett MA, Kotze AC, Hayes BJ, Mapholi M, Dzama K, Marufu MC, Githaka NW, Djikeng A (2019) Towards a new phenotype for tick resistance in beef and dairy cattle: a review. **Animal Production Science** 58:1401-1427.

Carvalho WA, Franzin AM, Abatepaulo ARR, de Oliveira CJF, Moré DD, da Silva JS, Ferreira BR, Santos IKFM (2010) Modulation of cutaneous inflammation induced by ticks in contrasting phenotypes of infestation in bovines. **Veterinary Parasitology** 167:260-273.

Cavani L, Braz CU, Giglioti R, Okino CH, Gulas-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira MCS, Cardoso FF, de Oliveira HN (2020a) Genomic Study of *Babesia bovis* Infection Level and Its Association With Tick Count in Hereford and Braford Cattle. **Frontiers in Immunology** 11:1905.

Cavani L, Lopes FB, Giglioti R, Bresolin T, Campos GS, Okino CH, Gulas-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira ACS, Cardoso FF, Rosa GJM, Oliveira HN (2020b) Inferring phenotypic causal networks for tick infestation, *Babesia bovis* infection, and weight gain in Hereford and Braford cattle using structural equation models. **Livestock Science** 238:1-8.

Chiu IM, Heesters BA, Ghasemlou N, Von Hehn CA, Zhao F, Tran J, Wainger B, Strominger A, Muralidharan S, Horswill AR, Blbeck Wardenburg J, Hwang SW, Carroll MC, Woolf CJ (2013) Bacteria activate sensory neurons that modulate pain and inflammation. **Nature** 501:52-7.

Cohen S, Shoshana OY, Zelman-Toister E, Maharshak N, Binsky-Ehrenreich I, Gordin M, Hazan-Halevy I, Herishanu Y, Shvidel L, Haran M, Leng L, Bucala R, Harroch S, Shachar I (2012) The cytokine midkine and its receptor RPTP ζ regulate B cell survival in a pathway induced by CD74. **Journal of Immunology** 188:259-69.

Cohen S, Shachar I (2014) Midkine in B cell survival. **British Journal of Pharmacology**, 171:888-895.

Cohen JA, Wu J, Kaplan DH (2020) Neuronal regulation of cutaneous immunity. **Journal of Immunology** 204:264-270.

Colwell DD, Dantas-Torres F, Otranto D (2011) Vector-borne. Parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. **Veterinary Parasitology** 182:14-21.

Constantinou CC, Jackson LA, Jorgensen WK, Lew-Tabor AE, Piper EK, Mayer DG, Mayer DG, Venus B, Jonsson NN (2010) Local immune response against larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. **International Journal for Parasitology** 40:865-875.

Dantas-Torres F; Chomel BB; Otranto D (2012) Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology** 28:437-446.

David G (2021) **Estudo de associação genômica ampla dos níveis de infestação por carrapato e níveis de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bovinos da raça Angus**. 91f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Unesp, Jaboticabal.

Dudley DDM Chaudhuri J, Bassing CH, Alt FW (2005) Mechanism and control of V(D)J recombination versus class switch recombination: similarities and differences. **Advances in Immunology** 86:43-112.

de la Fuente J, Kocan KM, Blouin EF (2007) Tick vaccines and the transmission of tick-borne pathogens. **Veterinary Research Communications** 31:85-90.

de la Fuente J, Estrada-Pena A, Venzal JM, Kocan KM, Sonenshine DE (2008) Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers in Bioscience** 13:6938-46.

De Meneghi D, Stachurski F, Adakal H (2016) Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. **Frontiers in Public Health** 4:239.

Doeschl-Wilson AB, Villanueva B, Kyriazakis I (2012) The first step toward genetic selection for host tolerance to infectious pathogens: obtaining the tolerance phenotype through group estimates. **Frontiers in Genetics** 3:1-10.

Fan H, Hall P, Santos LL, Gregory JL, Fingerle-Rowson G, Bucala R, Morand EF, Hickey MJ (2011) Macrophage migration inhibitory factor and CD74 regulate macrophage chemotactic responses via MAPK and Rho GTPase. **The Journal of Immunology** 186:4915-4924.

Font-i-Furnols M, Guerrero L (2014) Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science** 98:361-71.

Fitzpatrick EA, Han X, Xiao Z, Quarles LD (2018) Role of Fibroblast Growth Factor-23 in Innate Immune Responses. **Frontiers in Endocrinology** 9.

Fraga AB; Alencar MM; Figueiredo LA; Razook AG; Cyrillo JNSG (2003) Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia** 32:1578-1586.

Frazin AM, Maruyama SR, Garcia GR, Oliveira RP, Ribeiro KMC, Bishop R, Maia AAM, Moré DD, Ferreira BR, Santos IKFM (2017) Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Parasites & Vectors** 10:51.

Galindo RC, Ayllón N, Smrdel KS, Boadella M, Beltrán-Beck B, Mazariegos M, García N, de la Lastra JMP, Avsic-Zupanc T, Kocan KM, Gortazar C, de la Fuente J (2012) Gene expression profile suggests that pigs (*Sus scrofa*) are susceptible to *Anaplasma phagocytophilum* but control infection. **Parasites & Vectors** 5:181.

Gallozzi P, Bindoli S, Doria A, Oliviero F, Sfriso P (2021) Autoinflammatory features in gouty arthritis. **Journal of Clinical Medicine**. 10:1880.

Gasparin G, Miyata M, Coutinho L, Martinez M, Teodoro R, Furlong J, Machado M, Silva M, Sonstegard T, Regitano L (2007) Mapping of quantitative trait loci controlling tick [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*] resistance on bovine chromosomes 5, 7 e 14. **Animal Genetics** 38:453-459.

Geer LY, Marchler-Bauer A, Geer RC, Han L, He J, He S, Liu C, Shi W, Bryan SH (2009) The NCBI BioSystems database. **Nucleic Acids Research** 38:D942-D946.

Gellert M (2001) V(D)J recombination: RAG proteins, repair factors, and regulation. **Annual Review of Biochemistry** 71:101-32.

Geweke J (1992) Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments. In **Bayesian Statistics** 169-193.

Giglioti R, Oliveira HN, Santana CH, Ibelli AMG, Néo TA, Bilhassi TB, Rabelo MD, Machado RZ, Brito LG, Oliveira MCS (2016) *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection levels estimated by qPCR in Angus cattle from an endemic area of São Paulo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases** 7:657-662.

Giglioti R, Oliveira HN, Bilhassi TB, Portilho AI, Okino CH, Marcondes CR, Oliveira MCS (2018) Estimates of repeatability and correlations of hemoparasites infection levels for cattle reared in endemic areas for *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology** 250:78-84.

Gonçalves PM (2000) Epidemiology and control of bovine *babesiosis* and *Anaplasmosis* in shoutheast region of Brazil. **Ciência Rural** 30:187-194.

Grabert K, Sehgal A, Irvine KM, Wollscheid-Lengeling E, Ozdemir DD, Stables J, Luke GA, Ryan MD, Adamson A, Humphreys NE, Sandrock CJ, Rojo R, Verkasalo VA, Mueller W, Hohenstein P, Pettit AR, Pridans C, Hume DA (2020) A Transgenic Line That Reports CSF1R Protein Expression Provides a Definitive Marker for the Mouse Mononuclear Phagocyte System. **The Journal of Immunology** 205:3154-3160.

Gu H, Saito K, Klamann LD, Shen J, Fleming T, Wang YP, Pratt JC, Lin G, Lim B, Kinet JP, Neel BG (2001) Essential role for Gab2 in the allergic response. **Nature** 412:186-190.

Guan H, Zu G, Xie Y, Tang H, Johnson M, Xu X, Kevil C, Xiong WC, Elmets C, Rao Y, Wu JY, Xu H (2003) Neuronal Repellent Slit2 Inhibits Dendritic Cell Migration and the Development of Immune Responses. **The Journal of Immunology** 171:6519-6526.

Guo X, Booth CJ, Paley MA, Wang X, DePonte K, Fikrig E, Narasimhan S, Montgomery RR (2009) Inhibition of neutrophil function by two tick salivary proteins. **Infection and Immunity** 77:2320–2329.

Jiang N, Zhang X, He Y, Luo B, He C, Liang Y, Zeng, Li W, Xian Y, Zheng X (2019) Identification of key protein-coding genes and lncRNAs in spontaneous neutrophil apoptosis. **Scientific Reports** 9:15106.

Jones WE, Kliwer IO, Norman BB, Brock WE (1968) *Anaplasma marginale* infection in young and aged cattle. **American Journal of Veterinary Research**. 29:535–544.

Han S, Norimine J, Palmer GH, Mwangi W, Lahmers KK, Brown WC (2008) Rapid Deletion of Antigen-Specific CD4⁺ T Cells following Infection Represents a Strategy of Immune Evasion and Persistence for *Anaplasma marginale*. **The Journal of Immunology** 181:7759-7769.

Han S, Junzo N, Kelly AB, Guy HP, Glen AS, Wendy CB (2010) *Anaplasma marginale* infection with persistent high-load bacteremia induces a dysfunctional memory CD4⁺ T lymphocyte response but sustained high IgG titers. **Clinical and Vaccine Immunology** 12:1881-1890.

Higa LOS, Garcia MV, Barros JC, Koller WW, Andreotti R (2015) Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A literature overview. **Medicinal Chemistry** 5:326.

Hoang TH, Zhao Y, Lam Y, Piekos S, Han YC, Reilly C, Joshi P, Hong SH, Sung CO, Giardina C, Shin DG (2019) BioTarget: A Computational Framework Identifying Cancer Type Specific Transcriptional Targets of Immune Response Pathways. **Scientific Reports** 9:9029.

Hotteling H (1933) Analysis of a complex of statistical variables into principal components. **Journal of Educational Psychology** 24:417-441.

Howe KL, Achuthan P, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, Azov AG, Bennett R, Bhai J, Billis K, Boddu S, Charkhchi M, Cummins C, Fioretto LDR, Davidson C, Dodiya K, Houdaigui BE, Fatima R, Gall A, Giron CG, Grego T, Guijarro-Clarke C, Haggerty L, Hemrom A, Hourlier T, Izuogu OG, Juettemann T, Kaikala V, Kay M, Lavidas I, Le T, Lemos D, Martinez JG, Marugán JC, Maurel T, McMahon AC, Mohanan S, Moore B, Muffato M, Oheh DN, Paraschas D, Parker A, Parton A, Prosovetskaia I, Sakthivel MP, Salam AIA, Schmitt BM, Schuilenburg H, Sheppard D, Steed E, Szpak M, Szuba M, Taylor K, Thormann A, Threadgold G, Walts B, Winterbottom A, Chakiachvili M, Chaubal A, De Silva N, Flint B, Frankish A, Hunt SE, Iisley GR, Langridge N, Loveland JE, Martin FJ, Mudge JM, Morales J, Perry E, Ruffier M, Tate J, Thybert D, Trevanion SJ, Cunningham F, Yates AD, Zerbino DR, Flicek P (2021) Ensembl 2021. **Nucleic Acids Research**. 49:884–891.

Hu ZL, Park CA, Reecv JM (2021) Bringing the Animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. **Nucleic Acids Research** 24.

Hu ZL, Park CA, Reecv JM (2019) Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. **Nucleic Acids Research** 47:D701-D710.

Hu ZL, Park CA, Reecv JM (2016) Developmental progress and current status of the Animal QTLdb. **Nucleic Acids Research** 44:D827-D833.

Hu ZL, Park CA, Wu XL, Reecv JM (2013) Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. **Nucleic Acids Research** 41:D871-D879.

Hu ZL, Reecv JM (2007) Animal QTLdb: beyond a repository – a public platform for QTL comparisons and integration with diverse types of structural genomic information. **Mammalian Genome** 18:1-4.

Hu ZL, Dracheva S, Jang W, Maglott D, Bastiaansen J, Rothschild MF, Reecv JM (2005) A QTL resource and comparison tool for pigs: PigQTLDB, **Mammalian Genome** 16:792-800.

Jongejan F, Uilenberg G (2004) The global importance of ticks. **Parasitology** 129:S3-14.

Jonsson NN, Piper EK, Constantinou CC (2014) Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Parasite Immunology** 36:553-559.

Kolaczowska E, Kubes P (2013) Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology** 13:159–175.

Kessler RH (2001) Considerações sobre a transmissão da *Anaplamose marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 21:177-179.

Kim JH, Park HH, Lee CE (2003) IGF-1 Potentiation of IL-4-induced CD23/FcεRII Expression in Human B Cells. **Molecules and Cells** 15:307-312.

Kinsella RJ, Kähäri A, Haider S, Zamora J, Proctor G, Spudich G, King-Almeida J, Staines D, Derwent P, Kerhornou A, Kersey P, Flicek P (2011) Ensembl BioMarts: a hub for data retrieval across taxonomic space. **Journal Database**, 2011.

Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Meléndez RD (2003) Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology** 16:698-712.

Kondreddy V, Magisetty J, Keshava S, Rao LVM, Pendurthi UR (2021) Gab2 (Grb2-Associated Binder2) Plays a Crucial Role in Inflammatory Signaling and Endothelial Dysfunction. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology** 41:1987–2005.

Koudstaal D, Kemp DH, Kerr JD (1978) *Boophilus microplus*: rejection of larvae from British breed cattle. **Parasitology** 76:379-86.

Kurosaki T, Kometani K, Ise W (2015) Memory B cells. **Nature Reviews Immunology** 15:149-159.

Lage JF, Paulino PV, Filho SC, Souza EJ, Duarte MS, Benedeti PD, Souza NK, Cox RB (2012) Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. **Meat Science** 90:770-74.

Lahmers KK, Norimine J, Abrahamsen MS, Palmer GH, Brown WC (2005), The CD4⁺ T cell immunodominant *Anaplasma marginale* major surface protein 2 stimulates $\gamma\delta$ T cell clones that express unique T cell receptors. **Journal of Leukocyte Biology** 77:199-208.

Leal-Gutiérrez JD, Mateescu RG (2019) Genetic basis of improving the palatability of beef cattle: current insights. **Food Biotechnology** 33:193-216.

Lee AW, Mao T, Penninger JM, Yu S (2011) Gab2 promotes colony-stimulating Factor 1-Regulated Macrophage Expansion via alternate effectors at different stages of development. **Molecular and Cellular Biology** 31: 4563-4581.

Leliefeld PHC, Koenderman L, Pillay J (2015) How neutrophils shape adaptive immune responses. **Frontiers in Immunology** 6:471.

Lin SG, Ba Z, Alt FW, Zhang Y (2018) Chapter three – RAG chromatin scanning during V(D)J recombination and chromatin loop extrusion are related process. **Advances in Immunology** 139:93-135.

Lin PH, Lin LT, Li CJ, Kao PG, Tsai HW, Chen SN, Wen ZH, Wang PH, Tsui KH (2020) Combining Bioinformatics and Experiments to Identify CREB1 as a Key Regulator in Senescent Granulosa Cells. **Diagnostics** 10:295.

Machado MA, Azevedo ALS, Teodoro RL, Pires MA, Peixoto MGC, de Freitas C, Prata MCA, Furlong J, da Silva MVG, Guimarães SE (2010) Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (*Bos taurus* x *Bos indicus*). **BMC Genomics** 11:1.

Maiorano AM, Giglioti R, Oliveira MCS, Oliveira HN, Cyrillo J, Mercadante MEZ, Silva J (2018) Resistance to the tick *Rhipicephalus microplus* and *Babesia bovis* infection levels in beef heifers raised in an endemic area of São Paulo state, Brazil. **Animal Production Science** 59:938-944

Mapholi N, Maiwashe A, Matika O, Riggio V, Bishop S, MacNeil M, Banga C, Taylor J, Dzama K (2016) Genome-wide association study of tick resistance in South African Nguni cattle. **Ticks and Tick-Borne Diseases** 7:487-497.

Martins KR, Garcia MV, Bonnatte Junior P, Duarte PO, Higa LOS de, Csordas BG, Barros JC, Andreotti R (2020) Correlation between *Rhipicephalus microplus* ticks and *Anaplasma marginale* infection in various cattle breeds in Brazil. **Experimental and Applied Acarology** 81:585-598.

Marufu MC, Dzama K, Chimonyo M (2014) Cellular responses to *Rhipicephalus microplus* infestations in pre-sensitized cattle with differing phenotypes of infestations. **Experimental and Applied Acarology** 62:241-252.

McGovern SP, Purfield DC, Ring SC, Carthy TR, Graham DA, Berry DP (2019) Candidate genes associated with the heritable humoral response to *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in dairy cows have factors in common with gastrointestinal diseases in humans. **Journal of Dairy Science** 102:4249-4263.

Merino O, Alberdi P, Pérez de la Lastra JM, de la Fuente J (2013) Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 3:30.

Merriman T, Terkeltaub R (2017) PPARGC1B: insight into the expression of the gouty inflammation phenotype: PPARGC1B and gouty inflammation. **Rheumatology** 56:323-325.

Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS, Cruvinel WM, Andrade LEC, Silva NP (2010) Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia** 50:552-580.

Misztal I, Tsuruda S, Lourenço D, Aguilar L, Legarra A, Vitezica Z (2018) **Manual for BLUPF90 family of programs**, Athens: University of Georgia, p. 142.

Montgomery RR, Lusitani D, De Boisfleury Chevance A, Malawista SE (2004) Tick saliva reduces adherence and area of human neutrophils. **Infection and Immunity** 72:2989-94.

