

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

**ANÁLISE GENÉTICA DA ESPESSURA DO COURO, DO
CRESCIMENTO PÓS DESMAMA E DAS RESISTÊNCIAS AO
CARRAPATO E À BABESIOSE EM BOVINOS DE CORTE**

Amanda Marchi Maiorano

Zootecnista

2015

**D
I
S
S.
/
M
A
I
O
R
A
N
O

A.
M.

2
0
1
5**

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

**ANÁLISE GENÉTICA DA ESPESSURA DO COURO, DO
CRESCIMENTO PÓS DESMAMA E DAS RESISTÊNCIAS AO
CARRAPATO E À BABESIOSE EM BOVINOS DE CORTE**

Amanda Marchi Maiorano

Orientador: Prof. Dr. Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva

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

2015

Maiorano, Amanda Marchi
M341a Análise genética da espessura do couro, do crescimento pós
desmama e das resistências ao carrapato e a babesiose em bovinos
de corte / Amanda Marchi Maiorano. – – Jaboticabal, 2015
iv, 66 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Josineudson Augusto Il de Vasconcelos Silva

Banca examinadora: Henrique Nunes de Oliveira, Joslaine Noely
dos Santos Gonçalves Cyrillo
Bibliografia

1. Espessura do Couro. 2. Herdabilidade. 3. *Rhipicephalus
microplus*. 4. *Babesia bovis*. 5. Bovinos de Corte. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ANÁLISE GENÉTICA DA ESPESSURA DO COURO, DO CRESCIMENTO PÓS DESMAMA E DAS RESISTÊNCIAS AO CARRAPATO E À BABESIOSE EM BOVINOS DE CORTE

AUTORA: AMANDA MARCHI MAIORANO

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA

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

Prof. Dr. JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. JOSLAINE NOELY DOS SANTOS GONÇALVES CYRILLO
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Data da realização: 26 de fevereiro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Amanda Marchi Maiorano – Filha de Luis Carlos Maiorano e Wilneide do Carmo Marchi Maiorano, nascida no dia 06 de setembro de 1990, no município de São Carlos – São Paulo. Zootecnista, graduada pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Botucatu, em julho de 2013, com a monografia intitulada “Comparação de análise genética da característica musculabilidade realizada com modelo linear e não linear”, sob orientação do Prof. Dr. Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva. Em agosto de 2013, ingressou no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal. Realizou parte experimental de seu projeto no Instituto de Zootecnia (Centro APTA Bovinos de Corte) de Sertãozinho, SP, e na Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE) de São Carlos, SP. Durante o curso, recebeu apoio financeiro do CNPq e, em fevereiro de 2015, obteve o título de mestre em Genética e Melhoramento Animal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram com a execução deste trabalho, mas em especial:

Ao Professor Augusto por sua inteligência, dedicação e parceria durante o tempo despendido com o trabalho, mas, principalmente, por acreditar nos nossos objetivos.

À Doutora Márcia por seu método de trabalho e auxílio.

À Doutora Joslaine por estar sempre presente e participar de etapas excepcionalmente importantes.

Ao Professor Henrique pelas ideias e correções pontuais que muito contribuíram com o trabalho.

Aos funcionários do Instituto de Zootecnia e aos pesquisadores Leo e Fábio pelas contribuições.

Ao Rodrigo Giglioti por seus ensinamentos, dedicação e ajuda fornecidas na execução de etapa importante do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Alexandre, grandioso irmão e companheiro de todas as horas, por seus ensinamentos em estatística.

Em último, a meus pais, Wilneide e Luís, e aos Amigos pela atenção, pelo companheirismo e pelos momentos alegres que proporcionaram no decorrer desta fase.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução	1
2. Objetivos	3
3. Revisão de literatura	3
3.1 Espessura do couro em bovinos	3
3.2 Aspectos gerais do parasitismo ocasionado pelo carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	6
3.3 Diferenças na resistência genética dos bovinos aos carrapatos	8
3.4 Aspectos gerais da <i>Babesia bovis</i> para os bovinos	10
4. Referências bibliográficas	12
CAPÍTULO 2 – ESTUDO GENÉTICO DA ESPESSURA DO COURO E SUA ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICA DE CRESCIMENTO PÓS DESMAMA EM BOVINOS NELORE: ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS	19
Introdução	20
Material e métodos	21
Resultados e discussão	24
Conclusões	32
Referências bibliográficas	32
CAPÍTULO 3 – ESTUDO DA ESPESSURA DO COURO, RESISTÊNCIA AO CARRAPATO <i>Rhipicephalus microplus</i> E NÍVEL DE PARASITEMIA POR <i>Babesia bovis</i> EM NOVILHAS CARACU E NELORE	37
Introdução	38
Material e métodos	41
Resultados e Discussão	48
Conclusões	57
Referências bibliográficas	58
CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES	65

ANÁLISE GENÉTICA DA ESPESSURA DO COURO, DO CRESCIMENTO PÓS DESMAMA E DAS RESISTÊNCIAS AO CARRAPATO E À BABESIOSE EM BOVINOS DE CORTE

RESUMO - Estudos recentes sobre mecanismos de resistência dos bovinos aos carrapatos são raros, justificando a necessidade de novos estudos. O couro dos animais é um dos habitats do carrapato, e algumas características do mesmo podem propiciar condições mais ou menos favoráveis para a fixação e desenvolvimento das larvas. O objetivo do trabalho foi estimar parâmetros genéticos para as características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550) em bovinos Nelore, e verificar as associações de espessura do couro, resistência aos carrapatos e nível de parasitemia por *Babesia bovis* em fêmeas, Caracu e Nelore, infestadas artificialmente. O banco de dados do programa de melhoramento genético Nelore Qualitas foi utilizado para estimação da herdabilidade das características EC e GPD550 assim como na verificação da associação genética. Os parâmetros genéticos foram estimados por análise bayesiana com uso de modelo multivariado. Outra etapa do projeto foi conduzida com uso de 20 novilhas Nelore e 20 novilhas Caracu, provenientes do Centro de Pesquisa em Pecuária de Corte do Instituto de Zootecnia de forma a possibilitar a verificação da associação da resistência ao carrapato com nível de parasitemia por *B. bovis* e espessura do couro. As novilhas foram submetidas a três (3) infestações artificiais de carrapatos, em intervalos de 14 dias. A EC foi medida na região posterior à escápula dos animais com uso de paquímetro. Foram realizadas contagens de fêmeas ingurgitadas no intervalo entre o 19º e 23º dia após a infestação e colheitas de sangue no 1º, 7º, 21º, 35º e 49º dia do experimento. As amostras de sangue foram utilizadas para avaliar o nível de parasitemia por *B. bovis* por meio de reações de PCR quantitativo (qPCR). Análises estatísticas foram executadas com o procedimento MIXED do programa SAS. As estimativas de herdabilidade (h^2) das características EC e GPD550 foram 0,12 e 0,29, respectivamente. O coeficiente de correlação genética entre EC e GPD550 foi 0,17. O grupo genético Nelore apresentou menor quantidade de carrapatos nas infestações artificiais, apesar disto, ambos os grupos genéticos foram eficientes no controle da parasitemia por *B. bovis*. O efeito do grupo de espessura do couro (GEC) não foi significativo ($p>0,05$) para resistência aos carrapatos e a babesia. A EC apresentou variância genética aditiva suficiente para ser utilizada como critério de seleção em programas de melhoramento genético. No entanto, a baixa associação genética com GPD550 e a falta de associação com resistência aos carrapatos são fatores que devem ser considerados na utilização da EC como critério de seleção.

Palavras-chave: herdabilidade, espessura do couro, ganho de peso pós desmama, *R. microplus*, *B. bovis*, qPCR

GENETIC ANALYSIS OF SKIN THICKNESS, POST WEANING GROWTH AND RESISTANCE TO TICK AND BABESIOSE IN BEEF CATTLE

ABSTRACT - Recent studies about mechanisms of resistance to the tick are rare in cattle, justifying the need for further research. The hide of the animals is one of the tick habitats and some hide features can provide favorable conditions for the establishment and development larval. The aim of this study was to estimate genetic parameters for the skin thickness (ST) and post weaning weight gain (PWG550) of Nellore cattle, and to verify the relationship among skin thickness, tick resistance and parasitaemia level by *Babesia bovis* in heifers, Caracu and Nellore, that it were artificially infested with ticks. The database of the Nellore Qualitas breeding program was used to estimate the heritability of the ST and PWG550 traits and to verify the genetic association among these traits. Genetics parameters were estimated by bayesian analysis with a multivariate model. Another project phase was developed with 20 Nellore heifers and 20 Caracu heifers, belonging to the Instituto de Zootecnia, in order to allow the study the association of the resistance to tick with parasitaemia level by *B. bovis* and skin thickness. Heifers were submitted to three (3) ticks' artificial infestations, with 14 days interval. ST was measured in the mid-side area of animals with a double caliper. Engorged females counts were performed in the range of 19th and 23th days after infestation. Blood samples were collected on the 1st, 7th, 21th, 35th and 49th day of the experiment. Blood samples were used to evaluate the parasitaemia level by *B. bovis*, by quantitative PCR (qPCR) method. Statistical analysis were performed using the MIXED procedure of SAS. Estimates heritability (h^2) of the ST and PWG550 traits were 0.12 and 0.29, respectively. Correlation coefficient among the EC and GPD550 traits was 0.17. Nellore showed lower amount of ticks in artificial infestations, however, both groups were efficient to control the *B. bovis* parasitaemia. The skin thickness group effect was not significant ($p>0,05$) for resistances to tick and babesia. ST showed enough additive genetic variance to be used as selection criteria in animal breeding programs. However, the low genetic association with PWG550 and the lack of association with resistance to ticks are factors that should be considered in the use of ST as selection criteria.

Keywords: heritability, skin thickness, post weaning weight gain, *R. microplus*, *B. bovis*, qPCR

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

O cenário mundial de produção de carne é caracterizado pelo crescente aumento da produção, entretanto a produção de carne de origem bovina é a que menos cresce comparada as de origem suína e de frango (FAO, 2013). O maior produtor da carne bovina é os Estados Unidos, o Brasil ocupa o segundo lugar (USDA, 2013), entretanto é o maior exportador e o detentor do maior rebanho comercial de bovinos de corte do mundo, com efetivo de 211,279 milhões de cabeça no ano de 2012 (IBGE, 2013).

Ainda que a bovinocultura de corte brasileira tenha destaque mundial e nacional, existem aspectos desfavoráveis ao aumento do potencial de crescimento, dentre os quais estão aumento dos custos da produção motivado pela demanda de insumos, adversidades climáticas, exigências do mercado externo quanto a rastreabilidade dos animais e questões econômicas ligadas a juros, câmbio e tributação. Neste contexto, visando o aumento da produtividade desta atividade ganham importância gestões focadas na nutrição, sanidade e planejamento genético do rebanho.

No quesito genético, animais puros da raça Nelore e seus cruzamentos têm importância fundamental na pecuária nacional, dado que compõem 89% dos rebanhos (GRISI et al., 2014). A preferência dos criadores por bovinos Nelore, se deve as características como rusticidade, adaptabilidade à criação em regimes de pasto e ao clima, além disso, há a importância do uso de matrizes ou reprodutores Nelore nos cruzamentos pela complementariedade que é fornecida quanto à característica de resistência da raça aos parasitas internos e externos, dado que as condições climáticas brasileiras favorecem o desenvolvimento de parasitas.