Mota RR, Lopes PS, Tempelman RJ, Silva FF, Aguilar I, Gomes CCG, Cardoso FF (2016) Genome-enabled prediction for tick resistance in Hereford and Braford beef cattle via reaction norm models. **Journal of Animal Science** 94: 1834–1843.

Mota RR, Silva FF, Lopes OS, Tempelman RJ, Sollero BP, Aguilar I, Cardoso FF (2018) Analyses of reaction norms reveal new chromosome regions associated with tick resistance in cattle. **Animal** 12:205-214.

Mortensen H, Nielsen SS, Berg P (2004) Genetic Variation and Heritability of the Antibody Response to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Danish Holstein Cows. **Journal of Dairy Science** 87:2108-2113.

Nauseef WM, Borregaard N (2014) Neutrophils at work. **Nature Immunology** 15:602-611.

Oetjen IK, Mack MR, Feng J, Whelan TM, Niu H, Guo CJ, Chen S, Trier AM, Xu AZ, Tripathi SV, Luo J, Gao X, Yang L, Hamilton SL, Wang PL, Brestoff JR, Council ML, Brasington R, Schaffer A, Brombacher F, Hsieh CS, Gereau RW 4th, Miller MJ, Chen ZF, Hu H, Davidson S, Liu Q, Kim BS (2017) Sensory Neurons Co-opt Classical Immune Signaling Pathways to Mediate Chronic Itch. **Cell** 171:217-228.e13.

Otto PI, Guimarães SEF, Berdado LL, Azevedo ALS, Vandenplas J, Soares ACC, Sevillano CA, Veroneze R, Pires MFA, Freitas C, Prata MCA, Furlong J, Verneque RS, Martins MF, Panetto JCC, Carvalho WA, Gobo DOR, da Silva MVGB, Machado MA (2018) Genome-wide association studies for tick resistance in *Bos taurus* x *Bos indicus* crossbred cattle: A deeper look into this intricate mechanism. **Journal of Dairy Science** 101:P11020-11032.

Paznekas WA, Boyadjiev SA, Shapiro RE, Daniels O, Wollnik B, Keegan CE, Innis JW, Dinulos MB, Christian C, Hannibal MC, Jabs EW (2003) Connexin 43 (GJA1) Mutations Cause the Pleiotropic Phenotype of Oculodentodigital Dysplasia. **The American Journal of Human Genetics** 72:408-418.

Parola P, Paddock CD, Raoult D (2005) Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical microbiology reviews** 18:719-56.

Peason k (1901) On lines and planes of closest fit to systems of points in space. **Philosophical Magazine** 2:559-572.

Piper, E. K., Jonsson, N. N., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., Moolhuijzen, P., Vance, M. E., et al. (2009). Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Clinical and Vaccine Immunology** 16:1074–1086.

Piper, E. K., Jackson, L. A., Bielefeldt-Ohmann, H., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., and Jonsson, N. N. (2010). Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. **International Journal for Parasitology** 40:865–875.

Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K (2006) CODA: convergence diagnosis and output analysis for MCMC. **R News** 6:7-11.

Quiroz-Castañeda RE, Amaro-Estrada I, Rodríguez-Camarillo SD (2016) *Anaplasma marginale*: Diversity, Virulence, and Vaccine Landscape through a Genomics Approach. **BioMed Research International** 2016:18.

R CORE TEAM (2019). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Råberg L, Sim D, Read AF (2007) Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. **Science** 318:812.

Rehman, A., Nijhof, A.M., Sauter-Louis, C. et al. Distribution of ticks infesting ruminants and risk factors associated with high tick prevalence in livestock farms in the semi-arid and arid agro-ecological zones of Pakistan. **Parasites Vectors** 10, 190.

Riek RF (1962) Studies on the reactions of animals to infestation with ticks. VI. Resistance of cattle infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research** 13:532-550.

Roby TO, Gates DW, Mott LO (1961) The comparative susceptibility of calves and adult cattle to bovine anaplasmosis. **American Journal of Veterinary Research**. 22:982–985.

Romero ARS (2021) **Genomic studies of Babesia bigemina and Anaplasma marginale infection levels in cattle**. 75 f. Tese (Doutorado em Melhoramento Genético Animal) - Unesp, Jaboticabal.

Rosales C (2020) Neutrophils at the crossroads of innate and adaptive immunity. **Journal of Leukocyte Biology** 108:377-396.

Rossaint J, Oehmichen J, Van Aken H, Reuter S, Pavenstädt HJ, Meersch M, Unruh M, Zarbock A (2016) FGF23 signaling impairs neutrophil recruitment and host defense during CKD. **Journal of Clinical Investigation** 126:962-74.

Roy BC, Estrada-Peña A, Krücken J, Rehman A, Nijhof AM (2018) Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. **Ticks and Tick-borne Diseases** 9:1069-1079.

Sargolzaei, M, Chesnais JP, Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics** 15:478.

Sehgal A, Donaldson DS, Pridans C, Sauter KA, Hume DA, Mabbott NA (2018) The role of CSF1R-dependent macrophages in control of the intestinal stem-cell niche. **Nature Communications** 9:1272.

Silva AM, Alencar MM, Regitano LCA, Oliveira MCS, Barioni Júnior W (2007) Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. **Genetics and Molecular Biology** 30:1150-1155.

Silva TF, Alves-Sobrinho AV, Lima IFS de, Ziemniczak HM, Ferraz HT, Lopes DT, Silva VLD da, Braga IA, Saturnino KC, Ramos DG de S (2021) Bovine parasite sadness: Review. **Research, Society and Development** 10:e15410111631

Šimo L, Kazimirova M, Richardson J, Bonnet SI (2017) The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:281.

Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Ideker T (2003) Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interactions networks. **Genome Research** 13:2498-2504.

Schramm R, Thorlacius H (2004) Neutrophil recruitment in mast cell-dependent inflammation: inhibitory mechanisms of glucocorticoids. **Inflammation Research** 53:644–652.

Smith BJ (2007) boa: an R package for MCMC output convergence assessment and posterior inference. **Journal of Statistical Software** 21:1-37.

Smith AL, Scott JNF, Boyes J (2019) The ESC: the dangerous by-product of V(D)J recombination. **Frontiers of Immunology** 10:1572.

Sollero BP, Junqueira VS, Gomes CCG, Caetano R, Cardoso FF (2017) Tag SNP selection for prediction of tick resistance in Brazilian Braford and Hereford cattle breeds using Bayesian methods. **Genetics Selection Evolution** 49:49.

Snowball GJ (1956) The effect of self-licking by cattle on infestations of cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research** 7:227-232.

Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD (2010) IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** 125:S73-S80.

Srikanth S, Jung HJ, Kin KD, Souda P, Whitelegge J, Gwack Y (2010) A novel EF-hand protein, CRACR2A, is a cytosolic Ca²⁺ sensor that stabilizes CRAC channels in T cells. **Nature Cell Biology** 14:436-446.

Tabor AE, Ali A, Rehman G, Garcia GR, Zangirolamo AF, Malardo T, Jonsson NN (2017) Cattle tick *Rhipicephalus microplus* host interface: a review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:506.

Takahashi K, Koga K, Linge HM, Zhang Y, Lin X, Metz CN, Al-Abed Y, Ojamaa K, Miller EJ (2009) Macrophage CD74 contributes to MIF-induced pulmonary inflammation. **Respiratory Research** 10.

Tatchell RJ, Bennett GF (1969) *Boophilus microplus*: antihistaminic and tranquilizing drugs and cattle resistance. **Experimental Parasitology** 26:369-377.

Tatchell RJ, Moorhouse DE (1970) Neutrophils: their role in the formation of a tick feeding lesion. **Science** 167:1002-1003.

Terkeltaub R (2017) What makes gouty inflammation so variable?. **BMC Medicine** 15.

Tittarelli A (2021) Connexin channels modulation in pathophysiology and treatment of immune and inflammatory disorders. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease** 1867:166258.

Tizioto PC, Decker JE, Taylor JF, Schnabel RD, Mudadu MA, Silva FL, Mourão GB, Coutinho LL, Tholon P, Sonstegard TS, Rosa AN, Alencar MM, Tullio RR, Medeiros SR, Nassu RT, Feijó GL, Silva LO, Torres RA, Siqueira F, Higa RH, Regitano LC (2013) Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological Genomics** 45:1012-1020.

Tole S, Mukovozov IM, Huang YW, Magalhaes MAO, Yan M, Crow MR, Liu GY, Sun CX, Durocher Y, Glogauer M, Robinson LA (2009) The axonal repellent, Slit2, inhibits directional migration of circulating neutrophils. **Journal of Leukocyte Biology** 86:1403-1415.

Trier AM, Mack MR, Kim BS (2019) The neuroimmune axis in skin sensation, inflammation, and immunity. **Journal of Immunology** 202:2829-2835.

Trindade HI, Almeida KS, Freitas FLC (2011) Tristeza parasitária bovina – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** n.16.

van Bilsen K, Driessen GJ, de Paus RA, van de Vosse E, van Lom K, van Zelm MC, Lam KH, Hartwig NG, Baarsma GS, van de Burg M, van Hagen PM (2008) Low level IGF-1 and common variable immune deficiency: an unusual combination. **Netherlands Journal of Medicine** 66:368-72.

VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science** 91:4414 - 4423.

VanRaden PM, Can Russell CP, Wiggans GR, Sonstegard TS, Schanabel RD, Taylor JF, Schenkel FS (2009) Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science** 92:16-24.

Veríssimo CJ (2013) Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP** 11:14-23.

Vidotto O, Marana ERM (2001) Diagnosis in bovine Anaplasmosis. **Ciência Rural** 31:361-368.

Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A, Muir WM (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research** 94:73-83.

Wharton RH, Utech KBW (1970) The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (canestrini) (ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. **Journal of the Australian Entomological Society** 9:171-182.

Wilson LA, McKeown L, Tumova S, Li J, Beech DJ (2015) Expression of a long variant of CRACR2A that belongs to the Rab GTPase protein family in endothelial cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 456:398-402.

Wilson SR, Thé L, Batia LM, Beattie K, Katibah GE, McClain SP, Pellegrino M, Estandian DM, Bautista DM (2013) The epithelial cell-derived atopic dermatitis cytokine TSLP activates neurons to induce itch. **Cell** 155:285-295.

Woo JS, Srikanth S, Kim KD, Elsaesser H, Lu J, Pellegrini M, Brooks DG, Sun Z, Gwack Y (2018) CRACR2A-Mediated TCR Signaling Promotes Local Effector Th1 and Th17 Responses. **The Journal of Immunology** 201:1174-1185.

Woolhouse ME, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. **Nature Genetics** 32:569-577.

Wu M, Rice L, Shrimpton J, Lawless D, Walker K, Carter C, McKeown L, Anwar R, Doody GM, Srikanth S, Gwack Y, Savic S (2021) Biallelic mutations in calcium release activated channel regulator 2A (CRACR2A) cause a primary immunodeficiency disorder. **eLife** 10:e72559.

Zhang R, Liu F, Hunt P, Li C, Chang L, Ingham A, Li RW (2019) Transcriptome analysis unraveled potential mechanisms of resistance to *Haemonchus contortus* infection in Merino sheep populations bred for parasite resistance. **Veterinary Research** 50:7.

Tabela Suplementar 1. Informações de Cromossomo (Chr), Posição inicial e final, Tamanho, Identificação Ensemble, Nome e Descrição dos genes na região de 1 Mb das 15 janelas não sobrepostas que apresentam maior porcentagem de variância genética explicada para a resistência ao nível de infecção por *A. marginale*.

Chr	Posição Inicial	Posição final	Tamanho	Identificação Ensemble	Gene	Descrição
11	67091343	67183466	92124	ENSBTAG000000023976	ARHGAP25	Rho GTPase activating protein 25 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26083]
11	67211523	67219184	7662	ENSBTAG000000000992	BMP10	bone morphotic protein 10 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26515]
11	67271674	67278790	7117	ENSBTAG000000038835	GKN3P	gastrokine 3, pseudogene [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:37701]
11	67286584	67291599	5016	ENSBTAG000000017199	GKN2	gastrokine 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29389]
11	67308836	67314682	5847	ENSBTAG000000012949	GKN1	gastrokine 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29388]
11	67359790	67615063	255274	ENSBTAG000000007808	ANTXR1	ANTXR cell adhesion molecule 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25961]
11	67443407	67443736	330	ENSBTAG000000043661	7SK	7SK RNA [Source:RFAM;Acc:RF00100]
11	67708302	67766635	58334	ENSBTAG000000017626	GFPT1	glutamine--fructose-6-phosphate transaminase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29330]
11	67778940	67807964	29025	ENSBTAG000000000141	NFU1	NFU1 iron-sulfur cluster scaffold [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32052]
11	67828491	67990881	162391	ENSBTAG000000009343	AAK1	AP2 associated kinase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25443]
11	68096833	68171538	74706	ENSBTAG000000001105	ANXA4	annexin A4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25966]
14	53573484	53573586	103	ENSBTAG000000042375	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
14	53913681	53913804	124	ENSBTAG000000043367	U5	U5 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00020]
15	52890052	53086176	196125	ENSBTAG000000016497	FAM168A	family with sequence similarity 168 member A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28752]
15	53117190	53136353	19164	ENSBTAG000000009830	PLEKHB1	pleckstrin homology domain containing B1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33009]
15	53150637	53241816	91180	ENSBTAG000000000025	RAB6A	RAB6A, member RAS onco family [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:616537]
15	53257927	53258034	108	ENSBTAG000000042173	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
15	53278739	53333980	55242	ENSBTAG000000008347	MRPL48	mitochondrial ribosomal protein L48 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31643]

15	53342076	53344586	2511	ENSBTAG000000054199	COA4	cytochrome c oxidase assembly factor 4 homolog [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:106696]
15	53344671	53393878	49208	ENSBTAG000000003679	PAAF1	proteasomal ATPase associated factor 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:54890]
15	53393791	53406519	12729	ENSBTAG000000003682	DNAJB13	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B13 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:54630]
15	53409782	53416245	6464	ENSBTAG000000003692	UCP2	uncoupling protein 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36641]
15	53440626	53451256	10631	ENSBTAG000000005259	UCP3	uncoupling protein 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36642]
15	53454345	53526389	72045	ENSBTAG000000002907	C2CD3	C2 domain containing 3 centriole elongation regulator [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26633]
15	53484129	53484226	98	ENSBTAG000000051952	5S_rRNA	5S ribosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00001]
15	53552619	53579820	27202	ENSBTAG000000054229	C2CD3	C2 domain containing 3 centriole elongation regulator [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:768315]
15	53554001	53555073	1073	ENSBTAG000000049655	-	-
15	53580198	53629168	48971	ENSBTAG000000027612	PPME1	protein phosphatase methylesterase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33218]
15	53640849	53681795	40947	ENSBTAG000000006579	P4HA3	prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32537]
15	53690341	53690661	321	ENSBTAG000000027610	-	-
15	53707096	53759583	52488	ENSBTAG000000000770	PGM2L1	phosphoglucomutase 2 like 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32795]
15	53734157	53734263	107	ENSBTAG000000054292	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
15	53809296	53809595	300	ENSBTAG000000011873	KCNE3	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30438]
15	53838026	53839967	1942	ENSBTAG000000008227	LIPT2	lipoyl(octanoyl) transferase 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:54633]
15	53909173	53953518	44346	ENSBTAG000000016869	POLD3	DNA polymerase delta 3, accessory subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33115]
16	738761	790141	51381	ENSBTAG000000015885	PPFIA4	PTPRF interativo proteína alfa 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33192]
16	797547	800444	2898	ENSBTAG000000006030	MYOG	miogenina [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31837]
16	818146	818352	207	ENSBTAG000000049875	-	-
16	819140	819436	297	ENSBTAG000000048925	-	-
16	820704	820967	264	ENSBTAG000000050274	-	-

16	856979	857082	104	ENSBTAG00000044402	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
16	915106	956850	41745	ENSBTAG00000011461	ADORA1	receptor de adenosina A1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25686]
16	957169	965458	8290	ENSBTAG00000011465	MYBPH	proteína de ligação de miosina H [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31782]
16	968434	978542	10109	ENSBTAG00000018223	CHI3L1	chitinase 3 like 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:55039]
16	1013899	1049309	35411	ENSBTAG00000051203	-	-
16	1073887	1076004	2118	ENSBTAG00000054445	-	-
16	1087323	1089347	2025	ENSBTAG00000015711	BTG2	Fator anti-proliferação BTG 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26598]
16	1122157	1132658	10502	ENSBTAG00000014912	FMOD	fibromodulina [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29054]
16	1238615	1252736	14122	ENSBTAG00000017834	PRELP	proline e arginina rica em proteína de repetição leucina final [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33309]
16	1257070	1266500	9431	ENSBTAG00000013764	OPTC	opticina [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32441]
16	1257586	1257686	101	ENSBTAG00000043823	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
16	1400155	1497069	96915	ENSBTAG00000014059	ATP2B4	ATPase membrana de plasma Ca ²⁺ transportando 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:97243]
16	1510252	1518304	8053	ENSBTAG00000012349	LAX1	adaptador linfocitário transmembrana 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30802]
16	1529947	1531800	1854	ENSBTAG00000053471	-	-
16	1581030	1588613	7584	ENSBTAG00000050748	-	-
16	1596039	1623678	27640	ENSBTAG00000017352	ZC3H11A	zinc finger CCCH-type containing 11A [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:529699]
16	1624495	1625414	920	ENSBTAG00000050925	-	-
16	1635960	1640051	4092	ENSBTAG00000050130	SNRPE	pequeno polipéptido de ribonucleoproteína nuclear E [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:531493]
16	1644724	1647223	2500	ENSBTAG00000052913	-	-
19	12299125	12359979	60855	ENSBTAG00000009427	PPM1D	proteína fosfatase, Mg ²⁺ /Mn ²⁺ dependente 1D [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33210]
19	12448418	12504606	56189	ENSBTAG00000004489	APPBP2	proteína beta amiloide de ligação proteica 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26039]
19	12521668	12532887	11220	ENSBTAG00000018391	C19H17orf64	cromossomo 19 C17orf64 homólogo [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:52656]
19	12541822	12542451	630	ENSBTAG00000034433	-	-