O carrapato da espécie *Rhipicephalus microplus* destaca-se entre as parasitoses, por ser encontrado em todo o território nacional e ser o principal parasita externo que acomete os bovinos. Esse carrapato é vetor biológico dos protozoários

hemoparasitas *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, os quais provocam, em casos de infecção aguda, a morte de animais jovens e adultos (WAAL e COMBRINK, 2006).

Entre as espécies que causam a babesiose bovina, a *B. bovis* é a mais patogênica (BENAVIDES & SACCO, 2007). Com a multiplicação acentuada da babesia nas hemácias e aumento na corrente sanguínea dos bovinos surgem os sinais clínicos causados pela enfermidade, resultando em febre, depressão e hemoglobinúria, acompanhados de anemia, diarreia, fadiga muscular, convulsões e coma (JONSSON et al., 2008).

As babesioses e outras enfermidades que são transmitidas pelos carrapatos aos bovinos promovem perdas econômicas diretas na produção animal, além do que, há também perdas econômicas indiretas que estão relacionadas aos gastos com controle dos carrapatos, e à dificuldade para criação de raças menos resistentes.

O método mais comum de controle dos carrapatos é o uso de produtos químicos, no entanto a elevada frequência e o uso inadequado de tratamentos químicos têm formado populações de carrapatos resistentes aos princípios ativos dos acaricidas existentes no mercado nacional (GOMES et al., 2011). Dessa forma, alternativas racionais no controle dos carrapatos são focos de pesquisas, tais como controle biológico dos carrapatos (VERISSIMO, 2013), manejo integrado de pragas (MOORING et al., 1994), fitoterapia (SANTOS et al., 2013) e resistência natural do hospedeiro (IBELLI et al., 2012).

A raça dos animais tem importante efeito sobre o nível de infestação de carrapatos (WAMBURA et al., 1998), assim, a utilização de animais geneticamente resistentes é alternativa usual no controle dos carrapatos e na redução dos custos. Alguns programas de melhoramento genético de bovinos agrupam informações de características relacionadas ao tema, entre as quais está a medida da espessura do couro para ser utilizada como critério de seleção na escolha de animais mais resistentes. Acredita-se que a espessura do couro é um dos fatores que influenciam na resistência do hospedeiro aos carrapatos, dessa forma quanto mais espesso for o couro do bovino, mais difícil será o contato do carrapato com o sangue do animal (Carrera, 2013).

Na década de 50 surgiram as primeiras hipóteses com a associação da espessura do couro e resistência dos bovinos ao carrapato (BONSMA, 1949; RIEK, 1962). Esta associação deve ser avaliada de forma a gerar esclarecimento sobre o uso da espessura do couro como medida eficiente na obtenção de bovinos resistentes aos carrapatos e como critério de seleção em programas de melhoramento genético animal.

2. Objetivos

Dada a importância da variável espessura do couro e o pouco conhecimento acerca desta característica, este trabalho teve como propostas estimar a herdabilidade da característica espessura do couro e verificar a associação genética com características de crescimento pós desmama em bovinos Nelore, e, verificar as associações de espessura do couro, resistência aos carrapatos e nível de parasitemia por *B. Bovis* em fêmeas, Caracu e Nelore, infestadas artificialmente com carrapatos.

3. Revisão de literatura

3.1 Espessura do couro em bovinos

Na década de 50 surgiram as primeiras hipóteses da associação do couro com resistência dos bovinos aos carrapatos. Um dos trabalhos pioneiros sobre o assunto foi realizado por Bonsma (1949) na África. O autor, conhecido por trabalhar com adaptabilidade de bovinos, relatou que o couro e suas características (pigmentação, espessura, glândulas sudoríparas e sebáceas, espessura do pêlo, cor do pêlo, etc.) são atributos adaptativos importantes para bovinos de regiões tropicais e subtropicais. O couro seria um dos fatores responsáveis pela tolerância as altas temperaturas e aos carrapatos.

A espessura do couro está relacionada as camadas da pele, epiderme e derme. Na camada papilar da derme, existem fibras de colágenos que formam a junção dermo-epidérmica responsável pela fixação da derme à epiderme (Figura 1). A

camada reticular é a camada mais espessa da derme, formada por tecido conjuntivo denso, e nesta região encontram-se vasos sanguíneos, folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

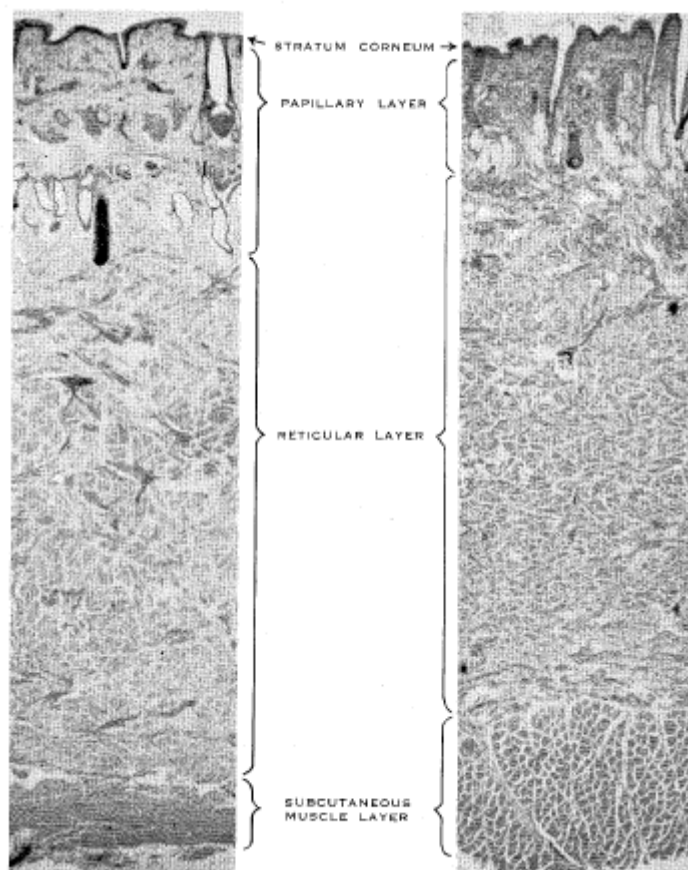


Figura 1. Corte longitudinal da pele de novilha da raça Shorthorn (esquerda) e de origem *Bos taurus indicus* (direita) (Fonte: Dowling, 1955).

O método mais utilizado e aceito para avaliar a espessura do couro é a mensuração por meio da dobra de pele (DOWLING, 1955), sendo a região posterior a escápula o melhor local para obtenção da medida nos bovinos. O paquímetro é o instrumento utilizado atualmente para medir a espessura do couro pela praticidade e por obter a dobra da pele em milímetros. Segundo Tulloh et al. (1961), a espessura do couro é relativamente uniforme na região citada.

A espessura do couro também pode ser mensurada por cortes histológicos, possibilitando ainda a distinção e caracterização das camadas da pele. Dowling (1955) relatou que a espessura da epiderme representou 18,3%, 29,5% e 23,7% da

espessura total do couro em animais *Bos indicus*, *Bos taurus* e mestiço *Bos indicus* x *Bos taurus*, respectivamente. O autor verificou que a derme apresenta maior espessura nos animais zebu, em estudo da espessura do couro dos animais por meio de cortes histológicos e dobra da pele.

Tulloh (1961) estudando espessura do couro tomada por cortes histológicos e dobra da pele observou que a correlação entre as duas medidas foi 0,82 e ainda correlação de 0,50 entre a dobra da pele dos touros e de suas mães. Acredita-se que a maior proteção do animal é dada com maior espessura do couro, dado que a espessura do couro age como uma barreira física que dificulta a perfuração do couro dos bovinos pelo carrapato (CARRERA, 2013). Wilkison (1962) estudou a associação entre a espessura do couro e resistência ao carrapato, entretanto verificou que a associação não foi significativa ($p>0,05$) em bovinos da raça Shorthorn Australiana.

Riek (1962) estudou a associação entre cortes histológicos, verificando a espessura do couro total com locais de fixação dos carrapatos nos animais *B. indicus*, *B. taurus* e seus cruzamentos. Apesar de não ter encontrado correlação significativa entre espessura do couro e grau de resistência aos carrapatos, Riek (1962) relatou que áreas de maior fixação das larvas, no verão, foram as áreas de couro fino como flanco, axila e barbela. Assim, áreas do corpo do bovino com espessuras mais finas podem ser áreas de preferência para fixação das larvas dos carrapatos.

Simón et al. (2009) utilizaram o paquímetro para medir a espessura do couro em bovinos de Cuba, e observaram que animais com maior espessura do couro, os quais possuíam maior proporção de sangue zebu, tiveram menor carga de carrapatos. Contudo, os autores não mediram associação desta variável com a resistência aos carrapatos.

Estudos disponibilizando a estimativa da herdabilidade da característica espessura do couro em bovinos não foram encontrados na literatura. Em ovinos, a característica tem grande importância econômica pelo fato de estar associada a diferenças na produção de lã. Estimativas de herdabilidade para a característica em ovinos foram apresentadas por Slee et al. (1991) e Gregory (1982) que obtiveram valores de 0,35 e 0,22 a 0,79, respectivamente, sugerindo que a característica pode ser utilizada como critério de seleção na obtenção de animais com fenótipos

desejáveis. No entanto, há escassez de informação sobre espessura do couro em bovinos zebuínos e taurinos, o que evidencia a necessidade de conhecer os parâmetros genéticos, assim como verificar sua relação com resistência ao carrapato e outras características de interesse econômico.

O couro é um subproduto do abate de bovinos e, após submetido a processo de curtimento, pode ser utilizado como material para a confecção de diversos artefatos para uso humano. Algumas lesões permanentes no couro exercem influência sobre sua qualidade e, conseqüentemente, padronização e depreciação do produto no mercado. No Brasil, aproximadamente 40% das lesões nos couros comercializados são provocadas por ações de ectoparasistas como carrapatos, bernes e moscas do chifre e 20% são provocadas pela marcação e uso de instrumentos não indicados para a condução dos animais (GRISI et al., 2002).

3.2 Aspectos gerais do parasitismo ocasionado pelo carrapato *Rhipicephalus microplus*

Os níveis parasitários e desafios termorregulatórios estão entre os principais problemas que acometem bovinos criados nas regiões tropicais e subtropicais. Níveis moderados a altos de infestação por parasitas podem afetar diretamente a produção animal. Segundo Jonsson (2006), as perdas econômicas devido ao parasitismo pelos carrapatos alcançam a cifra de US\$7,3/cabeça/ano.

O prejuízo mundial pode ser calculado se considerarmos que a população mundial de bovinos é de 1.494.348.769 (FAOSTAT, 2014) e que 80% dos animais estão em áreas de risco de contato com o carrapato (SNELSON, 1975), teríamos perdas anuais ao redor de US\$8,7 bilhões. Para a bovinocultura de corte, os níveis de infestação por carrapatos trazem drásticas perdas diretamente relacionadas ao ganho de peso dos animais. Estudo realizado por Frisch et al. (2000) concluiu que a redução individual anual esperada no ganho de peso associado com carga parasitária de 40 carrapatos/dia é cerca de 10 a 15 kg. Mackinnon et al. (1991) relataram correlação genética negativa do nível de infestação de carrapatos com ganho pós desmama.

No Brasil, a infestação por carrapatos é uma das principais causas de perda econômica em bovinos criados a pasto (PARIZI et al., 2009). O impacto econômico causado pelo carrapato *R. microplus* em todo o rebanho bovino brasileiro seria de 3,24 bilhões de dólares. Considerando somente os rebanhos de bovinos de corte, a estimativa seria de 2,31 bilhões de dólares, sendo que este valor é superior aos prejuízos causados por outras parasitoses (Grisi et al., 2014). No Brasil, o carrapato *R. microplus* é o principal parasita que acomete o gado, e as condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento possibilitam sua ocorrência em todo o território nacional (Gonzales, 1993).

O *R. microplus* transmite agentes patogênicos causadores da Tristeza Parasitária Bovina (TPB): *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*. Grande parte das áreas de ocorrência das babesioses bovinas no território brasileiro são classificadas como áreas de estabilidade endêmica, assim o benefício biológico obtido pela diminuição da população de carrapatos deve ser a manutenção da imunidade contra os agentes do complexo da Tristeza Parasitária Bovina (FURLONG, 1993). Portanto, a presença dos carrapatos nos animais de rebanhos criados em áreas de estabilidade endêmica é desejável em níveis controlados para manutenção da imunidade dos animais e amenizar perdas econômicas causadas pelos parasitos.

O método comumente utilizado no controle dos carrapatos é o uso de produtos químicos, que apresentam alto custo e podem ser ineficazes devido, principalmente, ao desenvolvimento de resistência aos princípios ativos por parte dos parasitas (BRITO et al., 2011). Segundo Gomes et al. (2011), a elevada frequência dos tratamentos químicos associada ao uso inadequado dos produtos são responsáveis por selecionar populações de carrapatos resistentes aos princípios ativos dos acaricidas existentes no mercado.

Alternativas menos onerosas devem ser utilizadas no combate aos carrapatos, tais como o controle biológico dos carrapatos (VERISSIMO, 2013), o manejo integrado de pragas (MOORING et al., 1994), a fitoterapia (SANTOS et al., 2013) e a resistência natural do hospedeiro (IBELLI et al., 2012). Sabe-se que a raça dos animais tem efeito importante sobre a quantidade de carrapatos presentes no hospedeiro (WAMBURA et

al., 1998), sendo assim, a utilização de animais resistentes é alternativa usual na redução dos custos e no controle estratégico dos parasitos.

3.3 Diferenças na resistência genética dos bovinos aos carrapatos

Os mecanismos de resistência dos animais aos carrapatos são complexos, com algumas lacunas ainda não desvendadas pelos pesquisadores. As pesquisas tendem a avaliar causas fisiológicas e imunológicas e/ou características fenotípicas que estejam relacionadas à diminuição do número de carrapatos, entretanto, é aceito pelos autores que a raça dos bovinos tem grande efeito no nível de resistência dos animais.

Na literatura, é documentada a maior tolerância das raças zebuínas (*B. indicus*) comparadas aos taurinos (*B. taurus*) quanto à resistência ao carrapato *R. microplus* (VILLARES, 1941; BONSMAN, 1944; UTECH et al., 1978; UTECH e WHARTON, 1982; SILVA et al. 2007; BIANCHIN et al., 2007). Desde os primórdios da domesticação, animais *B. indicus* permaneceram em ambiente mais hostil e em contato com os parasitas, determinando a adaptação ao ambiente tropical (O'Neill et al., 2010), isto pode ter contribuído com o desenvolvimento da resistência natural contra a prevalência dos carrapatos.

Resultados obtidos por Utech et al., (1978) indicaram que bovinos zebuínos, com aptidão para corte, foram superiores aos animais cruzados e animais de sangue europeu quanto à resistência à infestação artificial por carrapatos *R. microplus*. A resistência dos animais aos carrapatos pôde ser avaliada pelo percentual de larvas que não conseguiram atingir a fase adulta, em que animais zebuínos apresentaram menor percentual médio de larvas de carrapatos.

No Brasil, maior resistência aos carrapatos em animais zebuínos foi observada por Silva et al. (2010) e Ibelli et al. (2012) no estudo de infestações naturais e artificiais, respectivamente. Silva et al. (2010) estudaram fêmeas de diferentes grupos, e verificaram que animais Nelore apresentam significativamente ($p < 0,05$) menor quantidade de carrapatos durante todas as épocas do ano, quando comparado aos animais mestiços de Nelore e outras raças de origem européia. Os resultados

encontrados por autores como Silva et al. (2010) e Ibelli et al. (2012) evidenciam a influência da genética dos animais na quantidade de carrapatos presentes no corpo dos hospedeiros, sendo a maior resistência ao carrapato observada em bovinos com maior proporção de sangue zebuino.

Estudos mostraram que o melhoramento genético para resistência dos bovinos aos carrapatos pode ser eficiente na diminuição do número destes parasitas no corpo dos animais, embora o progresso genético possa ser lento (FRISCH et al., 2000; BUDELI et al. 2009). Nos resultados obtidos Frisch et al. (2000), em 15 anos de seleção para resistência ao carrapato, a contagem de carrapatos diminuiu linearmente ($R^2=0,93$). O número médio de carrapatos passou de 275 carrapatos/animal/dia no início da seleção, em 1983, para cerca de 40 carrapatos/animal/dia em 1998. A linearidade da resposta indicava que a resistência ao carrapato pela seleção continuaria aumentando até que fosse alcançada resistência total ou próxima do total.

Diferentes níveis de susceptibilidade são observados não apenas entre *B. indicus* e *B. taurus*, mas também entre raças de mesma origem e entre indivíduos de mesmo grupo racial (UTECH et al., 1978; FURLONG, 1993). Como existe variabilidade na resistência aos carrapatos entre os bovinos, os animais mais tolerantes poderiam ser selecionados como reprodutores, assim bovinos menos suscetíveis poderiam deixar filhos mais resistentes ao parasita, diminuindo a carga parasitária de carrapatos ao longo das gerações.

A viabilidade da seleção pode ser verificada pela estimativa da herdabilidade obtidas em pesquisas, nas quais a característica de resistência aos carrapatos é medida a partir de dados de contagem de carrapatos tomados no corpo do animal. Mackinnon et al. (1991), trabalhando com cruzamentos de taurinos e zebuínos estimaram a herdabilidade para a variável em 0,39. Os valores de herdabilidade estimados por Fraga et al. (2003) e Regitano et al. (2006) para a característica número de carrapatos foram, respectivamente, 0,22 e 0,15.

A magnitude das estimativas de herdabilidade para essas características sugerem que o ganho obtido pela seleção de resistência ao carrapato pode ser obtido tão rapidamente quanto nas características de crescimento para qualquer população de bovinos (FRISCH et al., 2000). Entretanto, embora a seleção para aumento da

resistência ao carrapato seja tecnicamente viável (MACKINNON et al., 1991; FRISCH et al., 2000; FRAGA et al., 2003; REGITANO et al., 2006), a medida da característica número de carrapatos contados em um dos lados do corpo do animal, é um processo trabalhoso, dificultando sua aplicação nos programas de melhoramento.

É importante, portanto, buscar características alternativas que possam ser utilizadas com a mesma finalidade e eficiência, mas que sejam aplicáveis nos programas de seleção, tais como a espessura do couro. No entanto, ainda são necessários estudos que demonstrem sua aplicabilidade e confirmem a relação desta variável com a resistência aos carrapatos.

3.4 Aspectos gerais da *Babesia bovis* para os bovinos

As enfermidades do complexo Tristeza Parasitária Bovina são relevantes no mundo inteiro por ocasionarem morbidade de bovinos, e, conseqüentemente, redução na produção e perdas econômicas. A Tristeza Parasitária Bovina é reconhecida pela infecção concomitante das babesioses bovina, causadas por *B. bovis* e *B. bigemina*, juntamente com a rickettsia *A. marginale* (GRISI et al. 2002).

Entre espécies que causam a babesiose bovina, a *B. bovis* é a mais patogênica (BENAVIDES & SACCO, 2007). Quando o animal se infecta ocorre multiplicação dos protozoários nos microcapilares viscerais provocando a destruição das hemácias. Com a multiplicação acentuada dos protozoários transparecem os sinais clínicos desta enfermidade, resultando em febre, depressão e hemoglobínúria, acompanhados de anemia, diarreia, fadiga muscular, convulsões e coma (JONSSON et al., 2008). Em rebanhos susceptíveis, esta síndrome aguda é responsável por alta taxa de mortalidade (ANTONIASSI et al., 2009). Os animais que se recuperam da infecção aguda tornam-se portadores assintomáticos e atuam como reservatórios de transmissão (BOCK et al., 2004).

Estudos epidemiológicos pioneiros realizados por Mahoney e Ross (1972) na Austrália, levaram a classificação das áreas de ocorrência das babesioses bovinas em áreas de estabilidade ou de instabilidade endêmica, dependendo, primariamente, da dinâmica da população dos carrapatos vetores. A estabilidade endêmica é a

situação caracterizada por estado de equilíbrio da infecção e ocorre em áreas onde o carrapato vetor é abundante e, assim, a transmissão do protozoário é frequente. Neste cenário, a infecção dos animais jovens ocorre quando estes são relativamente resistentes aos sinais clínicos da doença, e as infecções persistentes proporcionam imunidade aos bovinos dando origem a um rebanho adulto protegido (ZINTL et al., 2005). Nas áreas de instabilidade endêmica as condições climáticas não permitem o desenvolvimento das formas de vida livre dos carrapatos nas pastagens, de modo que os animais jovens não se infectam por um prolongado período após o nascimento. Além disso, os animais adultos não sofrem infestações seguidas, o que diminui os teores de anticorpos circulantes contra as babesias. Nessa situação, a exposição a carrapatos infectados poderá dar origem a graves surtos de babesiose (WALL, 1996).

Em regiões de estabilidade endêmica a presença de carrapatos nos animais do rebanho é desejável, em níveis controlados para serem capazes de manter a imunidade dos animais e amenizar perdas econômicas causadas pela doença (FURLONG, 1993). No Brasil, o carrapato *R. microplus* é o único vetor biológico da *B. bovis* e as condições climáticas favorecem o desenvolvimento dos carrapatos vetores ao longo de quase todos os meses do ano, assim a maior parte do território pode ser classificada como de estabilidade endêmica.

Métodos eficientes de diagnóstico precisam ser implantados para monitorar a prevalência da infecção por *B. bovis* nos animais do rebanho. O diagnóstico clínico é pouco eficiente para inferir se o animal está infectado por babesia dado que os sinais clínicos podem ser confundidos com de outras doenças (KESSLER & SCHENK, 1998), além disso, em níveis baixos de parasitemia, não é possível diagnosticar a enfermidade por meio deste método. Após o diagnóstico clínico, comumente é realizado método de diagnóstico por identificação dos protozoários em esfregaços sanguíneos. Embora este teste seja prático e de custo reduzido, não apresenta sensibilidade suficiente para detecção dos parasitos quando empregado em animais com infecções subclínica ou crônica (TERKAWI et al. 2011).