19	12577140	12778987	201848	ENSBTAG00000020089	USP32	ubiquitina-peptidase específica 32 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36722]
19	12677241	12677342	102	ENSBTAG00000043422	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
19	12803073	12811847	8775	ENSBTAG00000017969	CA4	carbonic anhydrase 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26654]
19	12843752	12850362	6611	ENSBTAG00000012672	ZNHIT3	zinc finger HIT-type containing 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:37360]
19	12850548	12884004	33457	ENSBTAG00000012675	MYO19	myosin XIX [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31815]
19	12852860	12852989	130	ENSBTAG00000043093	-	-
19	12884510	12887667	3158	ENSBTAG00000034396	PIGW	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class W [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32881]
19	12895739	12928293	32555	ENSBTAG00000010290	GGNBP2	gametotin binding protein 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29342]
19	12930324	12940525	10202	ENSBTAG00000010297	DHRS11	dehydrogenase/reductase 11 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28040]
19	12941110	12950393	9284	ENSBTAG00000010311	MRM1	mitochondrial rRNA methyltransferase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31605]
19	13214920	13216355	1436	ENSBTAG00000000560	-	-
19	13281471	13292529	11059	ENSBTAG000000050755	-	-
19	13301089	13307764	6676	ENSBTAG00000033562	LHX1	LIM homeobox 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30871]
19	13312212	13420345	108134	ENSBTAG00000021927	AATF	apoptosis antagonizing transcription factor [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25452]
20	71006062	71048066	42005	ENSBTAG00000000944	LPCAT1	lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30961]
20	71063361	71096031	32671	ENSBTAG00000015843	SLC6A3	solute carrier family 6 member 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:106935]
20	71117460	71129901	12442	ENSBTAG00000001329	CLPTM1L	CLPTM1 like [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:27461]
20	71145309	71162695	17387	ENSBTAG00000012567	TERT	telomerase reverse transcriptase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35751]
20	71165516	71181851	16336	ENSBTAG00000012559	SLC6A18	solute carrier family 6 member 18 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:26441]
20	71183646	71199637	15992	ENSBTAG00000045695	SLC6A19	solute carrier family 6 member 19 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34919]
20	71209078	71217400	8323	ENSBTAG00000053495	-	-
20	71262838	71281273	18436	ENSBTAG00000049547	-	-
20	71263673	71263724	52	ENSBTAG00000050343	bta-mir-12015	bta-mir-12015 [Source:miRBase;Acc:MI0038415]

20	71281294	71301030	19737	ENSBTAG00000006775	SLC12A7	solute carrier family 12 member 7 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34670]
20	71307541	71311025	3485	ENSBTAG00000034435	NKD2	NKD inhibitor of WNT signaling pathway 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:59353]
20	71345242	71346375	1134	ENSBTAG000000049710	-	-
20	71375341	71390362	15022	ENSBTAG00000006972	TRIP13	thyroid hormone receptor interactor 13 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36359]
20	71390369	71408924	18556	ENSBTAG00000006971	BRD9	bromodomain containing 9 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26561]
20	71418203	71427876	9674	ENSBTAG000000054687	-	-
20	71459727	71466584	6858	ENSBTAG000000052982	-	-
20	71467623	71488177	20555	ENSBTAG000000052247	TPPP	tubulin polymerization promoting protein [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36258]
20	71491866	71529187	37322	ENSBTAG000000011405	CEP72	centrosomal protein 72 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:27212]
20	71607452	71645487	38036	ENSBTAG000000004629	SLC9A3	solute carrier family 9 member A3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34940]
20	71649687	71674393	24707	ENSBTAG000000008606	EXOC3	exocyst complex component 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28645]
20	71681786	71694743	12958	ENSBTAG000000026527	-	-
20	71700951	71766988	66038	ENSBTAG000000052375	AHRR	aryl-hydrocarbon receptor repressor [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:529500]
20	71745894	71746002	109	ENSBTAG000000045056	5S_rRNA	5S ribosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00001]
20	71780646	71796533	15888	ENSBTAG000000046493	PDCD6	programmed cell death 6 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32663]
20	71804557	71827899	23343	ENSBTAG000000046019	SDHA	succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34388]
20	71824870	71853183	28314	ENSBTAG000000045954	LRRRC14B	leucine rich repeat containing 14B [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31000]
20	71828109	71843714	15606	ENSBTAG000000047780	CCDC127	coiled-coil domain containing 127 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26843]
20	71836212	71836325	114	ENSBTAG000000046206	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
20	71902799	71910531	7733	ENSBTAG000000055240	-	-
20	71927027	71928602	1576	ENSBTAG000000048135	-	-
20	71943352	71965884	22533	ENSBTAG000000047700	-	-
20	71944313	71950871	6559	ENSBTAG000000047632	-	-
24	27152147	27152233	87	ENSBTAG000000044228	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
24	27202155	27234182	32028	ENSBTAG000000048556	-	-

27	2152161	2922753	770593	ENSBTAG00000009739	CSMD1	CUB and Sushi multiple domains 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:59330]
27	2817289	2817392	104	ENSBTAG00000044498	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
4	86627249	86627801	553	ENSBTAG00000009823	-	-
4	86715415	86718421	3007	ENSBTAG00000005103	FEZF1	FEZ family zinc finger 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28959]
4	86734600	87314496	579897	ENSBTAG00000005110	CADPS2	calcium dependent secretion activator 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26699]
4	80159127	80928936	769810	ENSBTAG00000032121	SUGCT	succinyl-CoA:glutarate-CoA transferase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35462]
4	86165950	86166290	341	ENSBTAG00000044925	7SK	7SK RNA [Source:RFAM;Acc:RF00100]
4	86301179	86510240	209062	ENSBTAG00000012119	PTPRZ1	protein tyrosine phosphatase receptor type Z1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33560]
4	86516905	86594679	77775	ENSBTAG00000012128	AASS	aminoadipate-semialdehyde synthase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25451]
5	66136704	66143243	6540	ENSBTAG00000051413	-	-
5	66191602	66264083	72482	ENSBTAG00000011082	IGF1	insulin like growth factor 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30076]
5	66303685	66307480	3796	ENSBTAG00000049055	-	-
5	66324838	66324944	107	ENSBTAG00000053574	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
5	66523921	66524026	106	ENSBTAG00000051771	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
5	66613984	66732963	118980	ENSBTAG00000012794	PAH	phenylalanine hydroxylase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32554]
5	66733093	66733752	660	ENSBTAG00000016227	ASCL1	achaete-scute family bHLH transcription factor 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26206]
5	66733773	66735275	1503	ENSBTAG00000052521	-	-
5	66797572	66797735	164	ENSBTAG00000036562	U1	U1 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00003]
5	1,06E+08	1,06E+08	12014	ENSBTAG00000006800	FGF6	fibroblast growth factor 6 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28981]
5	1,06E+08	1,06E+08	9120	ENSBTAG00000030343	FGF23	fibroblast growth factor 23 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28978]
5	1,06E+08	1,06E+08	14968	ENSBTAG00000016650	TIGAR	TP53 induced glycolysis regulatory phosphatase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35863]
5	1,06E+08	1,06E+08	23674	ENSBTAG00000016649	CCND2	cyclin D2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26963]

5	1,06E+08	1,06E+08	33709	ENSBTAG00000000275	PARP11	poly(ADP-ribose) polymerase family member 11 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:49073]
5	1,06E+08	1,06E+08	152221	ENSBTAG00000018940	CRACR2A	calcium release activated channel regulator 2A [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:28657]
5	1,06E+08	1,06E+08	70957	ENSBTAG00000009447	PRMT8	protein arginine methyltransferase 8 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33353]
5	1,06E+08	1,07E+08	64736	ENSBTAG00000020699	TSPAN11	tetraspanin 11 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36426]
5	1,07E+08	1,07E+08	192736	ENSBTAG00000049163	TSPAN9	tetraspanin 9 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36443]
7	56942188	57021301	79114	ENSBTAG00000044169	PRELID2	PRELI domain containing 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33307]
7	57065186	57086707	21522	ENSBTAG00000035966	GRXCR2	glutaredoxin and cysteine rich domain containing 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29670]
7	57146803	57275413	128611	ENSBTAG00000006762	SH3RF2	SH3 domain containing ring finger 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34580]
7	57296638	57317430	20793	ENSBTAG00000044067	PLAC8L1	PLAC8 like 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32969]
7	57327431	57397980	70550	ENSBTAG00000006765	LARS1	leucyl-tRNA synthetase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30795]
7	57417458	57475501	58044	ENSBTAG00000011642	RBM27	RNA binding motif protein 27 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:516521]
7	53810968	54280637	469670	ENSBTAG00000027151	ARHGAP26	Rho GTPase activating protein 26 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26084]
7	54344785	54463486	118702	ENSBTAG00000019472	NR3C1	nuclear receptor subfamily 3 group C member 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32243]
7	54705927	54721082	15156	ENSBTAG00000050636	-	-
9	29748660	29761667	13008	ENSBTAG00000001835	GJA1	gap junction protein alpha 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29370]
9	29808048	29808154	107	ENSBTAG000000051494	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
9	29816336	30021574	205239	ENSBTAG00000009575	TBC1D32	TBC1 domain family member 32 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35643]
9	29836295	29836376	82	ENSBTAG000000053243	bta-mir-12063	bta-mir-12063 [Source:miRBase;Acc:MI0038496]
9	29917071	29917197	127	ENSBTAG00000044764	-	-

Tabela Suplementar 2. Informações de Cromossomo (Crom), Posição inicial e final, Tamanho (Tam), Faixa de DNA, Identificação Ensemble, Nome e Descrição dos genes na região de 1 Mb das 15 janelas não sobrepostas que apresentam maior porcentagem de variância genética explicada para a resistência ao nível de infecção por *R. microplus*.

Chr	Posição Inicial	Posição final	Tamanho	Identificação Ensemble	Gene	Descrição
1	1,49E+08	1,49E+08	10577	ENSBTAG00000051916	RIPPLY3	rippy transcriptional repressor 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33986]
1	1,49E+08	1,49E+08	107	ENSBTAG00000043298	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
1	1,49E+08	1,49E+08	16507	ENSBTAG00000055107	PIGP	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class P [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:767951]
1	1,49E+08	1,49E+08	118569	ENSBTAG00000008167	TTC3	tetratricopeptide repeat domain 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36469]
1	1,49E+08	1,49E+08	34308	ENSBTAG00000004791	VPS26C	VPS26 endosomal protein sorting factor C [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28218]
1	1,5E+08	1,5E+08	143776	ENSBTAG00000001771	DYRK1A	dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28279]
1	1,5E+08	1,5E+08	326853	ENSBTAG00000037616	KCNJ6	potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 6 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:53585]
14	74134334	74134573	240	ENSBTAG00000048920	-	-
14	74381958	74776968	395011	ENSBTAG00000006877	MMP16	matrix metalloproteinase 16 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31521]
15	72569685	72570340	656	ENSBTAG00000051591	-	-
16	18892333	19815906	923574	ENSBTAG00000006188	USH2A	usherin [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36706]
16	19907145	20149352	242208	ENSBTAG00000010392	ESRRG	estrogen related receptor gamma [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28610]
16	19928659	19928717	59	ENSBTAG00000054762	bta-mir-2285bm	bta-mir-2285bm [Source:miRBase;Acc:MI0038348]
16	20388581	20399097	10517	ENSBTAG00000050133	-	-
16	53480364	53480419	56	ENSBTAG00000053019	bta-mir-2285cz	bta-mir-2285cz [Source:miRBase;Acc:MI0038431]
16	53601131	53601187	57	ENSBTAG00000049922	bta-mir-2285cv-2	bta-mir-2285cv-2 [Source:miRBase;Acc:MI0038425]
16	53788899	53921908	133010	ENSBTAG00000020552	PRDM2	PR/SET domain 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33295]
27	6432007	6503305	71299	ENSBTAG00000052422	-	-
27	6475376	6477354	1979	ENSBTAG00000023157	-	-
27	6511471	6511939	469	ENSBTAG00000049025	-	-

27	6568466	6568934	469	ENSBTAG00000053555	-	-
27	6576606	6577718	1113	ENSBTAG00000053327	-	-
27	6596422	6598413	1992	ENSBTAG00000048737	DEFB10	beta-defensin 10 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:100141457]
27	6610757	6610927	171	ENSBTAG00000053326	-	-
27	6640557	6642230	1674	ENSBTAG00000050575	-	-
27	6676076	6678281	2206	ENSBTAG00000051383	DEFB7	defensin beta 7 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:768320]
27	6721625	6723684	2060	ENSBTAG00000052312	DEFB1	beta-defensin 1 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:100297617]
27	6733857	6734326	470	ENSBTAG00000050693	-	-
27	6764467	6773396	8930	ENSBTAG00000052384	-	-
27	6840547	6841492	946	ENSBTAG00000050605	-	-
27	6855327	6856946	1620	ENSBTAG00000053456	-	-
27	6895181	6897002	1822	ENSBTAG00000053405	-	-
27	6933034	6937656	4623	ENSBTAG00000049891	-	-
27	6956381	6964235	7855	ENSBTAG00000045649	DEFB	defensin, beta [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:768318]
27	6962171	6964146	1976	ENSBTAG00000051241	-	-
27	6999901	7002317	2417	ENSBTAG00000050893	-	-
27	7049840	7051263	1424	ENSBTAG00000049265	-	-
27	7110505	7110973	469	ENSBTAG00000051016	-	-
27	7138873	7140876	2004	ENSBTAG00000053557	DEFB4A	defensin, beta 4A [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:286836]
27	7165176	7180420	15245	ENSBTAG00000033545	EBD	enteric beta-defensin [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:281743]
27	7197805	7208759	10955	ENSBTAG00000053028	-	-
27	7220613	7228081	7469	ENSBTAG00000053057	-	-
27	7242644	7246187	3544	ENSBTAG00000052180	-	-
27	7246447	7248447	2001	ENSBTAG00000054366	-	-
27	7272744	7275810	3067	ENSBTAG00000054169	-	-
27	7284085	7289116	5032	ENSBTAG00000055303	-	-
27	7349169	7491747	142579	ENSBTAG00000004231	GPM6A	glycoprotein M6A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:97275]
27	7631348	7701071	69724	ENSBTAG00000014135	WDR17	WD repeat domain 17 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36884]
27	7702924	7711887	8964	ENSBTAG00000014141	SPATA4	spermatosis associated 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35184]
27	7720264	7761066	40803	ENSBTAG00000014143	ASB5	ankyrin repeat and SOCS box containing 5 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26198]
29	17454198	17591609	137412	ENSBTAG00000039943	NARS2	asparaginyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:49559]

29	17610531	17792365	181835	ENSBTAG00000002922	GAB2	GRB2 associated binding protein 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:14458]
29	17795927	17853459	57533	ENSBTAG00000012944	USP35	ubiquitin specific peptidase 35 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36725]
29	17828416	17829325	910	ENSBTAG000000051637	-	-
29	17860450	17881531	21082	ENSBTAG000000054429	KCTD21	potassium channel tetramerization domain containing 21 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30511]
29	17878424	17879107	684	ENSBTAG000000045601	-	-
29	17944119	17972248	28130	ENSBTAG00000018192	ALG8	ALG8 alpha-1,3-glucosyltransferase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25831]
29	17978587	17987849	9263	ENSBTAG00000018188	NDUFC2	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit C2 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:338046]
29	17989041	17994955	5915	ENSBTAG00000011666	THRSP	thyroid hormone responsive [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35848]
29	18019943	18026164	6222	ENSBTAG00000011668	KCTD14	potassium channel tetramerization domain containing 14 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:58384]
29	18041194	18149447	108254	ENSBTAG00000010505	INTS4	integrator complex subunit 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:30230]
29	18154938	18188910	33973	ENSBTAG00000017298	AAMDC	adiposis associated Mth938 domain containing [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:25444]
29	18188931	18332349	143419	ENSBTAG00000020268	RSF1	remodeling and spacing factor 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34178]
29	18287169	18287630	462	ENSBTAG000000049245	-	-
29	18299775	18301277	1503	ENSBTAG000000051290	-	-
29	18349101	18369616	20516	ENSBTAG00000019930	CLNS1A	chloride nucleotide-sensitive channel 1A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:27455]
29	18381661	18393534	11874	ENSBTAG00000019928	AQP11	aquaporin 11 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26045]
29	18424152	18427390	3239	ENSBTAG000000009268	-	-
29	18521064	18682812	161749	ENSBTAG00000010191	PAK1	p21 (RAC1) activated kinase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:53657]
5	76301501	76417740	116240	ENSBTAG000000000606	SYT10	synaptotagmin 10 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35536]
5	77001511	77154610	153100	ENSBTAG000000002651	PKP2	plakophilin 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32950]
5	77131742	77158404	26663	ENSBTAG00000011399	YARS2	tyrosyl-tRNA synthetase 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:37016]
5	77144456	77205083	60628	ENSBTAG00000011395	DNM1L	dynamitin 1 like [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:28142]
6	23435894	23437433	1540	ENSBTAG000000050777	-	-