Quando há baixa prevalência dos protozoários, o diagnóstico pode ser realizado por meio de estudos sorológicos, os quais são importantes ferramentas para determinar as condições epidemiológicas em determinada região, indicando se há

necessidade da adoção de estratégias de controle para minimizar os efeitos da doença (MADRUGA et al., 2000). Dentre os estudos sorológicos, destaca-se o Ensaio Imuno Enzimático ELISA-teste, o qual foi considerado avançado na sensibilidade, na especificidade, padronização e reprodutibilidade para a detecção de anticorpos específicos contra os agentes da babesiose bovina (MACHADO et al., 1997).

Outra técnica de diagnóstico que mostrou elevada sensibilidade e especificidade, foi a aplicação dos testes baseados na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Entretanto, estes testes convencionais só permitem detectar de forma qualitativa a parasitemia dos animais, não indicando o nível da parasitemia. A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo em Tempo Real (qPCR) pode ser alternativa na superação dessas limitações. Esta técnica possibilita o diagnóstico das babesioses bovinas e a estimativa aproximada do nível de parasitemia pelo parasita nos animais, mediante a amplificação de uma sequência de DNA específica. Estes testes permitiram avaliar o nível de parasitemia por *Babesia spp.* em bovinos de diferentes grupos genéticos (BILHASSI et al., 2014), mostrando que animais de raças zebuínas e mestiços conseguem manter níveis menores de infecção comparado com os taurinos.

Embora a técnica de qPCR para quantificação do nível de parasitemia por babesias tenha sido desenvolvida recentemente (BULING et al., 2007), não existem muitos estudos avaliando esta característica em zebuínos ou taurinos e, portanto, não se conhecem parâmetros populacionais ou genéticos. Também não se conhece a relação dos níveis de parasitemia por *B. bovis* e os níveis de infestação por carrapatos nos mesmos animais, assim como a relação com características de crescimento. Esta informação pode ser importante não apenas para estudos epidemiológicos, mas também para definir critérios e objetivos de seleção.

4. Referências bibliográficas

ANTONIASSI, N. A. B.; CORRÊA, A. M. R.; SANTOS, A. S.; PAVARINI, S. P.; SONNE, L.; BANDARRA, P. M.; DRIEMEIER, D. Surto de babesiose cerebral em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.933-936, 2009.

BENAVIDES, M. V. & SACCO, A. M. S. Differential *Bos taurus* cattle response to *Babesia bovis* infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.150, n.1/2, p.54–64, 2007.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B.; KICHEL, A. N.; TORRES, R. A. A.; HONER, M. R. The effect of the control of endo and ectoparasites on weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Tropical Animal Health Production**, Edinburgh, v.39, n.4, p.287-296, 2007.

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

BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A.; JORGENSEN, W. Babesiosis of cattle. **Parasitology**, London, v.129, p.247–269, 2004.

BONSMA, J. C. Breeding cattle for increased adaptability to tropical and subtropical environments. **Journal of Agricultural and Science**, Cambridge, v.39, p.204-221, 1949.

BONSMA, J. C. Hereditary heart water-resistant characters in cattle. **Farming South Africa**, Pretoria, v.19, p.71-96, 1944.

BRITO, L. G.; BARBIERI, F. S.; ROCHA, R. B.; OLIVEIRA M. C. S.; RIBEIRO, E. S. Evaluation of the efficacy of acaricides used to control the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, in dairy herds raised in the brazilian southwestern Amazon. **Veterinary Medicine International**, London, p.1-6, 2011.

BUDELI, M. A.; NEPHAWE, K. A.; NORRIS, D. N.; SELAPA, W; BERGH, L.; MAIWASHE, A. Genetic parameter estimates for tick resistance in Bonsmara cattle. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v.39, p.321-327, 2009.

BULING, A.; CRIADO-FORNELIO, A.; ACENZO, G.; BENITEZ, D.; BARBA-CARRETERO, J. C.; FLORIN-CRISTENSEN, M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *B. bovis* and *B. bigemina*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.147, p.16-25, 2007.

CARRERA, J. P. B. **Parâmetros genéticos para resistência aos carrapatos, helmintos gastrointestinais e *Eimeria spp.* e perspectivas do uso de seleção em bovinos da raça Nelore.** 2013. 52f. Tese (Mestrado) – Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

DOWLING, D. F. The thickness of cattle skin. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.6, p.776-785, 1955.

FAO - Food And Agriculture Organization Of The United Nations. **Faostat.** Rome, 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: set. 2014.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.32, supl.1, p.1578-1586, 2003.

FRISCH, J. E.; O'NEIL, C. J.; KELLY, M. J. Using genetics to control cattle parasites - the Rockhampton experience. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.30, p.253-264, 2000.

FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG**, Belo Horizonte, n.8, p.49-61, 1993.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; BARROS, A. T. M. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.8, p.1447 – 1452, 2011.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi.** Porto Alegre: Edição do Autor, 1993. 80 p.

GREGORY, I. P. Genetic studies of South Australian merino sheep IV genetic, phenotypic and environmental correlations between various wool and body traits. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.33, p.363-373, 1982.

GRISI, L.; LEITE, R. C. L.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.150-156, 2014.

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

IBELLI, A. M. G.; RIBEIRO, A. R. B.; GIGLIOTI, R.; REGITANO, L. C. A.; ALENCAR, M. M.; CHAGAS, A. C. S.; PAÇO, A. L.; OLIVEIRA, H. N.; DUARTE, J. M. S.; OLIVEIRA, M. C. S. Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.186, p.425-430, 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: set. 2014.

JONSSON, N. N., BOCK, R. E.; JORGENSEN, W. K. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.155, p.1-9, 2008.

JONSSON, N. N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.137, p.1-10, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica - texto e atlas**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 524p.

KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 1998.

MACHADO, R. Z.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A.; LEMOS, E. G.; MACHADO, M. R. F.; VALADÃO, I. F. F.; BARCI, L. G.; MALHEIROS, E. B. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection on antibodies against *Babesia bovis* in cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.71, p.17-26, 1997.

MACKINNON, M. J.; MEYER, K.; HETZEL, D. J. S. Genetic variation and covariation for growth, parasite resistance and heat tolerance in tropical cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.27, p.105-122, 1991.

MADRUGA, C. R.; MARQUES, A. P. C.; LEAL, C. R. B.; CARVALHO, C. M. E.; ARAÚJO, F. R.; KESSLER, R. H. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against *Anaplasma marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.20, n.3, p.109-112, 2000.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D. R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.48, p.292-8, 1972.

MOORING, M. S.; MAZHOWU, W.; SCOTT, C. A. The effect of rainfall on tick challenge at Kyle Recreational Park in Zimbabwe. **Experimental Applied Acarology**, Amsterdam, v.18, p.507-580, 1994.

O'NEILL, C. J.; SWAIN, D. L.; KADARMIDEEN, H. N. Evolutionary process of *Bos taurus* cattle in favorable versus unfavorable environments and its implications for genetic selection. **Evolutionary Applications**, Hoboken, v.3, n.5, p.422-433, 2010.

PARIZI, L. F.; POHL, P. C.; MASUDA, A.; JUNIOR, I. S. V. New approaches toward anti-*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick vaccine. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.18, n.1, p.1-7, 2009.

REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; CARVALHO, M. E.; ANDRÉO, R.; MOREIRA, I. C.; NÉO, T. A.; BARIONI JÚNIOR, W.; SILVA, A. M. Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Brasília, n.121, p.1-15, 2006.

RIEK, R. F. Studies on the reactions of animals infested with ticks: VI. Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.13, p.532-550, 1962.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F.; ROLL, V. F. B.; MONTEIRO, S. G. In vitro effect of the association of citronella, santa maria herb (*Chenopodium ambrosioides*) and quassia tincture on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, n.1, p.113-119, 2013.

SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; BARIONI JÚNIOR, W. Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. **Genetics Molecular Biology**, Amsterdam, v.30, p.1150-1155, 2007.

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

SIMON, L.; HERNANDEZ, K.; LOPEZ, O. Comportamiento productivo de machos Holstein x Cebú en silvopastoreo. **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v.32, p.189, 2009.

SLEE, J.; ALEXANDER, G.; BRADLEY, L. R.; JACKSON, N.; STEVENS, D. Genetic aspects of cold resistance and related characters in newborn Merino lambs. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.31, n.2, p.175-182, 1991.

SNELSON, J. T. Animal ectoparasites and disease vectors causing major reductions in world food supplies. **FAO Plant Protection Bulletin**, Roma, v.13, p.103-114, 1975.

TERKAWI, M. A.; HUYEN, N. X.; SHINUO, C.; INPANKAEW, T.; MAKLON, K.; ABOULAILA, M.; UENO, A.; GOO, Y.; YOKOYAMA, N.; JITTAPALAPONG, S.; XUAN, X.; IGARASHI, I. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v.178, p.201–207, 2011.

TULLOH, N. M. Variations in the skin and skin-fold thickness of beef cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.12, p.992-1004, 1961.

USDA. United State Departament of Agriculture. **Livestock. PSD: production, supply and distribution online**. Washington, 2013. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: set. 2014.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H. Breeding for resistance to *Boophilu smicroplus* in Australian Illawarra Shorthorn and Brahman x Australian Illawarra Shorthorn cattle. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.58, p.41-46, 1982.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H.; KERR, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.29, p.885-895, 1978.

VERÍSSIMO, C. J.; Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil. **Revista de educação continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do crMV-SP**, São Paulo, v.11, n.1, p.14 – 23, 2013.

VILLARES, J. B. Climatologia Zootécnica. III. Contribuição ao estudo da resistência e susceptibilidade genética dos bovinos ao *B. microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.4, p.60-79, 1941.

WAAL, D. T. de. Vaccination against Babesiosis. **Acta Parasitologica Turcica**, Izmir, v.20, p.487-516, 1996.

WAAL, T. de; COMBRINK, M. P. Live vaccines against bovine babesiosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.138, n.1-2, p.88-96, 2006.

WAMBURA, P. N.; GWAKISA, P. S.; SILAYO, R. S.; RUGAIMUKAMU, E. A. Breed associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.77, p.63-70, 1998.

WILKINSON, P. R. Selection of cattle for tick resistance, and the effect of herds of different susceptibility on *Boophilus* populations. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, v.13, p.974-983, 1962.

ZINTL, A.; GRAY, J. S.; SKERRETT, H. E.; MULCAHY, G. Possible mechanisms underlying age-related resistance to bovine babesiosis. **Parasite Immunology**, v.27, p.115-120, 2005.

CAPÍTULO 2 – ESTUDO GENÉTICO DA ESPESSURA DO COURO E SUA ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICA DE CRESCIMENTO PÓS DESMAMA EM BOVINOS NELORE: ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS

RESUMO - O objetivo deste estudo foi estimar os parâmetros genéticos das características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550) em bovinos da raça Nelore. Foram utilizados registros de 152.392 animais Nelore, nascidos entre as safras de 2001 a 2011. A medida da EC foi realizada com uso de paquímetro de escala milimétrica na região posterior a escápula do animal. Os grupos contemporâneos (GC) foram formados com as variáveis propriedade, safra, sexo, regime alimentar na desmama, data da desmama, regime alimentar aos 450 dias de idade e data da pesagem aos 450 dias de idade. Os parâmetros genéticos foram estimados por análise bayesiana com uso do programa GIBBS1F90. As médias observadas para EC e GPD550 foram, respectivamente, $7,71 \pm 2,04$ mm e $115,95 \pm 36,17$ kg. As estimativas *a posteriori* médias da herdabilidade (h^2) das características EC e GPD550 foram $0,12 \pm 0,02$ e $0,29 \pm 0,02$, respectivamente. As estimativas *a posteriori* médias das correlações fenotípica, genética e ambiental entre as características foram $0,16 \pm 0,00$, $0,17 \pm 0,02$ e $0,17 \pm 0,09$, respectivamente. As características EC e GDP550 apresentam variância genética aditiva suficiente para serem utilizada como critério de seleção em programas de melhoramento genético. A baixa correlação genética obtida indica que genes favoráveis à expressão de uma característica pode não influenciar a outra, de forma que a seleção que possa favorecer EC será pouco eficiente para aumentar GPD550.

Palavras-chave: espessura do couro, ganho de peso pós desmama, bovinos, análise bayesiana, herdabilidade, correlação

Introdução

As infestações por carrapatos representam um desafio para a bovinocultura de corte nas regiões tropicais e subtropicais, dado que promovem perdas econômicas consideráveis, devido as consequências das doenças transmitidas, ocasionando ainda, limitação no ganho de peso e morte. No Brasil, as condições climáticas favoráveis possibilitam principalmente a ocorrência do carrapato *Rhipicephalus microplus*, que acomete os bovinos em todo o território nacional (GONZALES, 1993), sendo consequentemente uma das principais causas de perda econômica em bovinos criados a pasto (PARIZI et al., 2009).

Segundo Mackinnon et al. (1991), pode ser verificada correlação genética negativa do nível de infestação de carrapatos com ganho pós desmama, assim, animais altamente infestados representariam prejuízos à bovinocultura de corte. Em estudo realizado por Frisch et al. (2000), a redução anual no ganho de peso seria de 10 a 15 kg associada a carga parasitária de 40 carrapatos/dia.

O melhoramento genético para resistência dos bovinos aos carrapatos pode ser eficiente na diminuição do número destes parasitas no corpo dos animais (FRISCH et al., 2000; BUDELI et al. 2009). A raça dos bovinos tem grande influência no nível de infestação de carrapatos (WAMBURA et al., 1998), assim, a utilização de animais geneticamente resistentes é alternativa utilizada no controle dos carrapatos e na redução dos custos.

A magnitude da estimativa da herdabilidade para características resistência aos carrapatos sugere que o ganho por meio da seleção pode ser obtido tão rapidamente quanto nas características de crescimento (FRISCH et al., 2000). Entretanto, embora a seleção para aumento da resistência ao carrapato seja tecnicamente viável em virtude das estimativas de herdabilidade, a metodologia que baseia-se na contagem de fêmeas de carrapato em um dos lados do corpo dos bovinos (WHARTON & UTECH, 1970) é processo trabalhoso e pouco utilizado em rebanhos comerciais. É importante, portanto, buscar características alternativas e eficientes que possam ser utilizadas na seleção de bovinos resistentes. É possível que a espessura do couro tenha influência na resistência do animal aos carrapatos e, assim, a relação da

espessura do couro com o ganho de peso, em bovinos de corte, deve ser estudada, uma vez que bovinos mais infestados por carrapatos tendem a ganhar menos peso.

A espessura do couro é uma barreira física que dificulta a perfuração do couro dos bovinos pelos carrapatos (CARRERA, 2013), desta forma, acredita-se que maior proteção do animal é dada com o aumento da espessura. Riek (1962) relatou que as áreas de maior fixação das larvas, no verão, foram áreas de couro fino como flanco, axila e barbel. Assim, áreas do corpo do bovino com espessuras mais finas podem ser áreas de preferência para fixação das larvas dos carrapatos.

Estudos disponibilizando a estimativa da herdabilidade da característica espessura do couro em bovinos não foram encontrados na literatura. Dado o fundamento acerca da espessura do couro e a necessidade de conhecer os parâmetros genéticos, assim como verificar a relação genética com outras características de interesse econômico, foi realizado estudo com objetivo de estimar os parâmetros genéticos das características espessura do couro e ganho de peso pós desmama em bovinos Nelore.

Material e métodos

Foram utilizadas, no estudo, registros de 152.392 animais Nelore, nascidos nas safras de 2001 até 2011, com medidas de espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550). O banco de dados foi proveniente do programa de melhoramento genético Nelore Qualitas que utiliza seleção de várias características simultaneamente, para isto, foi fundamentado índice de seleção em que todos os desempenhos esperados na progênie (DEP) foram padronizados pela divisão de cada DEP pelo desvio padrão genético da característica. No índice de seleção do Nelore Qualitas, são considerados 20% da DEP para peso à desmama, 40% da DEP para ganho de peso pós desmama, 20% da DEP para perímetro escrotal e 20% da DEP para musculosidade ao sobreano. Os animais pertencentes ao Nelore Qualitas foram criados em regime alimentar de pasto, em fazendas localizadas nos estados de São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins e Rondônia. No conjunto

de dados do programa tem medidas de pesagens desde a safra de 1994 e de medidas de espessura de couro desde a safra de 2001.

A mensuração da espessura do couro foi realizada com uso de paquímetro de escala milimétrica na região posterior a escápula logo após o cupim do animal. A medição da EC dos animais foi realizada em idade próxima aos 450 dias. Segundo Dowling (1995), o método mais utilizado e aceito para avaliar a EC é a mensuração por meio da dobra de pele. A região posterior a escápula é o melhor local para obtenção da medida nos bovinos por ser relativamente uniforme nessa área (TULLOH et al., 1961). Os bovinos foram medidos com intuito de identificar e selecionar animais com couro mais espesso, que são considerados pelo programa como animais mais adaptados e resistentes aos carrapatos. O ganho de peso pós desmama foi calculado por meio da diferença entre peso padronizado aos 550 dias de idade e peso padronizado aos 205 dias de idade.

As estatísticas descritivas das variáveis e estruturação dos arquivos de análise foram realizadas por meio do programa Statistical Analysis System (SAS, 2010). O procedimento GLM do programa SAS foi utilizado na definição dos efeitos não genéticos considerados no modelo estatístico empregado nas análises para estimação dos parâmetros genéticos.

Os grupos contemporâneos (GC) foram definidos pelas variáveis propriedade, safra, sexo, regime alimentar na desmama, data da desmama, regime alimentar aos 450 dias de idade e data da pesagem aos 450 dias de idade. Foram considerados somente dados de animais com idade superior a 490 dias e inferior a 610 dias, ou seja, foi mantida diferença máxima de 120 dias entre os animais mais novos e os mais velhos. Foram descartados GC pouco representativos, com menos de 10 animais, menos de três pais e registros de animais com pais desconhecidos. Após esta primeira consistência, foram desconsideradas medidas de animais com valores para as características acima ou abaixo de 3,5 desvios padrão da média dentro de GC. O banco de dados resultante conteve registros de 27.936 animais, 477 pais, 18.128 mães e 998 grupos contemporâneos.

Na formação do arquivo de pedigree, foi incluído o parentesco de animais com observações fenotípicas das características até seis gerações de ascendentes. A matriz de parentesco foi formada com 50.288 animais.

Inicialmente, a estimação dos componentes de (co)variâncias foi realizada em abordagem frequentista, por meio de análises uni e bivariadas, com o intuito de obter os valores iniciais a serem utilizados nas análises com inferência bayesiana, seguindo recomendações de Kass et al. (1998) e Misztal (2008). Para as análises iniciais foi utilizado o programa AIREMLF90 (MISZTAL, 2014a), que faz uso do algoritmo de informação (AI), desenvolvido por Gilmour et al. (1995) e Johnson e Thompson (1995), que representa a média da matriz de informação de Hessian e Fisher (FALCONER e MACKAY, 1996).

Na estimação dos componentes de (co)variâncias sob abordagem bayesiana, foi utilizado modelo multicaracterística que incluiu as características EC e GPD550. A análise bayesiana foi realizada com uso do programa GIBBS1F90 (MISZTAL, 2014a) para obter as estimativas *a posteriori* dos componentes de (co)variâncias via amostragem das distribuições condicionais por meio de algoritmo iterativo e que permite a obtenção das distribuições marginais *a posteriori* dos componentes (RESENDE et al., 2012).

O modelo estatístico utilizado em notação matricial foi:

$$y = X\beta + Z\alpha + e$$

em que: y é o vetor dos caracteres observados (EC, GPD550); β é o vetor dos efeitos sistemáticos; α é o vetor dos efeitos aleatórios genéticos aditivos de animal; e é o vetor dos efeitos aleatórios residuais; e X e Z são as matrizes de incidência relacionadas com os efeitos sistemáticos e genéticos aditivos de animal, respectivamente. Assumiu-se que os efeitos aleatórios genéticos aditivos de animal e resíduo eram independentes e que $E[\alpha] = 0$ e $E[e] = 0$, assim, $E[y] = X\beta$, $\sigma_a^2 = A \otimes \Sigma \alpha$ e $\sigma_e^2 = IN \otimes \Sigma e$, em que: $\Sigma \alpha$ é a matriz de covariâncias genéticas aditivas; Σe é a matriz de covariâncias residuais; A é a matriz de parentesco; I é a matriz identidade de ordem apropriada; N é o número de animais com registros; e $\otimes$ denota o produto direto entre as matrizes.

As distribuições *a priori* dos efeitos considerados no modelo foram definidas no programa. Para os efeitos sistemáticos assumiu-se distribuição *a priori* não informativa com $p(\beta) \propto \text{constante}$. Para as variâncias genéticas e residuais dos efeitos aleatórios, inclusive para as covariâncias, foram especificadas distribuições Wishart invertidas (VAN TASSEL e VAN VLECK, 1996). As distribuições iniciais Wishart invertidas para os componentes de (co)variância foram consideradas mutuamente independentes. As distribuições condicionais a posteriori dos efeitos β , α e e foram amostradas de distribuições normais multivariadas.

Para a implementação da amostragem de Gibbs foi considerada cadeia única com comprimento de 1.100.000 ciclos e com período de descarte e intervalo amostral de 100.000 e 20 ciclos, respectivamente. O período de descarte e o intervalo foram estabelecidos empiricamente.

A convergência dos resultados pós-amostragem de Gibbs foi verificada por meio de inspeção gráfica, tamanho efetivo da cadeia e pelo teste proposto por Geweke (1992). O diagnóstico de convergência pelo tamanho efetivo da cadeia é baseado nas médias e variâncias e não tem utilidade em parâmetros que apresentam distribuições *a posteriori* que diferem do Gaussiano (GELMAN et al., 2013). Como as densidades marginais *a posteriori* de todos componentes de (co)variâncias se aproximaram da normalidade, o diagnóstico com base no tamanho efetivo da cadeia deve ser eficiente. Segundo Misztal (2014b), componentes que apresentam tamanho efetivo acima de 10 podem ser considerados convergidos.

Para ambas as características, as (co)variâncias *a posteriori* foram usadas para a estimação das medidas de tendência central das herdabilidades e correlações *a posteriori*, bem como na obtenção dos desvios padrão *a posteriori* e intervalos de maior densidade *a posteriori* a 95% (HPD 95%).