6	23444708	23767842	323135	ENSBTAG00000016005	PPP3CA	protein phosphatase 3 catalytic subunit alpha [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33265]
6	23769129	23769392	264	ENSBTAG00000054325	-	-
6	24210505	24332244	121740	ENSBTAG00000034206	EMCN	endomucin [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:53710]
6	24287037	24287212	176	ENSBTAG00000045025	U1	U1 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00003]
6	24393370	24446810	53441	ENSBTAG00000054716	-	-
6	39779895	40182890	402996	ENSBTAG00000005108	SLIT2	slit guidance ligand 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34960]
6	40087130	40087239	110	ENSBTAG00000029783	bta-mir-218-1	bta-mir-218-1 [Source:miRBase;Acc:MI0009780]
7	61073587	61186881	113295	ENSBTAG00000012943	PPARGC1B	PPARG coactivator 1 beta [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33185]
7	61195051	61269840	74790	ENSBTAG00000012945	PDE6A	phosphodiesterase 6A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32679]
7	61294681	61300835	6155	ENSBTAG00000014615	SLC26A2	solute carrier family 26 member 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34777]
7	61322505	61379912	57408	ENSBTAG00000012768	HMGXB3	HMG-box containing 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:29882]
7	61380054	61411558	31505	ENSBTAG00000012771	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:27754]
7	61474501	61511284	36784	ENSBTAG00000002804	PDGFRB	platelet derived growth factor receptor beta [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:32693]
7	61521982	61539126	17145	ENSBTAG00000012014	CDX1	caudal type homeobox 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:106683]
7	61545949	61566540	20592	ENSBTAG00000000910	SLC6A7	solute carrier family 6 member 7 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:34923]
7	61562578	61562738	161	ENSBTAG00000029055	U1	U1 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00003]
7	61574371	61640274	65904	ENSBTAG00000020087	CAMK2A	calcium/calmodulin dependent protein kinase II alpha [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26721]
7	61647116	61653431	6316	ENSBTAG00000012834	ARSI	arylsulfatase family member I [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:26177]
7	61702373	61702481	109	ENSBTAG00000043927	5S rRNA	5S ribosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00001]
7	61708261	61746787	38527	ENSBTAG00000015224	TCOF1	treacle ribosome biogenesis factor 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35700]
7	61747923	61755685	7763	ENSBTAG00000015228	CD74	CD74 molecule [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:52227]
7	61760781	61778862	18082	ENSBTAG00000008570	RPS14	ribosomal protein S14 [Source:NCBI gene (formerly Entrezgene);Acc:282050]

7	61814759	61899464	84706	ENSBTAG00000001692	NDST1	N-deacetylase and N-sulfotransferase 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31942]
7	61885747	61885828	82	ENSBTAG000000045418	bta-mir-2461	bta-mir-2461 [Source:miRBase;Acc:MI0011521]
7	61971868	62026834	54967	ENSBTAG000000013744	SYNPO	synaptopodin [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:35530]
7	62030519	62047672	17154	ENSBTAG000000025136	MYOZ3	myozenin 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:31842]
7	62050494	62050611	118	ENSBTAG000000043848	5S_rRNA	5S ribosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00001]
7	62054328	62064514	10187	ENSBTAG000000030366	RBM22	RNA binding motif protein 22 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:33792]
7	62060887	62060946	60	ENSBTAG000000053108	bta-mir-11992	bta-mir-11992 [Source:miRBase;Acc:MI0038356]
7	62073639	62106751	33113	ENSBTAG000000015625	DCTN4	dynactin subunit 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:27931]
7	62077274	62077461	188	ENSBTAG000000043747	U2	U2 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00004]
8	1,04E+08	1,04E+08	102699	ENSBTAG000000000575	TNC	tenascin C [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:36152]
8	1,05E+08	1,05E+08	107	ENSBTAG000000055139	U6	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]
8	1,05E+08	1,05E+08	83	ENSBTAG000000044523	5S_rRNA	5S ribosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00001]

Tabela Suplementar 3. Informações de Cromossomo (Chr), Tipo, Posição inicial e final, Identificação (ID), Nome, Marcadores Flanqueados, Significância, Valor de p (Valor P) e Valor de Bayes (Valor B) de QTLs na região de 1 Mb das 15 janelas não sobrepostas que apresentam maior porcentagem de variância genética explicada para a resistência ao nível de infecção por *A. marginale*

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
9	RA	29755685	29755689	107115	Conception rate	rs29017499	S	7.84E-04	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
9	EA	29866885	29866889	220039	Temperament	rs385265013	S	<0.05	-
9	EA	29898520	29898524	220040	Temperament	rs377930383	S	<0.05	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
9	MQTL	39792929	24615119	3737	Milk yield	BMS555	-	-	-
9	MQTL	45406266	24615119	3738	Milk yield	UWCA9	-	-	-
9	RQTL	70439207	0	3565	Inseminations per conception	TGLA73	-	<0.05	-
9	RQTL	70439207	0	3566	Non-return rate	TGLA73	-	<0.001	-
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003	-
7	HQTL	53974896	53974900	220830	Bovine respiratory	rs111027184	GW	Significant	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
					disease susceptibility				
7	HA	53974896	53974900	221413	Bovine respiratory disease susceptibility	rs111027184	CW	Significant	-
7	MCQTL	53874712	54111043	224088	Subcutaneous fat	-	S	-	-
7	HA	54243362	54243366	14847	M. paratuberculosis susceptibility	rs29025316	CW	Significant	-
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003	-
7	MA	53838067	53838071	157587	Milking speed	rs109801512	S	<0.05	-
7	MA	53888445	53888449	157588	Milking speed	rs110766567	S	<0.05	-
7	MA	53909227	53909231	157589	Milking speed	rs109565627	S	<0.05	-
7	MA	54265115	54265119	157590	Milking speed	rs109841778	S	<0.05	-
7	MCA	53909227	53909231	36912	Lean meat yield	rs109565627	EW	Significant	-
7	RA	53909227	53909231	43056	Calving ease (maternal)	rs109565627	S	<0.05	-
7	RA	53909227	53909231	43057	Daughter pregnancy rate	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43058	Foot angle	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43059	Feet and leg conformation	rs109565627	S	<0.05	-
7	MA	53909227	53909231	43060	Milk fat percentage	rs109565627	M	Genome-wise	-
7	PA	53909227	53909231	43061	PTA type	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43062	Udder attachment	rs109565627	S	<0.05	-
7	MA	53909227	53909231	43063	Milk fat yield	rs109565627	M	Genome-wise	-
7	PA	53909227	53909231	43064	Net merit	rs109565627	S	<0.05	-
7	PA	53909227	53909231	43065	Length of productive life	rs109565627	S	<0.05	-
7	MA	53909227	53909231	43066	Milk protein yield	rs109565627	M	Genome-wise	-
7	EA	53909227	53909231	43067	Rear leg placement - rear view	rs109565627	S	<0.05	-
7	RA	53909227	53909231	43068	Calving ease	rs109565627	S	<0.05	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
7	HA	53909227	53909231	43069	Somatic cell score	rs109565627	M	Genome-wise	-
7	RA	53909227	53909231	43070	Stillbirth	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43071	Stature	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43072	Strength	rs109565627	S	<0.05	-
7	EA	53909227	53909231	43073	Udder depth	rs109565627	S	<0.05	-
7	MA	53930715	53930719	20148	Milk profitability index	rs29024901	S	<0.05	-
7	MA	53930715	53930719	20149	Milk protein percentage	rs29024901	G	Mendelian	-
7	MA	54204793	54204797	113626	Milk kappa-casein percentage	rs137786914	M	Experiment-wise	-
7	PA	54265115	54265119	43074	Body depth	rs109841778	S	<0.05	-
7	RA	54265115	54265119	43075	Calving ease (maternal)	rs109841778	S	<0.05	-
7	EA	54265115	54265119	43076	Foot angle	rs109841778	S	<0.05	-
7	MA	54265115	54265119	43077	Milk fat percentage	rs109841778	M	Genome-wise	-
7	PA	54265115	54265119	43078	PTA type	rs109841778	S	<0.05	-
7	EA	54265115	54265119	43079	Udder attachment	rs109841778	S	<0.05	-
7	MA	54265115	54265119	43080	Milk fat yield	rs109841778	M	Genome-wise	-
7	MA	54265115	54265119	43081	Milk yield	rs109841778	GW	Significant	-
7	PA	54265115	54265119	43082	Net merit	rs109841778	S	<0.05	-
7	PA	54265115	54265119	43083	Length of productive life	rs109841778	S	<0.05	-
7	MA	54265115	54265119	43084	Milk protein percentage	rs109841778	M	Genome-wise	-
7	MA	54265115	54265119	43085	Milk protein yield	rs109841778	M	Genome-wise	-
7	EA	54265115	54265119	43086	Rear leg placement - rear view	rs109841778	S	<0.05	-
7	RA	54265115	54265119	43087	Calving ease	rs109841778	S	<0.05	-
7	RA	54265115	54265119	43088	Stillbirth	rs109841778	S	<0.05	-
7	EA	54265115	54265119	43089	Stature	rs109841778	S	<0.05	-
7	EA	54265115	54265119	43090	Strength	rs109841778	S	<0.05	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
7	MQTL	53887330	54050699	4723	Milk yield	BM9065	CW	Suggestive	-
7	MQTL	53887330	54050699	4783	Milk protein percentage	BM9065	M	Comparison-wise	-
7	EA	54444471	54444475	221782	White line disease	rs132809629 rs132809629 rs132809629	S	-	>1000
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003	-
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003	-
11	PA	67856555	67856559	68404	Body weight (yearling)	rs41569395	EW	Significant	-
11	PA	67856555	67856559	164683	Body weight (yearling)	rs41569395	EW	-	-
11	PA	67889138	67889142	164470	Average daily gain	rs109180881	EW	-	-
11	MA	67989504	67989508	111607	Milk kappa-casein percentage	rs135798303	M	Experiment-wise	-
11	MA	67971594	67971598	34446	Milk fat percentage	rs109013204	M	Experiment-wise	-
11	EQTL	99136427	22148369	3447	Rump angle	BMS2208	S	0.007	-
15	MA	53457475	53457479	174256	Milk fat yield	rs136037857	M	Genome-wise	-
15	MA	53480937	53480941	174257	Milk fat yield	rs41768440	M	Genome-wise	-
5	PA	105732914	105732918	167542	Thurl width	rs135992016	S	5,88E-10	-
5	MA	105732914	105732918	157409	Milking speed	rs135992016	S	<0.05	-
5	PA	105732914	105732918	185237	Average daily gain	rs135992016	GW	-	-
5	PA	105733855	105733859	184434	Average daily gain	rs110166215	GW	-	-
5	PA	105740048	105740052	164654	Average daily gain	rs41654528	EW	-	-
5	PA	105740048	105740052	131045	Average daily gain	rs41654528	CW	Significant	-
5	PA	105740048	105740052	24713	Body weight (weaning)	rs109969273 rs41654528 rs110912524	GW	-	-
5	PA	105740048	105740052	24782	Body weight (yearling)	rs109969273 rs41654528 rs110912524	GW	-	-
5	PA	105740048	105740052	24525	Body weight (birth)	rs109969273 rs41654528	GW	-	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
						rs110912524			
5	MA	105765994	105765998	157410	Milking speed	rs134894306	S	<0.05	-
5	MA	105769733	105769737	157411	Milking speed	rs109351328	S	<0.05	-
5	MA	105771328	105771332	157412	Milking speed	rs132862617	S	<0.05	-
5	PA	105771803	105771807	186487	Metabolic body weight	rs109091027	S	-	-
5	PA	105770265	105770269	184962	Average daily gain	rs133723415	GW	-	-
5	PA	105779366	105779370	184876	Average daily gain	rs132971729	GW	-	-
5	PA	105773807	105773811	184196	Average daily gain	rs109676906	GW	-	-
5	PA	105774276	105774280	184264	Average daily gain	rs109801371	GW	-	-
5	PA	105776078	105776082	184522	Average daily gain	rs110358394	GW	-	-
5	PA	105778775	105778779	184554	Average daily gain	rs110421124	GW	-	-
5	PA	105778519	105778523	186602	Metabolic body weight	rs109263271	S	-	-
5	PA	105776473	105776477	185228	Average daily gain	rs135928140	GW	-	-
5	PA	105773380	105773384	185280	Average daily gain	rs136376855	GW	-	-
5	PA	105772195	105772199	185354	Average daily gain	rs136968819	GW	-	-
5	PA	105773807	105773811	186861	Metabolic body weight	rs109676906	S	-	-
5	PA	105774276	105774280	186942	Metabolic body weight	rs109801371	S	-	-
5	PA	105776078	105776082	187307	Metabolic body weight	rs110358394	S	-	-
5	PA	105779366	105779370	187839	Metabolic body weight	rs132971729	S	-	-
5	PA	105778142	105778146	188153	Metabolic body weight	rs134608333	S	-	-
5	PA	105778775	105778779	187353	Metabolic body weight	rs110421124	S	-	-
5	PA	105776473	105776477	188383	Metabolic body weight	rs135928140	S	-	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
5	PA	105773380	105773384	188456	Metabolic body weight	rs136376855	S	-	-
5	PA	105772195	105772199	188563	Metabolic body weight	rs136968819	S	-	-
5	PA	105780256	105780260	188586	Metabolic body weight	rs137128821	S	-	-
5	PA	105778519	105778523	184016	Average daily gain	rs109263271	GW	-	-
5	MA	105779366	105779370	157413	Milking speed	rs132971729	S	<0.05	-
5	EA	105773807	105773811	154109	Stature	rs109676906	S	<0.05	-
5	EA	105773807	105773811	154365	Stature	rs109676906	S	<0.05	-
5	EA	105773807	105773811	154366	Stature	rs109676906	S	<0.05	-
5	EA	105766071	105766075	147126	Stature	rs109685956	S	<0.05	-
5	PA	105766071	105766075	131017	Average daily gain	rs109685956	CW	Significant	-
5	PA	105771328	105771332	131018	Average daily gain	rs132862617	CW	Significant	-
5	PA	105773807	105773811	131038	Average daily gain	rs109676906	CW	Significant	-
5	PA	105779366	105779370	131039	Average daily gain	rs132971729	CW	Significant	-
5	PA	105778775	105778779	131040	Average daily gain	rs110421124	CW	Significant	-
5	PA	105776473	105776477	131043	Average daily gain	rs135928140	CW	Significant	-
5	PQTL	105771328	105771332	56473	Average daily gain	rs135296291 rs132862617 rs137324049	EW	Significant	-
5	PA	105778775	105778779	24682	Body weight (mature)	rs109969273 rs110421124 rs110912524	GW	-	-
5	MA	106221773	106221777	175854	Milk fat yield	rs109420150	M	Genome-wise	-
5	MA	106221773	106221777	175944	Milk yield	rs109420150	GW	Significant	-
5	MA	106260195	106260199	174098	Milk fat yield	rs135773515	M	Genome-wise	-
5	MA	106260195	106260199	173563	Milk fat percentage	rs135773515	M	Genome-wise	-
5	RA	106216379	106216383	176997	Conception rate	rs133551295	S	2.16E-8	-
5	HA	106251530	106251534	96237	Bovine tuberculosis susceptibility	rs135931150	EW	-	12.44

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
5	HA	106287961	106287965	57592	Bovine respiratory disease susceptibility	rs110805649	EW	Significant	-
5	MA	106371372	106371376	175873	Milk fat yield	rs136458794	M	Genome-wise	-
5	MA	106371372	106371376	175965	Milk yield	rs136458794	GW	Significant	-
5	MA	106486726	106486730	175974	Milk yield	rs110912524	GW	Significant	-
5	PA	106540438	106540442	67091	Body weight gain	rs109944456	S	<0.01	-
5	MA	106574858	106574862	125220	Lactation persistency	rs110884668	S	<0.05	-
5	PA	106650674	106650678	67106	Body weight (yearling)	rs110696931	EW	Significant	-
5	PA	106650674	106650678	67107	Body weight gain	rs110696931	S	<0.05	-
5	PA	106650674	106650678	67108	Body weight gain	rs110696931	S	<0.01	-
5	PA	106676637	106676641	67082	Body weight (yearling)	rs109640670	EW	Significant	-
5	PA	106676637	106676641	67083	Body weight (yearling)	rs109640670	EW	Significant	-
5	PA	106676637	106676641	67084	Body weight gain	rs109640670	S	<0.05	-
5	PA	106676637	106676641	67085	Body weight gain	rs109640670	S	<0.01	-
15	MA	53839561	53839565	47913	Milk fat yield	rs110290383	M	Genome-wise	-
15	MA	53839561	53839565	47914	Milk yield	rs110290383	GW	Significant	-
15	PA	53839561	53839565	47915	Net merit	rs110290383	S	<0.05	-
15	PA	53839561	53839565	47916	Length of productive life	rs110290383	S	<0.05	-
15	MA	53839561	53839565	47917	Milk protein yield	rs110290383	M	Genome-wise	-
15	PA	53839561	53839565	47918	Rump width	rs110290383	S	<0.05	-
15	RA	53839561	53839565	47919	Calving ease	rs110290383	S	<0.05	-
15	RA	53839561	53839565	47920	Stillbirth	rs110290383	S	<0.05	-
15	MA	53909771	53909775	174259	Milk fat yield	rs41632781	M	Genome-wise	-
15	MA	53929579	53929583	174260	Milk fat yield	rs109710748	M	Genome-wise	-
15	MA	53949796	53949800	174261	Milk fat yield	rs41770950	M	Genome-wise	-

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P	Valor B
15	RA	53945332	53945336	212800	Inseminations per conception	rs41770954	S	<0.03	-
15	RA	53945332	53945336	212290	First service conception	rs41770954	S	<0.03	-
20	PA	71927866	71927870	130827	Metabolic body weight	rs137601998	S	7.51E-10	-

Legenda: **Tipo QTL**: PA: Production_Association, MA: Milk_Association, EA: Exterior_Association, RQTL: Reproduction_QTL, RA: Reproduction_Association, MQTL: Milk_QTL, HA: Health_Association, EQTL: Exterior_QTL, HQTL: Health_QTL, MCA: Meat_and_Carcass_Association, MCQTL: Meat_and_Carcass_QTL, PQTL: Production_QTL. **Significância**: CW: Comparison-wise, EW: Experiment-wise, G: Genome, GW: Genome-wise, M: Mendelian, S: Significant.