Resultados e discussão

Os valores dos coeficientes de variação observados para as características EC e GPD550 (Tabela 1) são considerados de moderados a altos. Dessa forma, caso a característica EC seja alvo de seleção, tem-se animais com valores nos extremos, ou

com couro fino ou grosso, a serem escolhidos para uso como reprodutores. Segundo Carreira (2013), quanto mais espesso for o couro do animal mais difícil é o acesso dos carrapatos ao sangue. Desta forma, espera-se que bovinos com medidas de EC altas sejam mais resistentes aos carrapatos.

Para a característica GPD550, valores similares ao observado para a média foram mencionados na literatura em populações de bovinos da raça Nelore (BOLIGON et al., 2011; LAUREANO et al., 2011).

Tabela 1. Estatísticas descritivas das características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550) de bovinos Nelore.

Características	Nº obs	Média ± DP	Valores		CV (%)
			Min	Max	
EC, mm	17.940	7,71 ± 2,04	4,0	14,0	26,50
GPD550, kg	26.993	115,95 ± 36,17	8,0	227,0	31,19

Nº obs, número de observações; DP, desvio padrão; Min, valor mínimo; Max, valor máximo; CV, coeficiente de variação.

Os traços das estimativas a posteriori dos componentes genéticos (Figura 1) e residuais (Figura 2) demonstram a convergência das cadeias. Isto foi verificado (Figura 1) observando que as cadeias apresentam fase estacionária, não necessitando de maior período de descarte amostral, e que as cadeias não apresentam a distribuição dos valores com grandes mudanças conforme a progressão dos ciclos. Os aspectos de estacionariedade da cadeia são também verificados pelas medidas de tendência central simétricas das estimativas dos componentes (Tabela 2), verificado também pela visualização das densidades marginais a posteriori.

O menor tamanho efetivo da cadeia (TEC) obtido no trabalho foi 98 ciclos, referente a variância genética aditiva e residual do GPD550 (Tabela 2). As estimativas de TEC dos componentes de (co)variâncias indicam o número de amostras independentes com informação equivalente àquelas contidas dentro da amostra dependente (SORENSEN et al., 1995). Segundo Misztal (2014b), TEC mínimo esperado para atingir convergência deve ser de 10 amostras. Dessa forma, as estimativas de TEC obtidas no presente trabalho indicam que a cadeia estipulada (1.100.000 ciclos) foi suficiente para obter número de TEC e convergência em todas as estimativas obtidas dos componentes de (co)variâncias.

Conforme o teste proposto por Geweke (1992), não houve ausência de convergência do amostrador de Gibbs. Os valores apresentados na Tabela 2 foram menores que 1, ou seja, a diferença da primeira metade e última metade é menor que 1, indicando convergência das estimativas.

De acordo com os critérios utilizados para verificar a convergência da análise realizada por Inferência bayesiana, os 100.000 ciclos do período de descarte e 20 ciclos de intervalo de amostragem considerados na implementação da amostragem de Gibbs foram suficientes na obtenção de parâmetros de dispersão acurados das estimativas *a posteriori* das (co)variâncias. Dessa forma, pode-se inferir que as estimativas dos componentes obtidos representam as distribuições marginais *a posteriori* dos componentes.

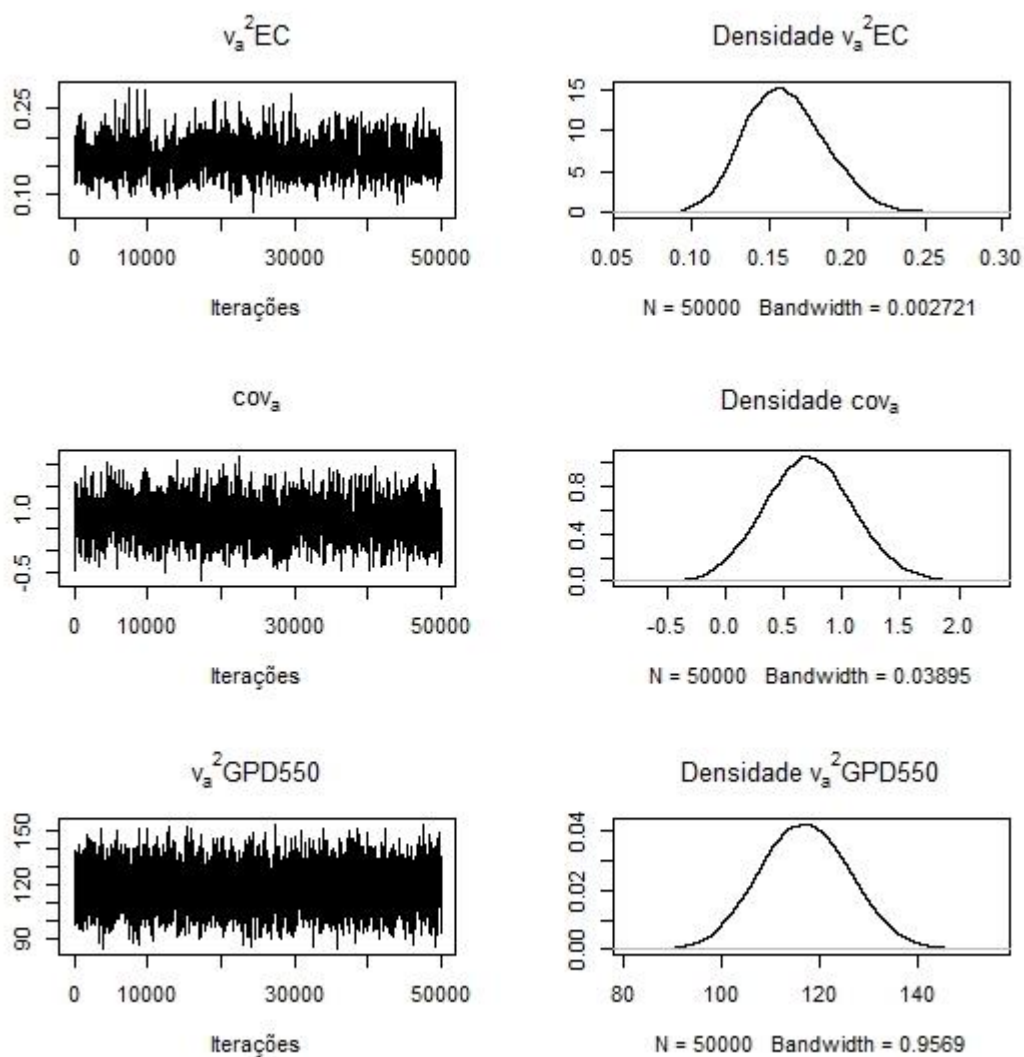


Figura 1. Estimativas dos traços e densidade *a posteriori* dos componentes de variância genética aditiva (v_a^2) e covariância aditiva (cov_a) das características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550).

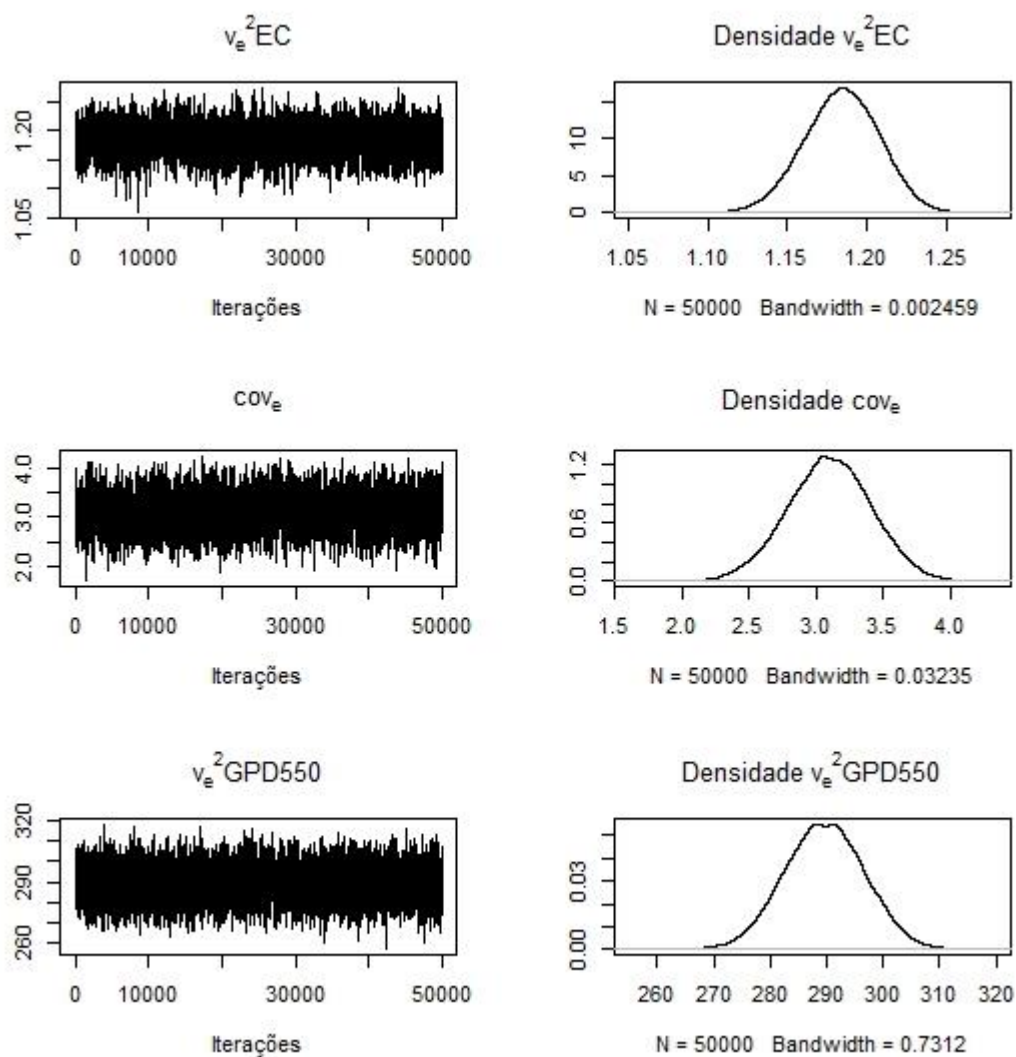


Figura 2. Estimativas dos traços e densidade *a posteriori* dos componentes de variância residual (v_e^2) e covariância residual (cov_e) das características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550).

Tabela 2. Estatísticas descritivas das estimativas *a posteriori* dos componentes de (co)variâncias obtidas em análise bayesiana para a característica espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550) em bovinos Nelore

Componentes de (co)variâncias		Média	Mediana	Moda	HPD 95%	TEC	Diagnóstico de Geweke
EC	v_a^2	0,16±0,03	0,16	0,16	0,11 a 0,21	406	-0,02
	v_e^2	1,18±0,02	1,19	1,18	1,14 a 1,23	403	0,03
GPD550	v_a^2	117,06±9,25	117,00	114,87	99,11 a 135,00	98	0,02
	v_e^2	289,62±7,07	289,60	286,89	275,80 a 303,30	98	-0,02
ECxGPD550	cov _A	0,72±0,38	0,71	0,650	-0,02 a 1,45	252	0,15
	cov _e	3,10±0,31	3,10	3,05	2,48 a 3,71	222	-0,14

HPD 95%, intervalo de maior densidade *a posteriori* a 95%; TEC, tamanho efetivo da cadeia; v_a^2 , variância genética aditiva; v_e^2 , variância residual; cov_A, covariância genética aditiva; cov_e, covariância residual.

As densidades marginais *a posteriori* das estimativas de herdabilidade das características EC e GPD550 (Figura 3) foram obtidas a partir dos valores das densidades marginais *a posteriori* das variâncias genéticas aditivas e residuais. Conforme as amostras das densidades *a posteriori* das (co)variâncias, as medidas de tendência central como média, moda e mediana das densidades marginais posteriores das estimativas de herdabilidade também apresentaram similaridade, demonstrando simetria. Os procedimentos bayesianos fornecem estimativas mais precisas em relação às obtidas com uso de abordagem frequentista e tem como vantagem a obtenção dos desvios padrão e intervalo de confiança, bem como as densidades marginais posteriores (RESENDE et al., 2012).

A estimativa *a posteriori* da média da herdabilidade obtida para EC foi $0,12 \pm 0,02$. Estudos disponibilizando a estimativa da herdabilidade da característica espessura do couro em bovinos não foram encontrados na literatura. Em ovinos, a característica tem importância econômica pelo fato de estar associada a diferenças na produção de lã, e coeficientes de herdabilidade para a característica foram obtidos por Slee et al. (1991) e Gregory (1982) com valores de 0,35 e 0,22 a 0,79, respectivamente. Portanto, considerando os resultados da estimativa de herdabilidade descrita na literatura, para outra espécie, e o valor encontrado neste estudo, a característica espessura do couro apresenta variância genética aditiva suficiente para ser utilizada como critério de seleção em programas de melhoramento genético

animal. Ainda que, a estimativa *a posteriori* da média da herdabilidade da EC obtida na população estudada apresenta-se baixa, com possibilidade de ganho genético lento, o uso como critério de seleção da EC, sugere obter benefícios e proporcionar aumento do número de animais com genótipos desejáveis.

A estimativa *a posteriori* da herdabilidade obtida para GPD550 foi moderada ($0,29 \pm 0,02$), com região de credibilidade de 0,25 a 0,33. A estimativa de herdabilidade encontrada por Laureano et al. (2011), pelo método da máxima verossimilhança restrita, foi 0,23, valor inferior ao obtido neste estudo. Em análise bayesiana, Van Melis et al. (2010) e Boligon et al. (2012) obtiveram estimativas de herdabilidade de 0,25 e 0,30, respectivamente, para a característica ganho de peso pós desmama em bovinos Nelore, valores que se encontram dentro da amplitude obtida neste trabalho. A estimativa *a posteriori* da herdabilidade obtida no trabalho está de acordo com estimativas de herdabilidade obtidas por outros autores em populações de animais Nelore e sugerem que o emprego da seleção direta para esta característica deve resultar em progresso genético na população.

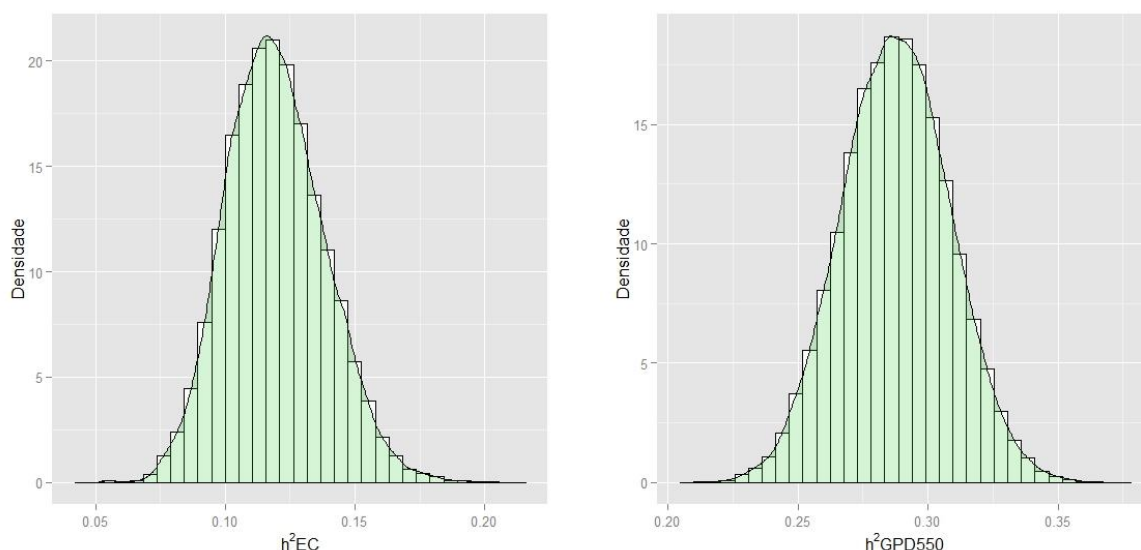


Figura 3. Densidades marginais *a posteriori* das estimativas de herdabilidade (h^2) das características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550) em análise bayesiana bicaracterística.

A estimativa *a posteriori* média da correlação genética entre as características EC e GPD550O foi baixa (Tabela 3), indicando que os genes favoráveis à expressão de uma característica podem não influenciar a expressão da outra. Entretanto, considerando o valor positivo, a seleção para uma das características não irá prejudicar o ganho genético na outra. Caso o objetivo seja obter ganho genético simultâneo para ambas as características, seria indicada a composição de um índice de seleção ponderado, dando maior ênfase no ganho de peso pós desmama.

A estimativa *a posteriori* média da correlação fenotípica entre EC e GPD550 foi $0,16 \pm 0,00$, indicativo de baixa associação das variáveis, sendo assim, animais com maiores medidas de EC, em geral, não foram os animais que ganharam mais peso na fase pós desmama. Quanto à correlação ambiental, com valor médio obtido de $0,17 \pm 0,09$, sugere que os desvios do meio que possivelmente influenciaram de forma favorável o ganho de peso tiveram pouca influência na espessura do couro. Estimativas de correlação entre espessura do couro e características ponderais são escassas na literatura, portanto, a realização de mais estudos analisando diferentes conjuntos de dados seria interessante para fornecer parâmetros comparativos.

Geralmente, os fatores não genéticos, que afetam o ganho de peso pós desmama, estão ligados ao sexo do bezerro, ano e época de nascimento (SILVA et al., 2004), rebanho e regime alimentar (SANTOS et al., 2012) além de bom manejo nutricional e sanidade do rebanho. Com base nos resultados obtidos de correlação ambiental entre EC e GPD550, os fatores não aditivos que influenciam o GPD550 não devem afetar a espessura do couro, indicando que possivelmente as diferenças da EC entre os animais não sejam afetadas no período pós desmama.

O escopo deste trabalho foi estimar parâmetros genéticos da espessura do couro tendo em vista a falta de estudos descrevendo seus componentes de variância, e verificar a associação genética, ambiental e fenotípica com a característica ganho de peso pós desmama, a qual possui interesse econômico para a bovinocultura de corte. Considerando os alicerces científicos anteriores averiguando a associação objetiva da espessura do couro com a resistência aos carrapatos, torna-se necessário decidir se a característica deve ser considerada como critério de seleção em programas de melhoramento animal de forma a contribuir positivamente com índices

produtivos do rebanho, entretanto cabe ressaltar que não houve, neste trabalho, forte correlação genética entre espessura do couro e ganho de peso pós desmama.

Tabela 3. Estatística descritiva das estimativas *a posteriori* dos parâmetros genéticos obtidos para as características espessura do couro (EC) e ganho de peso pós desmama (GPD550), de animais Nelore, em análise bayesiana bicaracterística.

Parâmetros		Média	Mediana	Moda	HPD 95%
EC	h ²	0,12±0,02	0,12	0,13	0,09 a 0,16
GPD550		0,29±0,02	0,29	0,29	0,25 a 0,33
	r _a	0,17±0,09	0,17	0,24	0,00 a 0,34
ECxGPD550	r _e	0,17±0,02	0,17	0,14	0,13 a 0,20
	r _f	0,16±0,00	0,16	0,17	0,14 a 0,18

HPD 95%; intervalo de maior densidade *a posteriori* a 95%; h², estimativa *a posteriori* da herdabilidade; r_a, estimativa *a posteriori* da correlação genética; r_e, estimativa *a posteriori* a correlação ambiental; r_f, estimativa *a posteriori* da correlação fenotípica, respectivamente.

Conclusões

As estimativas *a posteriori* médias da herdabilidade das características espessura do couro e ganho de peso pós desmama, obtida na população em estudo, indicam possibilidade de obtenção de ganho genético nas características em longo prazo.

A baixa correlação genética obtida entre espessura do couro e ganho de peso pós desmama indica que a seleção utilizando como critério a espessura do couro será pouco eficiente em obter progresso na característica ganho de peso pós desmama, sugerindo que o uso da espessura do couro como critério de seleção não deve contribuir com aumento dos índices produtivos em rebanhos de bovinos de corte.

Referências bibliográficas

BOLIGON, A. A.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic correlations between heifer subsequent rebreeding and age at first calving and growth traits in Nelore cattle by Bayesian inference. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.11, n.4, p.4516-4524, 2012.

BOLIGON, A. A.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic parameters and relationships between growth traits and scrotal circumference measured at different ages in Nelore cattle. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.34, p.225-230, 2011.

BUDELI, M. A.; NEPHAWA, K. A.; NORRIS, D. N.; SELAPA, W.; BERGH, L.; MAIWASHE, A. Genetic parameter estimates for tick resistance in Bonsmara cattle. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v.39, p.321-327, 2009.

CARRERA, J.P.B. **Parâmetros genéticos para resistência aos carrapatos, helmintos gastrointestinais e *Eimeria spp.* e perspectivas do uso de seleção em bovinos da raça Nelore**. 2013. 52f. Tese (Mestrado) – Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

DOWLING, D. F. The thickness of cattle skin. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.6, p.776-785, 1955.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C., **Introduction to quantitative genetics**, 4.ed. Essex: Longman, 1996.

FRISCH, J. E.; O'NEIL, C. J.; KELLY, M. J. Using genetics to control cattle parasites - the Rockhampton experience. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.30, p.253-264, 2000.

GELMAN, A.; CARLIN, J. B.; HAL, S. S.; DUNSON, D. B.; AKI, V.; DONALD, B. R. **Bayesian data analysis**. Boca Raton: CRC Press, 2014. 649p.

GEWEKE, J. Evaluating the accuracy of sampling- based approaches to the calculation of posterior moments. In: BERNARDO, J.M.; BERGER, J.O.; DAWID, A.P.; SMITH, A.F.M. **Bayesian statistics**. 4th. New York: Oxford University, 1992. p.625-631.

GILMOUR, A. R.; THOMPSON, R.; CULLIS, B. R. Average information REML: An efficient algorithm for variance parameters estimation in linear mixed models, **Biometrics**, Washington, v.51, p.1440–1450, 1995.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. Porto Alegre: Edição do Autor, 1993. 80p.

GREGORY, I. P. Genetic studies of South Australian merino sheep IV genetic, phenotypic and environmental correlations between various wool and body traits. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.33, p.363-373, 1982.