Tabela Suplementar 4. Informações de Cromossomo (Chr), Tipo, Posição inicial e final, Identificação (ID), Nome, Marcadores Flanqueados, Significância, Valor de p (Valor P) e Valor de Bayes (Valor B) de QTLs na região de 1 Mb das 15 janelas não sobrepostas que apresentam maior porcentagem de variância genética explicada para a resistência ao nível de infecção por *R. microplus*.

Chr	Tipo QTL	Posição Inicial (bp)	Posição Final (bp)	ID	Nome	FlankMarker	Significância	Valor P
8	PA	1,04E+08	1,04E+08	68017	Body weight gain	rs43576950	S	<0.05
8	MCA	1,04E+08	1,04E+08	15245	Intramuscular fat	rs110739003	M	Significant
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	EA	61219755	61219759	160841	Laminitis	rs43515516	S	0.0076
7	EA	61234321	61234325	160843	Laminitis	rs43516276	S	0.0061
7	MA	61269562	61269566	157631	Milking speed	rs210429527	S	<0.05
7	EA	61208196	61208200	122481	Hoof and leg disorders	rs134625127	S	<0.05
7	RA	61219755	61219759	15447	Gestation length	rs43515516	M	Significant
7	RA	61219755	61219759	15448	Gestation length	rs43515516	M	Significant
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MA	61327466	61327470	157633	Milking speed	rs41595440	S	<0.05
7	RA	61353051	61353055	212617	Inseminations per conception	rs43518018	S	<0.03
7	MA	61357232	61357236	157634	Milking speed	rs43517994	S	<0.05
7	EA	61327466	61327470	125933	Foot angle	rs41595440	S	<0.05
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MA	61386614	61386618	157635	Milking speed	rs43518636	S	<0.05
7	RA	61386614	61386618	120254	Semen volume	rs43518636	CW	Significant
7	RA	61386614	61386618	65809	Semen volume	rs43518636	CW	Significant
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MA	61497595	61497599	157636	Milking speed	rs41594309	S	<0.05
7	MA	61506225	61506229	157637	Milking speed	rs43519041	S	<0.05
7	MA	61506225	61506229	157638	Milking speed	rs43519041	S	<0.05
7	PA	61497595	61497599	67889	Body weight (yearling)	rs41594309	EW	Significant
7	RA	61497595	61497599	43174	Calving ease (maternal)	rs41594309	S	<0.05
7	EA	61497595	61497599	43175	Foot angle	rs41594309	S	<0.05
7	EA	61497595	61497599	43176	Feet and leg conformation	rs41594309	S	<0.05
7	MA	61497595	61497599	43177	Milk fat percentage	rs41594309	M	Genome-wise
7	MA	61497595	61497599	43178	Milk fat yield	rs41594309	M	Genome-wise
7	PA	61497595	61497599	43179	Net merit	rs41594309	S	<0.05

7	PA	61497595	61497599	43180	Length of productive life	rs41594309	S	<0.05
7	MA	61497595	61497599	43181	Milk protein percentage	rs41594309	M	Genome-wise
7	MA	61497595	61497599	43182	Milk protein yield	rs41594309	M	Genome-wise
7	EA	61497595	61497599	43183	Rear leg placement - rear view	rs41594309	S	<0.05
7	RA	61497595	61497599	43184	Calving ease	rs41594309	S	<0.05
7	HA	61497595	61497599	43185	Somatic cell score	rs41594309	M	Genome-wise
7	RA	61497595	61497599	43186	Stillbirth	rs41594309	S	<0.05
7	EA	61497595	61497599	43187	Strength	rs41594309	S	<0.05
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MA	61546859	61546863	157640	Milking speed	rs43520350	S	<0.05
7	MA	61553201	61553205	157641	Milking speed	rs210791382	S	<0.05
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	EA	61648110	61648114	154135	Stature	rs447362502	S	<0.05
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RA	61815777	61815781	29807	Age at puberty	rs109282497	CW	Significant
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MA	61996769	61996773	112687	Milk kappa-casein percentage	rs137720135	M	Experiment-wise
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	MCA	62055291	62055295	157129	Marbling score	rs41568570	CHRW	Significant
7	MA	62055291	62055295	157642	Milking speed	rs41568570	S	<0.05
7	MA	62055291	62055295	157643	Milking speed	rs41568570	S	<0.05
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
7	RQTL	63052342	42582181	4656	Stillbirth	BMS2258	S	0.003
27	RA	7658886	7658890	53300	Calving ease (maternal)	rs41647361	S	<0.05
27	EA	7658886	7658890	53301	Foot angle	rs41647361	S	<0.05
27	MA	7658886	7658890	53302	Milk fat percentage	rs41647361	M	Genome-wise

27	MA	7658886	7658890	53303	Milk fat yield	rs41647361	M	Genome-wise
27	MA	7658886	7658890	53304	Milk yield	rs41647361	GW	Significant
27	PA	7658886	7658890	53305	Net merit	rs41647361	S	<0.05
27	PA	7658886	7658890	53306	Length of productive life	rs41647361	S	<0.05
27	MA	7658886	7658890	53307	Milk protein percentage	rs41647361	M	Genome-wise
27	MA	7658886	7658890	53308	Milk protein yield	rs41647361	M	Genome-wise
27	EA	7658886	7658890	53309	Rear leg placement - rear view	rs41647361	S	<0.05
27	EA	7658886	7658890	53310	Rear leg placement - side view	rs41647361	S	<0.05
27	RA	7658886	7658890	53311	Calving ease	rs41647361	S	<0.05
27	RA	7658886	7658890	53312	Stillbirth	rs41647361	S	<0.05
27	RA	7734065	7734069	53313	Calving ease (maternal)	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53314	Dairy form	rs41647378	S	<0.05
27	RA	7734065	7734069	53315	Daughter pregnancy rate	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53316	Foot angle	rs41647378	S	<0.05
27	MA	7734065	7734069	53317	Milk fat percentage	rs41647378	M	Genome-wise
27	MA	7734065	7734069	53318	Milk fat yield	rs41647378	M	Genome-wise
27	MA	7734065	7734069	53319	Milk yield	rs41647378	GW	Significant
27	PA	7734065	7734069	53320	Net merit	rs41647378	S	<0.05
27	PA	7734065	7734069	53321	Length of productive life	rs41647378	S	<0.05
27	MA	7734065	7734069	53322	Milk protein percentage	rs41647378	M	Genome-wise
27	MA	7734065	7734069	53323	Milk protein yield	rs41647378	M	Genome-wise
27	EA	7734065	7734069	53324	Rump angle	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53325	Rear leg placement - side view	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53326	Teat placement - rear	rs41647378	S	<0.05
27	RA	7734065	7734069	53327	Calving ease	rs41647378	S	<0.05
27	RA	7734065	7734069	53328	Stillbirth	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53329	Strength	rs41647378	S	<0.05
27	EA	7734065	7734069	53330	Udder cleft	rs41647378	S	<0.05
27	RA	7734065	7734069	15285	Non-return rate	rs41647378	S	6.77E-05

Legenda: **Tipo QTL**: MA: Milk_Association, RQTL: Reproduction_QTL, EA: Exterior_Association, RA: Reproduction_Association, PA: Production_Association, MCA: Meat_and_Carcass_Association, HA: Health_Association. **Significância**: CHRW: Chromosome-wise, CW: Comparison-wise, EW: Experiment-wise, GW: Genome-wise, M: Mendelian, S: Significant.

CAPÍTULO 3 – RESILIÊNCIA GENÉTICA AO *Rhipicephalus microplus* EM BOVINOS DA RAÇA ANGUS

RESUMO – Animais resilientes são capazes de manter sua produção apesar do nível patogênico a que estão expostos. O *Rhipicephalus microplus* é um ectoparasita que se alimenta de bovinos, sendo os taurinos os mais comprometidos pela sua parasitose. Neste trabalho, objetiva-se estimar a resiliência de bovinos Angus ao *R. microplus*. Foram utilizados dados genotípicos, fenotípicos e de pedigree de 526 animais provenientes de fazendas participantes do programa de melhoramento genético Conexão Delta G localizado no Rio Grande do Sul. Os grupos de contemporâneos (GCs) foram definidos por fazenda, ano e estação de nascimento, grupo de manejo e coleta. As amostras de sangue dos animais foram genotipadas ou imputadas para 150k. Após o controle de qualidade restaram 72.622 marcadores. Utilizou-se modelo uni-característico para obter as estimativas dos GCs que foram utilizadas no modelo de Normas de Reação para estimar a variável latente de resiliência. As estimativas de herdabilidade para o ganho de peso pós-desmama sobre o gradiente de resiliência variaram de 0,198 até 0,393, com valores menores observados nos ambientes intermediários. Na validação cruzada da análise de seleção genômica o ssBLUP obteve-se melhores resultados do que o BLUP. Realizou-se um estudo de GWAS e análise funcional identificando as rotas metabólicas significativas: “resposta celular ao Interferon alfa”, “resposta a vírus”, “processo catabólico do rRNA”, “ligação de colágeno envolvida na adesão de matriz celular”, “regulação da atividade de endopeptídeos do tipo cisteína envolvidos no processo apoptótico”. A seleção para resiliência ao carrapato é uma característica que poderá ser implementada em programas de melhoramento genético; entretanto por ser uma característica latente, devem ser realizados estudos sobre resistência e tolerância afim de otimizar a aplicação da resiliência.

Palavras-chave: Normas de Reação, *Bos taurus*, *Rhipicephalus microplus*

CHAPTER 3 – GENETIC RESILIENCE TO *Rhipicephalus microplus* IN ANGUS CATTLE

ABSTRACT – Resilient animals can maintain their production despite the pathogen level to which they are exposed. *Rhipicephalus microplus* is an ectoparasite that feeds on cattle, being the *Bos taurus* the most compromised by its parasitosis. In this study, the objective was to estimate the resilience of Angus cattle to *R. microplus*. Genotypic, phenotypic and pedigree data from 526 animals from farms participating in the genetic improvement program Conexão Delta G located in Rio Grande do Sul were used. The groups of contemporaries (CGs) were defined by farm, year and season of birth, management group and collection. Blood samples from the animals were genotyped or imputed for 150k. After quality control 72,622 markers remained. We used a single trait model to obtain the estimates of GCs which were used in the Reaction Norms model to estimate the latent trait of resilience. Heritability estimates for postweaning weight gain over the resilience gradient ranged from 0.198 to 0.393, with lower values observed in the intermediate environments. In cross-validation of the genomic selection analysis, ssBLUP obtained better results than BLUP. We performed a GWAS study and functional analysis identifying the significant metabolic pathways: “cellular response to Interferon-alpha”, “response to viruses”, “rRNA catabolic process”, “collagen-binding involved in cell-matrix adhesion”, “regulation of cysteine-like endopeptidase activity involved in the apoptotic process”. The selection for tick resilience is a trait that can be implemented in breeding programs; however, because it is a latent trait, studies on resistance and tolerance should be conducted to optimize the application of resilience.

Keywords: Reaction Norms, *Bos taurus*, *Rhipicephalus microplus*

1 INTRODUÇÃO

Em regiões tropicais, bovinos de origem europeia são utilizados principalmente em sistemas de cruzamentos ou para desenvolvimento de novas raças. Entretanto, animais taurinos puros e seus cruzamentos são mais susceptíveis a diversos parasitas, com destaque para o carrapato *Rhipicephalus microplus*. Além dos efeitos diretos sobre os animais, o carrapato é o vetor de agentes etiológicos da Tristeza Parasitária Bovina (*Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale*), uma das doenças que mais afetam os rebanhos bovinos criados em condições tropicais (Vidotto e Marana, 2001; Trindade et al., 2011).

Em geral, o controle do carrapato é realizado pela aplicação de produtos químicos e pode apresentar falhas se não for adequadamente executado. A consequência mais comum é o desenvolvimento de resistência dos parasitas aos princípios ativos dos carrapaticidas (Kocan et al., 2003; Merino et al., 2011; Dantas-Torres et al., 2012). Alternativas têm sido propostas à utilização de produtos químicos, como utilizar o mérito genético do animal para limitar sua ação. Como resposta a uma infestação, o animal acometido poderá diminuir a carga parasitária (resistência) ou suprimir os danos que o patógeno causa em seu organismo (tolerância) ou, apesar da gravidade da carga patogênica e do dano infligido, ser capaz de manter seu desempenho (resiliência) (Bisset et al., 1996; Raberg et al., 2007; Rashidi, 2016).

A resiliência é uma função da resistência e tolerância (Knap e Doeschl-Wilson, 2020; Mulder, 2016), sendo muitas vezes utilizada em estudos até mesmo sem a distinção entre resistência e tolerância (Rashidi, 2016). Embora muitos trabalhos tenham sido desenvolvidos sobre a resistência ao carrapato (*R. microplus*) não foi possível encontrar estudos sobre a resiliência a esse parasita pois é uma característica pouco estudada. Assim, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estimar parâmetros genéticos para resiliência de animais da raça Angus ao carrapato, incluindo análise dos efeitos da inclusão de informações genômicas na estimação do mérito genético dos animais e a prospecção de genes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Banco de dados fenotípico e genotípico

Os registros fenotípicos utilizados para a realização deste estudo consistiram em informações de infestação de carrapatos e ganho de peso diário pós desmama de 526 fêmeas Angus, oriundas de duas propriedades localizadas no Rio Grande do Sul e pertencentes ao programa de melhoramento genético Conexão Delta G.

Foram realizadas duas contagens dos carrapatos (CC) durante o ano de 2014, considerando as fêmeas ingurgitadas com tamanho mínimo de 4,5 mm e máximo de 8 mm em um dos lados do animal, seguindo procedimento proposto por Wharton e Utech (1970). Após a primeira coleta foi administrada a medicação Ripercol conjuntamente com o banho Amitraz. A segunda coleta foi realizada no mínimo 41 dias após a aplicação do tratamento, para que não houvesse interferência de efeito residual do tratamento à exposição natural dos animais aos carrapatos.

Para a formação do banco de genótipos, foi utilizado o painel de genotipagem *Gene Seek™ Genomic Profiler Bovine, da Illumina®* e o controle de qualidade foi realizado utilizando o pacote SNPStats, disponível no software R (Clayton, 2019; R Core Team, 2019). Foram mantidos marcadores SNPs localizados em cromossomos autossômicos e que apresentaram valores de *call rate* superior a 0,98, frequência do menor alelo (MAF) maior que 0,03 e valores maiores que 10^{-7} para Hardy-Weinberg (H-W). Marcadores documentados com a mesma posição no mapa genético foram retirados da análise restando 72.622 marcadores no arquivo de genótipos.

2.2 Estimação dos componentes de variância e parâmetros genéticos

Para o estudo da resiliência ao carrapato, foi adotada a abordagem descrita em diversos estudos com doenças e distúrbios metabólicos (Araujo Neto et al., 2021; Mulder e Rashidi, 2017), que consiste na aplicação de um modelo de normas de reação linear, sendo que os valores genéticos para o parâmetro de inclinação (b_{res}) podem ser utilizados como critério de resiliência. Assim, o primeiro ponto consiste na criação de um gradiente ambiental baseado no nível de infestação de carrapatos. Para

esta finalidade, uma análise genética uni-característica da contagem de carrapatos em escala logarítmica (logaritmo base 10 contagem de carrapatos mais 1,0) foi realizada, seguindo o modelo:

$$y = Xb + Zs + Wp + \varepsilon$$

onde, y é o vetor dos valores fenotípicos; b , s , p e ε , representam nesta ordem, os efeitos fixos de grupos de contemporâneos (GC_p), formados por fazenda, ano e estação de nascimento, grupo de manejo e coleta, valores genéticos, ambiente permanente e resíduo; X , Z e W são matrizes de incidência que associam os vetores b , s e p às observações, respectivamente. Posteriormente, utilizando as soluções dos GC_p's obtida na análise uni-característica, foi construído o gradiente ambiental (GA) para a análise de resiliência para o ganho de peso pós-desmama. Considerando que nessa análise os grupos de contemporâneos incluem o efeito de coleta (gerando dois grupos para cada animal), foi calculada a média dos grupos e a normalização entre -1 e +1.

O passo seguinte consistiu em um modelo de regressão aleatória de primeira ordem, considerando o ganho de peso pós-desmama como características resposta. Assim, matricialmente, podemos definir o modelo utilizado como:

$$y = X\beta + Zs + \varepsilon.$$

onde,

$$[y \ s \ \varepsilon]' = [X\beta \ 0 \ 0]'$$

$$V[s \ \varepsilon]' = \text{diag}[K_s \otimes G \ R]$$

em que y é o vetor de observações da característica ganho de peso pós-desmama; β é o vetor de efeitos fixos (grupos de contemporâneos para ganho de peso formados por fazenda, ano, estação de nascimento e data de pesagem), s é o vetor de coeficientes aleatórios de animal (intercepto e inclinação); X e Z representam as

matrizes de incidência associadas aos efeitos fixos e genéticos, respectivamente; ε o vetor de resíduos; K_s é a matriz de coeficientes da função de (co)variância do efeito animal, G é a matriz de parentesco e R é a matriz identidade diagonal das variâncias residuais.

A estimativa de variância genética aditiva dos níveis do GA foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\hat{\sigma}_{a_{GA_m}}^2 = \phi_m K_s \phi_m'$$

em que, ϕ_m é a matriz composta de intercepto e os coeficientes normalizados do gradiente ambiental e K_s é a matriz de (co)variância do efeito genético animal estimado onde

$$K_s = \begin{bmatrix} \sigma_{int}^2 & \sigma_{int,slope} \\ \sigma_{int,slope} & \sigma_{slope}^2 \end{bmatrix},$$

sendo σ_{int}^2 a variância do intercepto, $\sigma_{int,slope}$ a covariância entre intercepto e angulação e σ_{slope}^2 a variância da inclinação do modelo.

Animais com rápida recuperação dos sintomas (ou capazes de manter seu desempenho produtivo) durante a infestação ou infecção são considerados resilientes. Estatisticamente, significa que para classificar os animais como resilientes é necessário analisar o seu mérito genético pelos GAs. Indivíduos com valores genéticos negativos não foram considerados como resilientes (Kause e Ødegård, 2012).

2.3 Análises Genômicas para resiliência

A partir dos componentes de variância estimados, foi investigado o efeito da inclusão de informações genômicas na avaliação genética para a resiliência, utilizando o programa BLUPF90 (Miszta et al., 2018). Além da análise utilizando o modelo tradicional (baseada apenas no pedigree - BLUP), foi adotado o método GBLUP de passo único (ssGBLUP), proposto por Aguilar et al. (2010) e Legarra et al. (2009).

Neste método, é utilizada uma matriz que combina informações de genótipos e pedigree, sendo que sua inversa pode ser descrita da seguinte forma:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

em que A_{22}^{-1} corresponde à inversa da matriz de parentesco dos animais genotipados. A matriz G foi estimada utilizando a formulação proposta por VanRaden (2008):

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum_{i=1}^M (p_i(1 - p_i))},$$

em que, Z é a matriz de valores médios das frequências alélicas centrados em zero, M é o total de marcadores e p_i é a frequência alélica do i-ésimo marcador.

Para avaliar a habilidade de predição dos modelos BLUP tradicional e ssGBLUP para b_{res} , foi utilizada a metodologia de validação cruzada semi-paramétrica (LR) proposta por Legarra e Reverter (2018), de acordo com os procedimentos descritos a seguir:

- a) realizar uma amostragem dos animais, sendo que os registros fenótipos serão excluídos da análise. Assim, foram realizadas análises genéticas com o banco completo e para o banco parcial (considerando as mesmas estimativas de componentes de variância obtidos);
- b) Cálculo da correlação entre valores genéticos e genômicos, estimados utilizando ambos os bancos de dados (r_{wp}). Os EBVs/GEBVs utilizados para este cálculo são apenas dos animais da amostragem;
- c) Cálculo do coeficiente de regressão entre os valores genéticos e genômicos, estimados utilizando ambos os bancos de dados (b_{wp}). Os EBVs/GEBVs utilizados para este cálculo são apenas dos animais da amostragem. Este parâmetro está relacionado com a dispersão dos valores genéticos/genômicos estimados.

Os procedimentos foram repetidos 20 vezes para os métodos BLUP e ssGBLUP, sendo que foram utilizadas diferentes taxas de amostragem (10, 25 e 50%) e dois diferentes procedimentos de amostragem: a) completamente aleatória e; b) condicional aos grupos de contemporâneos.

2.4 Análise de associação genômica e funcional

Utilizando o modelo ssGBLUP, também foi realizado um estudo de associação genômica e funcional para o parâmetro de resiliência (b_{res}), utilizando janelas com 10 marcadores SNPs. Foram selecionadas às 15 janelas não sobrepostas que explicavam a maior proporção da variância genética aditiva, para a identificação de possíveis genes.

Para a identificação dos genes foi utilizada a ferramenta Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>) em conjunto com BioMart tool (Kinsella et al., 2011) e tendo como referência a sequência para espécie *Bos taurus* ARS-UCD 1.2 (Geer et al., 2009). Dispondo da lista de genes, foi realizada análise funcional, empregando o pacote ClueGo (Bindea et al., 2009) disponível para o programa Cytoscape (Shannon et al., 2003). Para esta finalidade foram considerados a base de ontologia de Genes (Go) para processos de sistema imune e biológicos com os seguintes parâmetros: Kappa Score superior a 0,5; especificidade de Network global; sem mínimo de tamanho de cluster; foram considerados significativos valores de p corrigidos pelo teste de *Boferroni step down* abaixo do nível de significância de 0,05.

Para complementar a identificação dos genes foram utilizadas as bases de dados *Cattle Quantitative Trait Locus Database* (Cattle QTLdb) (ARS_UCD1.2 em formato gff) obtida do site www.animalgenome.org (Hu et al., 2005, Hu e Reecv, 2007, Hu et al., 2013, Hu et al., 2016, Hu et al., 2019, Hu et al., 2021), *Bos Taurus Gene annotation* (ARS_UCD1.2) obtida do site https://www.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index (Howe KL et al., 2021) conjuntamente com o pacote GALLO (Fonseca et al., 2020) do software R (R Core Team, 2019).

3 RESULTADOS

3.1 Estimativas de parâmetros genéticos

As estimativas de herdabilidade para o ganho de peso pós-desmama sobre o gradiente de resiliência variou de 0,198 até 0,393, com menores valores em ambientes intermediários (Figura 1a). A estimativas de correlação genética entre os ambientes extremos foi próxima à zero (-0,09), indicando que a angulação da norma é um indicador de resiliência (Figura 1b). Provavelmente devido ao pequeno número de observações para o estudo de normas, os intervalos de confiança dos parâmetros apresentaram grande amplitude (dados não mostrados).

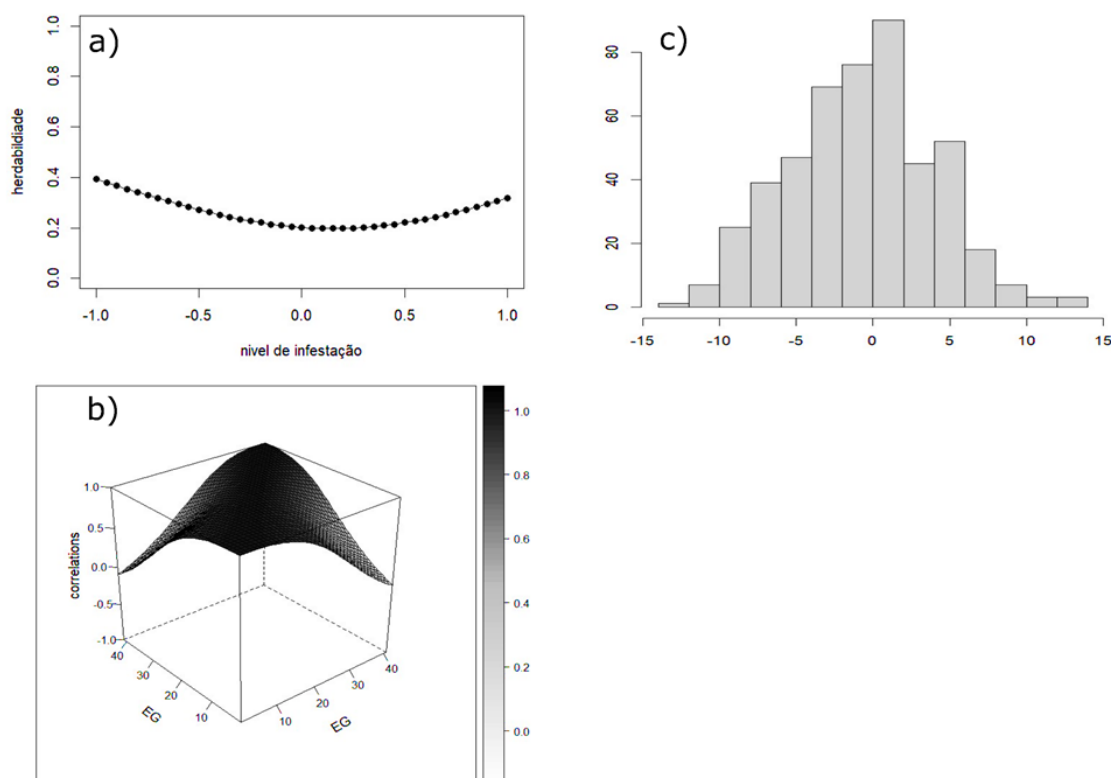


Figura 1. Estimativas de herdabilidade (a), correlação genética (b) considerando os gradientes ambientais relacionados ao nível de infestação de carrapatos e (c) a distribuição dos valores genéticos estimados para resiliência (coeficiente de inclinação), considerando acurácia superior a 0,35

3.2 Seleção genômica para resiliência ao carrapato

A aplicação da metodologia de validação cruzada semi-paramétrica proposta por Legarra e Reverter (2018) permitiu verificar que as correlações obtidas a partir de valores genéticos estimados usando informações genômicas foram maiores do que quando estimados usando apenas a matriz de parentesco médio, independentemente da taxa de amostragem (10, 25 e 50%) ou se a amostragem foi completamente aleatória ou condicional aos grupos de contemporâneos (Tabela 1). Não foram verificadas diferenças nas estimativas entre os tipos de amostragem, sendo que uma tendência de crescimento da correlação pode ser verificada, em relação inversa à taxa de amostragem. Com relação ao parâmetro de dispersão, numericamente, o ssGBLUP apresentou valores inferiores aos do método tradicional, sendo as maiores diferenças verificadas com uma taxa de 25% de amostragem (Tabela 1).

Tabela 1. Estimativas de parâmetros do método LR, utilizando diferentes cenários de amostragem e métodos baseados em BLUP tradicional (BLUP) e genômico (ssBLUP).

Taxa	Condicional				Completamente Aleatório			
	Correlação		Dispersão		Correlação		Dispersão	
	ssBLUP	BLUP	ssBLUP	BLUP	ssBLU	BLUP	ssBLU	BLUP
					P		P	
10%	0,643	0,575	0,989	1,011	0,664	0,601	1,018	1,029
25%	0,605	0,548	0,969	1,021	0,596	0,538	0,964	1,025
50%	0,542	0,475	1,013	1,051	0,528	0,471	1,016	1,054

3.3 Prospecção de regiões genômicas de importância para resiliência

Na análise de associação genômica realizada neste estudo, foi verificada a ocorrência de janelas genômicas de interesse nos cromossomos 1, 3, 6, 7, 9, 12, 15, 20, 22, 24 e 26 (Figura 2). Estas janelas explicaram de 0,18% a 0,58% da variância genética aditiva, sendo que no total representaram 3,94%.

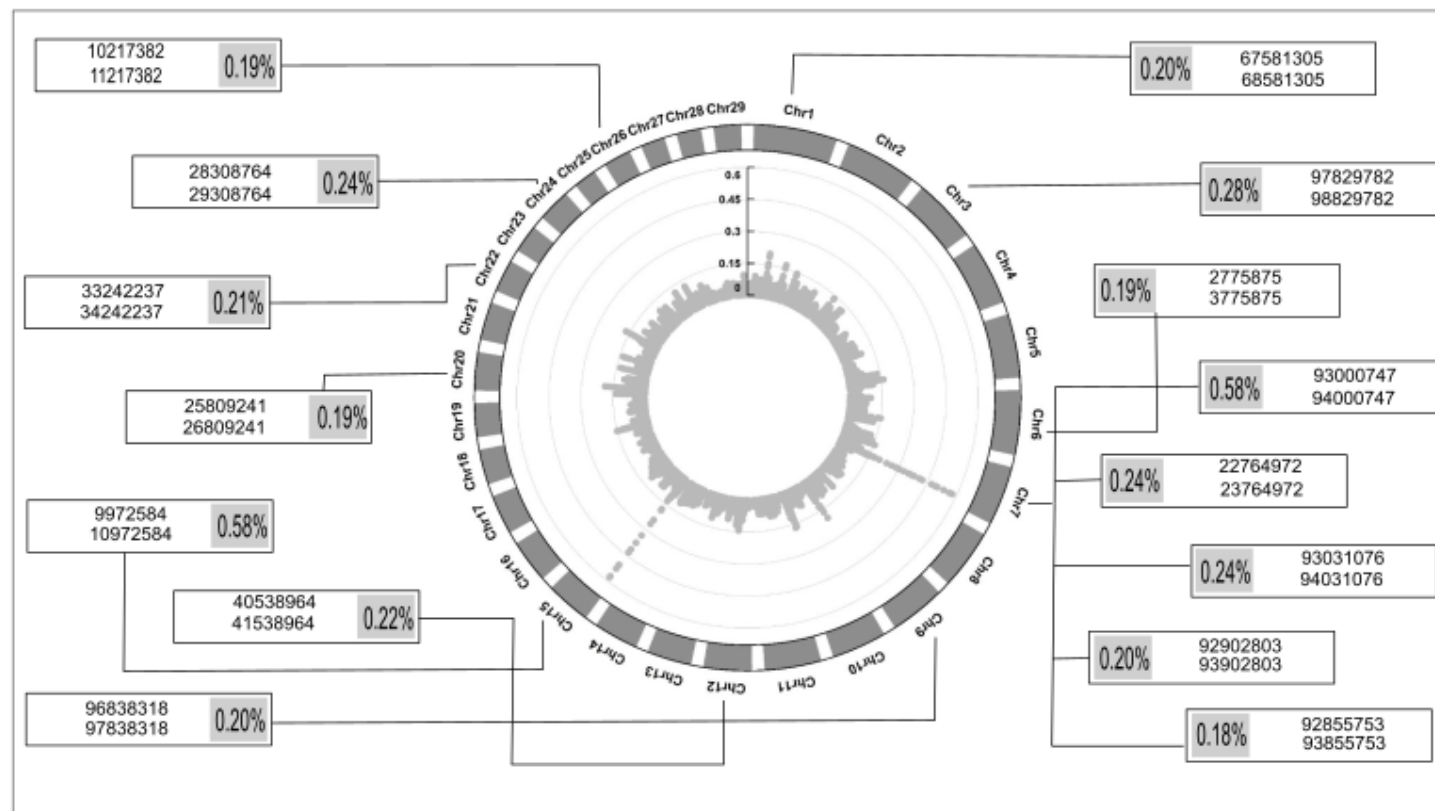


Figura 2. Manhattan plot circular da porcentagem de variância genética aditiva explicada por janelas sobrepostas compostas de 10 marcadores adjacentes para a resistência ao nível de infestação por *R. microplus*. Informações de cromossomo, posições inicial e final em pares de base (bp) das 15 janelas não sobrepostas compostas de 10 marcadores adjacentes com maior variância genética aditiva em ordem decrescente para resiliência ao nível de infestação por *R. microplus*.

Na análise funcional da resiliência ao nível de infestação por *R. microplus*, observou-se 53 identificações únicas de 69 genes sendo que 14 são classificados como genes não anotados. Foram encontrados 272 QTLs únicos de 288 identificados relacionados a 6 classes de características (Figura 2).

Em análise de levantamento de estudos funcionais, verificou-se que os genes descritos neste estudo para a resiliência, em sua maior parte (81%), estão associados à produção de leite (Figura 2), sendo que apenas 1% associadas a estudos com características de saúde.

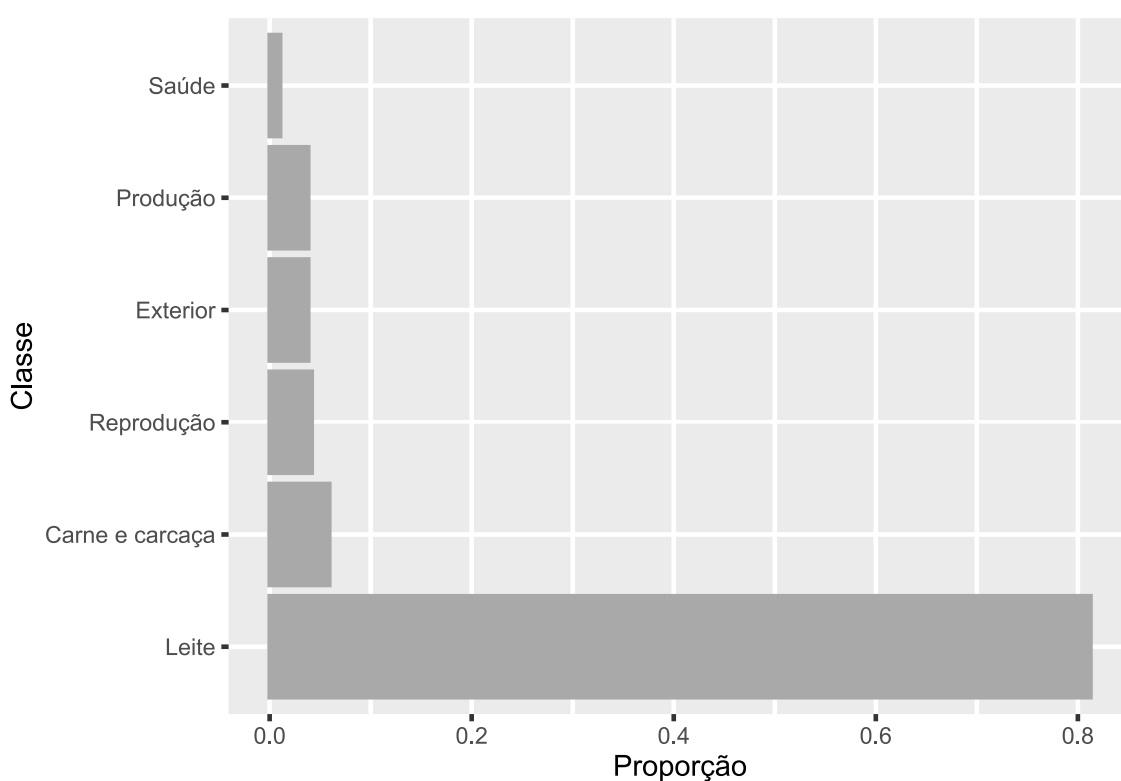


Figura 3. Classes de QTLs presentes nas regiões associadas à resiliência ao nível de infestação por *R. microplus*.

Foram identificadas as rotas metabólicas significativas: “resposta celular ao Interferon alfa”, “resposta a vírus”, “processo catabólico do rRNA”, “ligação de colágeno envolvida na adesão de matriz celular”, “regulação da atividade de endopeptídeos do tipo cisteína envolvidos no processo apoptótico” (Figura 4).

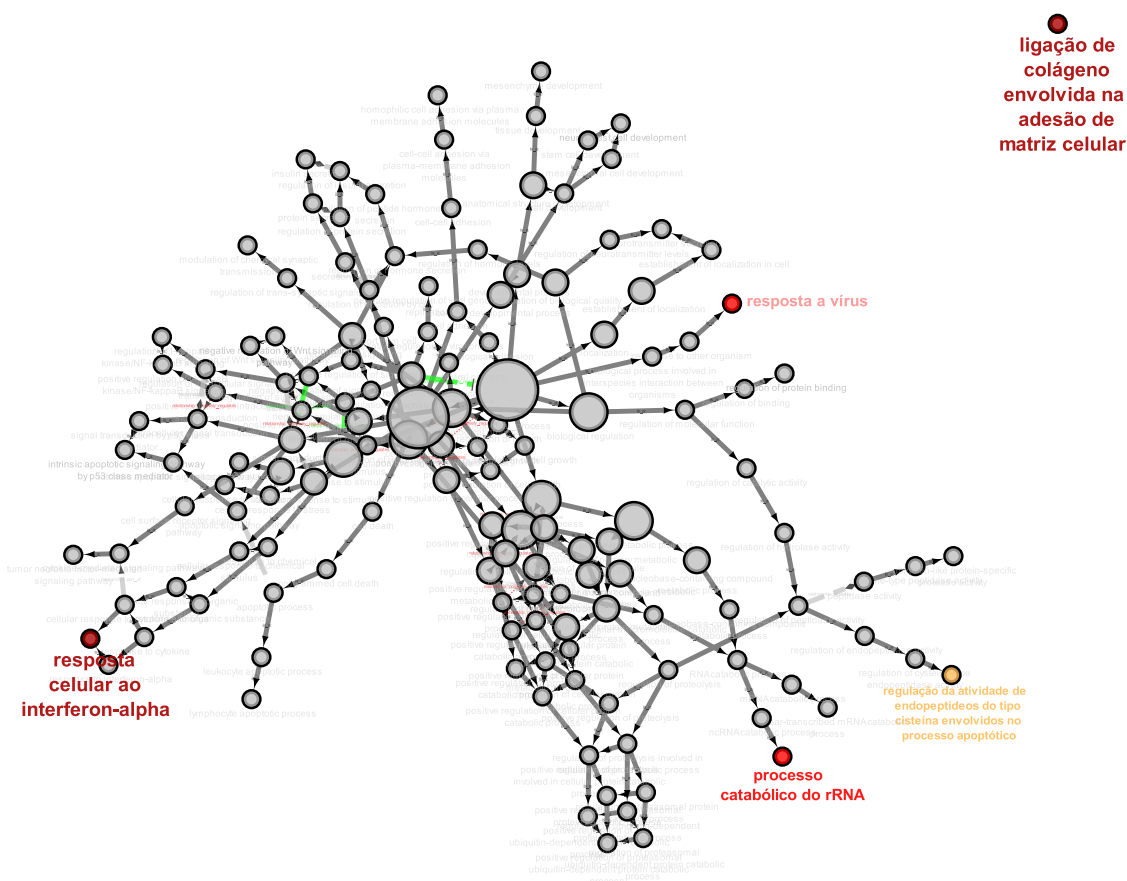


Figura 4. Rotas metabólicas da análise funcional possivelmente associadas à resiliência ao nível de infestação por *R. microplus*.

4 DISCUSSÃO

4.1 Estimativas de parâmetros genéticos

Uma dificuldade inerente a este estudo consiste na interpretação da importância da característica estudada (coeficiente de inclinação). Em geral, em trabalhos de pesquisa de melhoramento, são utilizados parâmetros que, no caso deste estudo, são difíceis de serem definidos para uma variável latente. Assim, a importância da característica de resiliência foi definida pela análise da amplitude da herdabilidade e da correlação genética entre os extremos do gradiente composto pelo nível de infestação do carrapato.

As estimativas de herdabilidades obtidas para ganho de peso diário, apresentaram valores com magnitude semelhante aos descritos na literatura para

ganho de peso em diferentes raças bovinas: 0,14 a 0,29 (Araujo Neto et al., 2010; Biegelmeyer et al., 2017; Claus et al., 2017; Prestes et al., 2019). Com relação a estimativa de correlação genética obtida entre os gradientes extremos, o valor estimado neste estudo próximo a zero também foi descrito por Araujo Neto et al. (2018), em trabalho com ganho de peso em Nelore.

4.2 Seleção genômica para resiliência ao carrapato

O parâmetro r_{wp} encontra-se inversamente proporcional ao incremento da acurácia quando utilizamos fenótipos, sendo que o resultado verificado de superioridade do ssGBLUP em relação ao BLUP é algo esperado, afinal, a melhor estrutura do parentesco estabelecida pela utilização de marcadores aumenta a acurácia da predição do mérito dos animais sem fenótipo. Entretanto, as estimativas obtidas utilizando o método ssGBLUP foram inferiores aos obtidos em outros estudos, com valores de 0,62 a 0,83 para características em bovinos de corte (Cesarini et al., 2020) e de 0,81 a 0,83 para características em búfalos leiteiros (Cesarini et al., 2021). Este menor valor do parâmetro r_{wp} , em relação aos dados da literatura, pode estar associado ao fato de ser avaliada no estudo de uma característica latente, produzida pelo emprego de um método matemático (como regressão aleatória e análise de fatores), pois no caso da medida de resiliência em estudo há maior dependência do fenótipo de outros indivíduos (em outros níveis de contaminação).

A dispersão dos valores genéticos é muitas vezes negligenciada em estudos, seja em modelos genéticos ou genômicos, e relatos são escassos. Em geral, quando os valores de b_{wp} são superiores a unidade indica superestimação e se b_{wp} for inferior a um é verificada a subestimação. No caso do estudo, o método tradicional tem tendência a ter superestimação quando comparado a inclusão genômica. Entretanto, se considerarmos o limite empírico de 15% em relação a dispersão definido por Tsuruta et al. (2011), apresentada para resiliência neste estudo (tanto em ssBLUP como BLUP) não deve promover perdas significativas no ganho genético.

Apesar de ser uma característica latente, comparando com outros estudos, verificamos que os efeitos da dispersão neste trabalho para os valores genômicos foram menores que os verificados em outros estudos. Cesarini et al. (2020)

trabalhando com bovinos da raça Simental na Itália, descrevem valores entre 1,13, 0,76 e 1,02 para ganho de peso diário, tamanho corporal e musculabilidade. Cesarini et al. (2021) para búfalos descrevem valores de dispersão inferiores a 0,92 para características de produção e qualidade do leite. Esta dispersão está relacionada com a herdabilidade da característica em estudo, da estrutura do banco de dados e, no caso do modelo ssGBLUP, as ponderações utilizadas para compor a matriz H (Tsuruta et al., 2011).

4.3 Análise de rotas metabólicas de importância para resiliência

Diversos estudos foram feitos com o objetivo de investigar a resposta imune do hospedeiro a parasitas. Nestes estudos os interferons beta (IFN- β) e gama (IFN- γ) são reportados, sendo este último o mais documentado. Todavia, estudos com interferon alfa (IFN- α) e saliva do carrapato são praticamente inexistentes.

É comum encontrar, em estudos com carrapatos, descrições sobre o IFN- γ . Moré et al. (2019), em estudo com bovinos resistentes e susceptíveis da raça Braford, observaram que bovinos susceptíveis tiveram uma super-expressão do gene quimioatrativo alfa de células T induzíveis por interferon (I-TAC) após serem infestados. Tal gene I-TAC é modulado pelo IFN- γ (Cole et al., 1998, Mohan et al., 2002). Outros estudos também documentaram a diminuição ou supressão do IFN- γ após a picada do carrapato (Ramachandra e Wikel, 1992, Ferreira e Silva, 1999, Mejri et al., 2011, Wu et al., 2010, Tian et al., 2016, Šimo et al., 2017).

Os IFN- α e IFN- β são interferons do tipo I (IFN-Is). Este tipo de interferon é composto de citocininas que desempenham funções importantes em diversas doenças infecciosas pois sinalizam a presença de infecções intracelulares e facilitam a comunicação entre células de defesa (Aguilar-Delfin et al., 2003, Goff et al. 2006, Stetson e Medzhitov, 2006, Miller et al., 2014, Murira e Lamarre, 2016, Djokic et al., 2018, Ali et al., 2019, He et al., 2020, Smith et al., 2021). O antagonismo do IFN- α e IFN- β foi observado em infecções virais (Ng et al., 2015, Ng et al., 2016, Sheehan et al., 2015, He et al., 2020), porém pouco se sabe sobre a atuação destes interferons em relação ao *R. microplus*.

Em estudos com carrapato *Ixodes scapularis*, observou-se que o inibidor de cisteína proteaseína, sialostatina L2, afeta negativamente as respostas do IFN- β em células dendríticas podendo aumentar a carga patogênica transmitida após o carrapato injetar saliva no hospedeiro (Lieskovská et al., 2015). Em outro estudo, Lieskovská e Kopecký (2012) observaram que a saliva do *Ixodes ricinus* afeta a ativação da via metabólica do receptor IFN que media a indução de IFN- β . Os autores não tiveram como objetivo estudar o IFN- α , entretanto não descartam que este também seja afetado pela saliva do carrapato.

Interferons possuem efeitos imunomoduladores, antiproliferativos e antivirais (Platanias, 2005). Supreendentemente, no presente estudo, a via metabólica resposta a vírus foi estatisticamente significativa (valor de $p < 0,05$). Células dendríticas são capazes de reconhecer patógenos determinando o desenvolvimento da resposta adaptativa e ao liberar solúveis mediadores, como os IFN do tipo I, modulam também a resposta imune (Lieskovská et al., 2015). Quando o IFN do tipo I é secretado por células dendríticas é estabelecido um estado antiviral entre ambos e outras células afetando negativamente a sua ativação fenotípica e funcional (Montoya et al., 2002, Lieskovská et al., 2015).

Em estudos com vírus como o Vírus do Nilo Ocidental transmitido por mosquito e febre severa com Vírus da Síndrome Trombocitopenia transmitido por carrapatos, o gene IRF-7 revelou-se ter papel importante na indução do IFN- α (Daffis et al., 2008, Lieskovská et al., 2015, Hong et al., 2019). Segundo Lieskovská et al (2015), especula-se que a sialostatina L2 pode similarmente interferir com a resposta antiviral do hospedeiro através da desregulação do gene IRF-7. Ingredientes ativos de extratos da glândula salivar de carrapatos podem bloquear receptores IFN em vez de interagir diretamente com os interferons, auxiliando na transmissão dos patógenos que o artrópode é vetor (Hajnická et al., 2000).

No presente estudo, a via metabólica IFN- α foi significativa e pode estar associada a resiliência do hospedeiro ao nível de infestação por *R. microplus*. Estudos dirigidos sobre a modulação da saliva conjuntamente com os demais patógenos transmitidos pelo carrapato poderão ser capazes de auxiliar a compreensão dos mecanismos de atuação dos interferons na resiliência até então desconhecidos.

A pele é o órgão em que o carrapato permanece fixado ao picar o animal para se alimentar. A derme do hospedeiro é um tecido composto de colágeno, tecido

elástico e fibras reticulares conferindo ao tecido tenacidade e resiliência (Nestle et al., 2009, Smith e Melrose, 2015, Boulanger et al., 2021).

Carrapatos *Ornithodoros moubata* e *Haemaphysalis longicornis* interferem no colágeno mediado por plaquetas de adesão no local da lesão impedindo que ocorra a hemostasia primária, processo inicial de cicatrização da lesão, permitindo assim a continuidade e sucesso de sua alimentação (Waxman e Connolly, 1993, Karczewski et al., 1995, Cheng et al., 1999, Bernedt et al., 2014, Šimo et al., 2017).

Em hospedeiros Braford resistentes, genes de colágeno I e colágeno III foram desregulados após infestação do carrapato (Moré et al., 2019). Segundo os autores, os genes relacionados com a organização celular como o colágeno tipo XI alfa 1 (COL11A1), lâmina alfa 1 (LAMA1) e proteína de sinalização de agouti (ASIP) podem contribuir para a cicatrização da lesão, dificultando a fixação e limitando a alimentação do carrapato.

Carrapatos *R. microplus* podem transmitir vírus para animais e humanos (de Souza et al., 2018, Shi et al., 2021) e é difícil separar somente a ação do carrapato isoladamente dos patógenos por ele transmitidos em estudos que não são específicos como estudos de expressão gênica, por exemplo. Neste trabalho, a via metabólica do processo catabólico do rRNA foi estatisticamente significativa (valor de $p < 0,05$). Entretanto, a literatura falha em documentar a interação entre a ação do carrapato e rRNA.

Em humanos, estudo com o Vírus da Encefalite, que é transmitido por carrapatos, foi observado que as cepas decrescem significativamente o 18S e 28S rRNA, que são transcriptos do gene POLR1 (Selinger et al., 2019). Futuros estudos sobre a influência do carrapato em genes da polimerase do RNA deverão ser capazes de identificar se essa modulação se deve de fato a ação do parasita e patógeno ou é somente proveniente do patógeno transmitido.

Cisteínas proteases possuem papel importante na modulação imunológica de mecanismos homeostáticos (Schwarz et al., 2012). A inibição da cisteínas pelas serpinas e cistatinas presentes na saliva do carrapato garantem seu sucesso em se alimentar (Kotsyfakis et al., 2007, Schwarz et al., 2012, Blisnick et al., 2017, Chmelař et al., 2017, Šimo et al., 2017, Ribeiro e Mans, 2020). Até o presente trabalho, somente foi documentado para os carrapatos *Amblyomma americanum*, *I. scapularis*, *I. ricinus*

e *Dermacentor silvarum* ação moduladora em relação as cisteínas em hospedeiros mamíferos (Šimo et al., 2017, Kitsou et al., 2021).

Em animais resistentes ao carrapato, foi observado aumento das cisteínas proteases (Franzin et al., 2017). Como a resiliência é uma função da resistência e tolerância, para melhor compreensão da produção e modulação da cisteínas serão necessários mais estudos tais como de expressão gênica. Principalmente pelo fato de a resiliência ser uma característica pouco estudada.

4.4 Considerações sobre a utilização da resiliência ao carrapato em programas de melhoramento

O primeiro ponto a ser considerado para a característica em estudo consiste na associação desta característica com a resistência e tolerância. Mulder e Rashidi (2017) descrevem a resiliência como um índice que combina resistência e tolerância, sendo que sua mensuração facilita sua utilização em programas de melhoramento animal. Entretanto, de acordo com Knap e Doeschl-Wilson (2020), ao adotar a resiliência em programas de melhoramento animal, é necessário o conhecimento de sua associação com a resistência e a tolerância para delinear de forma eficiente um programa de seleção.

No caso do estudo realizado, utilizou-se o nível de infestação do carrapato para a estimação da resiliência, entretanto é importante ressaltar o fato que este parasita também é um importante vetor de outros parasitas, como a *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*, sendo plausível também considerar que estes parasitas contribuem para a magnitude da resiliência de um animal. Entretanto, baseado nos relatos de pesquisas com a resistência ao carrapato, verifica-se que esta associação pode apresentar magnitude pequena. Cavani et al. (2020) relataram uma correlação genética de 0,15 com *B. bovis* com o carrapato em bovinos Braford e Hereford. Romero (2021) relataram estimativas de correlação de -0,019, 0,239 e 0,160 do carrapato com *A. marginale*, *B. bigemina* e *B. bovis* também em Braford e Hereford.

Diferentemente da resistência e tolerância, que é necessário possuir informações de carga patogênica individual, a estimação da resiliência pode ser feita utilizando dados de grupos de contemporâneos (Mulder, 2016; Mulder e Rashidi, 2017), ampliando sua aplicabilidade em programas de melhoramento animal.

Entretanto, é necessário estar atento ao fato que a composição e o número de animais nos grupos de contemporâneos são importantes fatores que podem enviesar as estimativas de variância genética aditiva da resiliência, principalmente no que tange a doenças endêmicas (Mulder e Rashidi, 2017).

Outro ponto importante a ser considerado na adoção da resiliência como um critério de seleção em programas de melhoramento genético e que muitos autores destacam é a existência de um possível efeito social para características relacionadas às doenças infecciosas/parasitárias (Ellen et al., 2014). Como os animais mais resilientes podem ser mais tolerantes ou mais resistentes e considerando que o carrapato apresenta parte do ciclo nas pastagens, um animal com alto valor genético para resiliência pode, caso seja tolerante, tornar-se um reservatório para os demais membros do grupo de contemporâneos.

5 CONCLUSÃO

As estimativas de herdabilidades para o ganho de peso pós-desmama sobre o gradiente da resiliência indicam que a resiliência é uma característica que pode ser incluída em programas de melhoramento genético animal com obtenção de progresso genético. Entretanto, devem ser realizados estudos sobre resistência e tolerância afim de otimizar a aplicação da resiliência.

As regiões cromossômicas identificadas como regiões associadas as características que possuem porcentagem de maior variabilidade genética aditiva, os genes candidatos e as vias metabólicas identificados contribuíram para a compreensão dos mecanismos biológicos da resiliência dos bovinos ao *R. microplus* e podem ser informações promissoras para futuros estudos de associação.

Para trabalhos futuros sugere-se que os genes candidatos discutidos aqui e as discussões levantadas como as considerações na adoção da característica estudada como um critério de seleção em programas de melhoramento genético sejam alvos de estudos relacionados ao parasita, podendo assim corroborar ou não com os achados e discussão neste estudo.

6 REFERÊNCIAS

Aguilar-Delfin I, Wettstein PJ, Persing DH (2003) Resistance to acute babesiosis is associated with interleukin-12- and gamma interferon-mediated responses and requires macrophages and natural killer cells. **Infection and Immunity** 71:2002-2008.

Akaike H (1974) A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control** 19:716-723.

Ali S, Mann-Nüttel R, Schulze A, Richter L, Alferink J, Scheu S (2019) Sources of Type I Interferons in infectious immunity: plasmacytoid dendritic cells not always in the driver's seat. **Frontiers in Immunology** 10:778.

Araujo Neto FR, Santos JCG, Arce CDS, Aspilcueta-Borquis RR, Santos DJA, Guimarães KC, Nascimento AV, Oliveira HN, Tonhati H (2021) Genomic study of the resilience of buffalo cows to a negative energy balance. **Journal of Applied Genetics** 63:379-388.

Araujo Neto FR, Lôbo RB, Mota MDS, Oliveira HN (2011) Genetic parameter estimates and response to selection for weight and testicular traits in Nelore cattle. **Genetics and molecular research**, 10:3127-3140.

Araujo Neto, F.R.; Pegolo, N.T.; Aspilcueta-Borquis, R.R.; Pessoa, M.C.; Bonifácio A; Lobo, R.B.; Oliveira, H.N. (2018). Study of the effect of genotype–environment interaction on age at first calving and production traits in Nelore cattle using multi-trait reaction norms and Bayesian inference. **Animal Science Journal**, 89:939-945.

Berndt MC, Metharom P, Andrews RK (2014) Primary haemostasis: newer insights. **Haemophilia** 20:15-22.

Bisset SA, Morris CA, Squire DR, Hickey SM (1996) Genetics of resilience to nematode parasites in young Romney sheep - use of weight gain under challenge to assess individual anthelmintic treatment requirements. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 39:313-323.

Blisnick AA, Foulon T, Bonnet SI (2017) Serine Protease Inhibitors in Ticks: An Overview of Their Role in Tick Biology and Tick-Borne Pathogen Transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:199.

Cavani L, Braz CU, Giglioti R, Okino CH, Gulas-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira MCS, Cardoso FF, de Oliveira HN (2020a) Genomic Study of *Babesia bovis* Infection Level and Its Association With Tick Count in Hereford and Braford Cattle. **Frontiers in Immunology** 11:1905.

Calo, L. L., R. E. McDowell, L. D. VanVleck, and P. D. Miller. 1973. Genetic aspects of beef production among Holstein-Friesians pedigree selected for milk production. **Journal of Animal Science** 37:676–682.

Cesarani A, Hidalgo J, Garcia A, Degano L, Vicario D, Masuda Y, Misztal I, Lourenco D (2020) Beef trait genetic parameters based on old and recent data and its implications for genomic predictions in Italian Simmental cattle. **Journal of Animal Science** 98:1-8.

Cesarani A, Biffani S, Garcia A, Lourenco D, Bertolini G, Neglia G, Misztal I, Macciotta NPP (2021) Genomic investigation of milk production in Italian buffalo. **Italian Journal of Animal Science** 20:539-547.

Cheng Y, Wu H, Li D (1999) An inhibitor selective for collagen-stimulated platelet aggregation from the salivary glands of hard tick *Haemaphysalis longicornis* and its mechanism of action. **Science China Life Sciences** 42:457–464.

Chmelař J, Kotál J, Langhansová H, Kotsyfakis M (2017) Protease Inhibitors in Tick Saliva: The Role of Serpins and Cystatins in Tick-host-Pathogen Interaction. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:216.

Cole KE, Strick CA, Paradis TJ, Ogborne KT, Loetscher M, Gladue RP, Lin W, Boyd JG, Moser B, Wood DE, Sahagan BG, Neote K (1998) Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC): a novel non-ELR CXC chemokine with potent activity on activated T cells through selective high affinity binding to CXCR3. **Journal of Experimental Medicine** 187:2009-21.

Daffis S, Samuel MA, Suthar MS, Keller BC, Gale M Jr & Diamond MS (2008) Interferon regulatory factor IRF-7 induces the antiviral alpha interferon response and protects against lethal West Nile virus infection. **Journal of Virology** 82:8465–8475.

Dantas-Torres F; Chomel BB; Otranto D (2012) Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology** 28:437-446.

Djokic V, Primus S, Akoolo L, Chakraborti M, Parveen N (2018) Age-related differential stimulation of Immune response by *Babesia microti* and *Borrelia burgdorferi* during acute phase of infection affects disease severity. **Frontiers in Immunology** 9:2891.

Doeschl-Wilson AB, Villanueva B, Kyriazakis I (2012) The first step toward genetic selection for host tolerance to infectious pathogens: obtaining the tolerance phenotype through group estimates. **Frontiers in Genetics** 3:1-10.

Ellen ED, Rodenburg TB, Albers GAA, Bolhuis JE, Camerlink I, Duijvesteijn N, Knol EF, Muir WM, Peeters K, Reimert I, Sell-Kubiak E, van Arendonk JAM, Vvisscher J, Bijma P. 2014. The prospects of selection for social genetic effects to improve welfare and productivity in livestock. **Frontiers in Genetics**, 5:377.

Ferreira BR, Silva JS (1999) Successive tick infestations selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. **Immunology** 96:434-439.

Fonseca P, Suarez-Vega A, Marras G, Cánovas A (2020) **GALLO: Genomic Annotation in Livestock for Positional Candidate Loci**. R package version 1.1 <https://github.com/pablobio/GALLO>

Goff WL, Johnson WC, Cluff CW (2006) *Babesia bovis* immunity: in Vitro and in Vivo evidence for IL-10 regulation of IFN- γ and iNOS. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 849:161-180.

Hajnická V, Kocakova P, Slovak M, Labuda M, Fuchsberger N, Nuttall PA (2000) Inhibition of the antiviral action of interferon by tick salivary gland extract. **Parasite Immunology** 22:201-206.

Hakimi H, Masahito A, Takahiro I, Shinichiro K (2021) Isolation of viable *Babesia bovis* merozoites to study parasite invasion. **Scientific Reports** 11:16959.

He X, Xia L, Tumas KC, Wu J, Su XZ (2020) Type I Interferons and Malaria: a double-edge sword against a complex parasitic disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 10:594621.

Hong Y, Bai M, Qi X, Li C, Liang M, Li D, Cardona CJ, Xing Z (2019) Suppression of the IFN- α and - β Induction through Sequestering IRF7 into Viral Inclusion Bodies by Nonstructural Protein NSs in Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Bunyavirus Infection. **The Journal of Immunology** 202: 841-856.

Karczewski J, Waxman L, Endris RG, Connolly TM (1995) An inhibitor from the argasid tick *Ornithodoros moubata* of cell adhesion to collagen. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 208:532–541.

Kause A, Ødegård J (2012) The genetic analysis of tolerance to infections: a review. **Frontiers in Genetics** 3:262.

Kessler RH (2001) Considerações sobre a transmissão da *Anaplamose marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 21:177-179.

Kitsou C, Fikrig E, Pal U (2021) Tick host immunity: vector immunomodulation and acquired tick resistance. **Trends in Immunology** 42:P554-574.

Knap PW, Doeschl-Wilson A (2020) Why breed disease-resilient livestock, and how? **Genetic Selection Evolution** 52:60.

Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Meléndez RD (2003) Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology** 16:698-712.

Kotsyfakis M, Karim S, Andersen JF, Mather TN, Ribeiro JMC (2007) Selective Cysteine Protease Inhibition Contributes to Blood-feeding Success of the Tick *Ixodes scapularis**. **Journal of Biological Chemistry** 282:29256-29263.

Lieskovská J, Kopecký J (2012) Tick saliva suppresses IFN signaling in dendritic cells upon *Borrelia afzelii* infection. **Parasite Immunology** 34:32-39.

Lieskovská J, Páleníková J, Širmarová J, Elsterová J, Kotsyfakis M, Campos Chagas A, Calvo E, Růžek D, Kopecký J (2015) Tick salivary cystatin sialostatin L2 suppress IFN responses in mouse dendritic cells. **Parasite Immunology** 34:70-78.

Mejri N, Franscini N, Rutti B, Brossard M (2011) Th2 polarization of the immune response of BALB/c mice to *Ixodes ricinus* instars, importance of several antigens in activation of specific Th2 subpopulations. **Parasite Immunol.** 23:61–69.

Merino O, Almazán C, Canales M, Villar M, Moreno-Cid JÁ, Galindo RC, de la Fuente J (2011) Targeting the tick protective antigen subolesin reduces vector infestations and pathogen infection by *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina*. **Vaccine** 29:8575-8579.

Miller JL, Sack BK, Baldwin M, Vaughan AM, Kappe SHI (2014) Interferon-mediated innate immune responses against malaria parasite liver stages. **Cell Reports** 7:436-447.

Misztal I, Tsuruda S, Lourenço D, Aguilar L, Legarra A, Vitezica Z (2018) **Manual for BLUPF90 family of programs**, Athens: University of Georgia, p. 142.

Mohan K, Ding Z, Hanly J, Issekutz TB (2002) IFN-gamma-inducible T cell alpha chemoattractant is a potent stimulator of normal human blood T lymphocyte transendothelial migration: differential regulation by IFN-gamma and TNF-alpha. **Journal of Immunology** 168:6420-8.

Montoya M, Schiavoni G, Mattei F, Gresser I, Belardelli F, Borrow P, Tough DF (2002) Type I interferons produced by dendritic cells promote their phenotypic and functional activation. **Blood** 99:3263-71.

Moré DD, Cardoso FF, Madadu MA, Malagó-JR W, Gúlias-Gomes CC, Sollero, BP, Ibelli AMG, Coutinho LL, Regitano LCA (2019) Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin. **BMC Genomics** 20:998.

Mulder HA (2016) Genomic selection improves response to selection in resilience by exploiting genotype by environment interactions. **Frontiers in Genetics** 7:178.

Mulder HA, Rashidi H (2017) Selection on resilience improves disease resistance and tolerance to infections. **Journal of Animal Science** 95:3346-3358.

Murira A, Lamarre A (2016) Type-I interferon responses: from friend to foe in the battle against chronic viral infection. **Frontiers in Immunology** 7:609.

Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ (2009) Skin immune sentinels in health and diseases. **Nature Reviews Immunology** 9:679-91.

Ng CT, Mendoza JL, Garcia KC, Oldstone MB (2016) Alpha and Beta Type I Interferon signaling: passage for diverse biologic outcomes. **Cell** 164:349-352.

Ng CT, Sullivan BM, Teijaro JR, Lee AM, Welch M, Rice S, Sheehan KCF, Schreiber RD, Oldstone MBA (2015) Blockade of interferon beta, but not interferon alpha, signaling controls persistent viral infection. **Cell Host Microbe** 17:653-661.

Pégolo NT, Oliveira HN, Albuquerque LG, Bezerra LAF, Lôbo RB (2009) Genotype by environment interaction for 450-day weight of Nelore cattle analyzed by reaction norm models. **Genetics and Molecular Biology** 32:281–287.

Platanias LC (2005) Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signaling. **Nature Reviews Immunology** 5:375-386.

R CORE TEAM (2019). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Råberg L, Sim D, Read AF (2007) Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. **Science** 318:812.

Ramachandra RN, Wikel SK (1992) Modulation of host-immune responses by ticks (*Acari: Ixodidae*): effect of salivary gland extracts on host macrophages and lymphocyte cytokine production. **Journal of Medical Entomology** 29:818–826.

Rashidi H (2016) Breeding against infectious diseases in animals. 2016. 182 f. **Tese (Doutorado em Ciência Animal)** - Wageningen University, Países Baixos.

Rashidi H, Mulder HA, Mathur P, van Arendonk JAM, Knol EF (2014) Variation among sows in response to porcine reproductive and respiratory syndrome. **Journal of Animal Science** 92:95-105.

Ribeiro JMC, Mans BJ (2020) TickSialoFam (TSFam): A Database That Helps to Classify Tick Salivary Proteins, a Review on Tick Salivary Protein Function and Evolution, With Considerations on the Tick Sialome Switching Phenomenon. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 10:374.

Schawarz A, Valdés JJ, Kotsyfakis M (2012) The role of cystatins in tick physiology and blood feeding. **Ticks Tick Borne Dis.** 3:117-127.

Selinger M, Tykalová H, Štěrbá J, Věchtová P, Vavrušková Z, Lieskovská J, Kohl A, Schnettler E, Grubhoffer L (2019) Tick-borne encephalitis virus inhibits rRNA synthesis and host protein production in human cells of neural origin. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 13:e0007745.

Sheehan KC, Lazear HM, Diamond MS, Schreiber RD (2015) Selective blockade of interferon-alpha and -beta reveal their non-redundant functions in a mouse model of west Nile Virus Infection. **PloS One** 10:e0128636.

Shi J, Shen S, Wu H, Zhang Y, Deng F (2021) Metagenomic Profiling of Viruses Associated with *Rhipicephalus microplus* Ticks in Yunnan Province, China. **Virologica Sinica** 36:623-635.

Silva TM, Areco WVC, Faccin TC, Mel SMP, Figuera RA, Kommers GD (2018) Caracterização histoquímica no diagnóstico da babesiose bovina por *Babesia bovis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 38:649-658.

Šimo L, Kazimirova M, Richardson J, Bonnet SI (2017) The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:281.

Smith MM, Melrose J (2015) Proteoglycans in normal and healing skin. **Advances in Wound Care** 4:152-73.

Smith RL, Goddard A, Boddapati A, Brooks S, Shcoeman JP, Lack J, Leisewitz A, Ackerman H (2021) Experimental *Babesia rossi* infection induces hemolytic, metabolic, and viral response pathways in canine host. **BMC Genomics** 22:619.

Souza WMd, Fumagalli MJ, Torres Carrasco AdO, Romeiro MF, Modha S, Seki MC, Gheller JM, Daffre S, Numes MRT, Murcia PR, Acrani GO, Figueiredo LTM (2018) Viral diversity of *Rhipicephalus microplus* parasitizing cattle in southern Brazil. **Scientific Reports** 8:16315.

Stetson DB, Medzhitov R (2006) Type I Interferons in host defense. **Immunity** 25:P373-381.

Tian Y, Chen W, Mo G, Chen R, Fang M, Yedid G Yan X (2016) An immunosuppressant peptide from the hard tick *Amblyomma variegatum*. **Toxins** 8:133.

Trindade HI, Almeida KS, Freitas FLC (2011) Tristeza parasitária bovina – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** 16:1-21.

Vidotto O, Marana ERM (2001) Diagnosis in bovine Anaplasmosis. **Ciência Rural** 31:361-368.

Wade MJ, Bijma P, Ellen ED, Muir W (2010) Group selection and social evolution in domesticated animals. **Evolutionary Applications** 3:453-65.

Waxman L, Connolly TM (1993). Isolation of an inhibitor selective for collagen-stimulated platelet aggregation from the soft tick *Ornithodoros moubata*. **J. Biol. Chem.** 268:5445–5449.

Wharton RH, Utech KBW (1970) The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (canestrini) (ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. **Journal of the Australian Entomological Society** 9:171-182.

Wu J, Wang Y, Liu H, Yang H, Ma D, Li J, Li D, Lai R, Yu H (2010) Two immunoregulatory peptides with antioxidant activity from tick salivary glands. **Journal of Biological Chemistry** 285:16606–16613.