JENSEN, J.; MANTYSAARI, E. A.; MADSEN, P.; THOMPSON, R. Residual maximum likelihood estimation of (co)variance components in multivariate mixed linear models using average information. **Journal of the Indian Society of Agricultural Statistics**, New Delhi, v.49, p.215–236, 1997.

JOHNSON D. L. & THOMPSON R. Restricted maximum likelihood estimation of variance components for univariate animal models using sparse matrix techniques and average information, **Journal of Dairy Science**, Amsterdam, v.78, p.449–456, 1995.

KASS, R. E.; CARLIN, B. P.; GELMAN, A.; NEAL, R. M. Markov chain Monte Carlo in practice: a roundtable discussion. **American Statistician**, Washington, v.52, p.93-100, 1998.

LAUREANO, M.M.M.; BOLIGON, A. A.; COSTA, R. B.; FORNI, S.; SEVERO, J. L. P; ALBUQUERQUE, L. G. Estimativas de herdabilidade e tendências genéticas para características de crescimento e reprodutivas em bovinos da raça Nelore. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.63, n.1, p.143-152, 2011.

MACKINNON, M. J.; MEYER, K.; HETZEL, D.J.S. Genetic variation and covariation for growth, parasite resistance and heat tolerance in tropical cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.27, p.105-122, 1991.

MISZTAL, I. **Old page for BLUPF90 family of programs**. Disponível em: <<http://nce.ads.uga.edu/~ignacy/newprograms.html>>. Acesso em: set. 2014a.

MISZTAL, I. **POSTGIBBSF90**. Disponível em: <<http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php?id=readme.postgibbs>>. Acesso em: set. 2014b.

MIZTAL, I. Reliable computing in estimation of variance components. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, Berlin, v.125, p.363-370, 2008.

PARIZI, L. F.; POHL, P. C.; MASUDA, A.; JUNIOR, I.S.V. New approaches toward anti-*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick vaccine. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinaria**, Jaboticabal, v.18, n.1, p.1-7, 2009.

RESENDE, M. D. V.; SILVA, F. F.; LOPES, P. S.; AZEVEDO, C. F. **Seleção Genômica Ampla (GWS) via modelos mistos (REML/BLUP), inferência bayesiana (MCMC), regressão aleatória multivariada (RRM) e estatística espacial**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Estatística, 2012. 291p.

RIEK, R. F. Studies on the reactions of animals infested with ticks: VI. Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.13, p.532-550, 1962.

SANTOS, G. C. J.; LOPES, F. B.; MARQUES, E. G.; SILVA, M. C.; CAVALCANTE, T. V.; FERREIRA, J. L. Tendência genética para pesos padronizados aos 205, 365 e 550 dias de idade de bovinos Nelore da região norte do Brasil. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.34, n.1, p.97-101, 2012.

SAS Institute. **SAS online doc**. Version 8. Cary, 2010.

SILVA, N. A. M.; AQUINO, L. H.; SILVA, F. F.; OLIVEIRA, A. I. G. Curvas de crescimento e influência de fatores não-genéticos sobre as taxas de crescimento de bovinos da raça nelore. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.3, p.647-654, 2004.

SLEE, J.; ALEXANDER, G.; BRADLEY, L.R.; JACKSON, N.; STEVENS, D. Genetic aspects of cold resistance and related characters in newborn Merino lambs. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.31, n.2, p.175-182, 1991.

SORENSEN, D.A.; ANDERSEN, S; GIANOLA, D; KORSGAARD, I. Bayesian inference in threshold models using Gibbs sampling. **Genetics Selection Evolution**, Paris, v.27, p.229-249, 1995.

TULLOH, N.M. Variations in the skin and skin-fold thickness of beef cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.12, p.992-1004, 1961.

VAN MELIS, M. H.; OLIVEIRA, H. N.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B.; CASELLAS, J.; VARONA, L. Additive genetic relationship of longevity with fertility and production traits in Nellore cattle based on bivariate models. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.9, p.176-187, 2010.

VAN TASSEL, C. P.; VAN VLECK, L. D. Multiple-trait Gibbs sampler for animal models: Flexible programs for Bayesian and likelihood-based (co)variance component inference. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, p.2586-2597, 1996.

WAMBURA, P. N.; GWAKISA, P. S.; SILAYO, R. S.; RUGAIMUKAMU, E. A. Breed associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. **Vetetrinary Parasitology**, Amsterdam, v.77, p.63-70, 1998.

WHARTON, R. H. e UTECH, K. B. W. The Relation between Engorgement and Dropping of *B. microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the Assesment of Thick Numbers on Cattle. **Journal of the Australian Entomological Society**, v.9, p.171-182, 1970.

CAPÍTULO 3 – ESTUDO DA ESPESSURA DO COURO, RESISTÊNCIA AO CARRAPATO *Rhipicephalus microplus* E NÍVEL DE PARASITEMIA POR *Babesia bovis* EM NOVILHAS CARACU E NELORE

RESUMO - Conhecer a associação da resistência dos bovinos ao carrapato com o nível de parasitemia por *Babesia bovis* e com espessura do couro pode ser importante não apenas para estudos epidemiológicos, mas também para definir objetivos e critérios de seleção. Dessa forma, o estudo teve como objetivo verificar associações de espessura do couro, resistência aos carrapatos *Rhipicephalus microplus* e nível de parasitemia por *B. bovis* em fêmeas Caracu e Nelore infestadas artificialmente. Foram utilizadas 20 novilhas Nelore e 20 novilhas Caracu, com idades próximas aos 450 dias, provenientes do Centro APTA Bovinos de Corte do Instituto de Zootecnia, São Paulo, as quais foram submetidas a três infestações artificiais de carrapatos, em intervalos de 14 dias. A medida de espessura do couro (EC) foi realizada na região posterior à escápula dos animais com uso de paquímetro. As contagens de fêmeas de carrapatos foram realizadas no intervalo entre o 19º e 23º dia após a infestação, que correspondem aos dias modais para teleóquina, considerando apenas o lado esquerdo de cada animal e fêmeas ingurgitadas com tamanho maior do que 4,5 mm (fêmeas padrão). Colheitas de sangue foram realizadas no 1º, 7º, 21º, 35º e 49º dia do experimento. A extração do DNA das amostras de sangue foi utilizada na quantificação do número de cópias (NC) de *B. bovis*, por meio de reações de PCR quantitativo (qPCR), para avaliar o nível de parasitemia nos animais. As variáveis contagens totais de carrapatos (CTC), porcentagens de retorno (PR) e NC foram analisadas pelo procedimento MIXED do programa SAS. Os valores observados para as raças Caracu e Nelore foram, respectivamente, $1,83 \pm 0,37$ e $0,63 \pm 0,40$ para $\log_{10}(n+1)$ da CTC, $1,10 \pm 0,23$ e $0,47 \pm 0,23$ para $PR^{(0,25)}$ e $2,29 \pm 0,64$ e $2,32 \pm 0,58$ para $\log_{10}(n+1)$ do NC. O efeito do grupo de espessura do couro (GEC) não foi significativo para as variáveis estudadas. O grupo genético Nelore apresentou menor quantidade de carrapatos, apesar disto, com base na taxa de mortalidade, ambas as raças devem ser consideradas resistentes aos carrapatos. A característica espessura não influenciou na resistência dos bovinos aos carrapatos. De acordo com as quantificações do número de cópias do DNA de *B. bovis* ambos os grupos genéticos foram eficientes no controle da parasitemia por *B. bovis*.

Palavras-chave: bovinos, infestação artificial, *R. microplus*, *B. bovis*, qPCR, espessura do couro.

Introdução

No Brasil, o carrapato *Rhipicephalus microplus* é o vetor biológico dos protozoários hemoparasitas *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* (GRISI et al. 2002), entre os quais *B. bovis* é o mais patogênico (BENAVIDES e SACCO, 2007). A multiplicação acentuada da *B. bovis* nas hemácias dos capilares viscerais leva a hemólise e a liberação dos parasitas e restos celulares na circulação sanguínea. Os sinais clínicos causados pela enfermidade, em situação aguda, resultam em febre, depressão e hemoglobinúria, acompanhados de anemia, diarreia, fadiga muscular, convulsões e coma (JONSSON et al., 2008).

Estudos epidemiológicos pioneiros realizados por Mahoney e Ross (1972) na Austrália, levaram a classificação das áreas de ocorrência das babesioses bovinas em áreas de estabilidade ou de instabilidade endêmica, dependendo, primariamente, da dinâmica da população dos carrapatos vetores. A estabilidade endêmica é a situação caracterizada por estado de equilíbrio da infecção e ocorre em áreas onde o carrapato vetor é abundante e, assim, a transmissão do protozoário é frequente. Neste cenário, a infecção dos animais jovens ocorre quando estes são relativamente resistentes aos sinais clínicos da doença, e as infecções persistentes proporcionam imunidade aos bovinos dando origem a um rebanho adulto protegido (ZINTL et al., 2005). Nas áreas de instabilidade endêmica, durante parte do ano, as condições climáticas não permitem o desenvolvimento das formas de vida livre dos carrapatos nas pastagens, de modo que os animais jovens não se infectam por um prolongado período após o nascimento. Além disso, os animais adultos não sofrem infestações seguidas, o que diminui os teores de anticorpos circulantes contra as babesias. Nessa situação, a exposição a carrapatos infectados poderá dar origem a graves surtos de babesiose (WALL, 1996).

No Brasil, como as condições climáticas favorecem o desenvolvimento dos carrapatos vetores, ao longo de quase todos os meses do ano, a maior parte do território pode ser classificada como de estabilidade endêmica. Em regiões de estabilidade endêmica, a presença de carrapatos nos animais do rebanho é desejável,

em níveis controlados para serem capazes de manter a imunidade dos animais e amenizar perdas econômicas causadas pela doença (FURLONG, 1993).

Vários estudos têm mostrado que a resistência genética do hospedeiro a diversos parasitas pode ser usada como método de controle efetivo. Com relação a *Babesia* spp. têm sido verificadas diferenças entre raças zebuínas e taurinas (BOCK et al., 1997; JONSSON et al., 2008; BILHASSI et al., 2013). Portanto, raças mais resistentes podem ser alternativas para o controle das infestações por carrapatos e infecções por *Babesia* spp. em áreas endêmicas. Métodos eficientes de diagnóstico das babesioses devem ser utilizados em estudos epidemiológicos, que monitoram a prevalência da infecção nos rebanhos e ajudam na escolha de alternativas de controle mais efetivas.

A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Quantitativa (qPCR) tem apresentado grande utilidade no diagnóstico de *Babesia* spp. em bovinos (BULLING et al., 2007; BILHASSI et al., 2013). Esta técnica apresenta alta sensibilidade para o diagnóstico de *B. bovis* e possibilita obter estimativa aproximada do nível de parasitemia nos animais (BULLING et al., 2007), mediante a amplificação de uma sequência alvo de DNA. Entretanto, a técnica de qPCR para quantificação do nível de parasitemia por *B. bovis*, descrita pelos autores citados acima, é recente, de modo que ainda não existem muitos estudos que usem essa técnica para quantificar o nível de parasitemia em bovinos zebuínos ou taurinos e, portanto, não se conhecem parâmetros populacionais ou genéticos.

Com relação aos carrapatos, também é amplamente conhecida a resistência dos animais *Bos indicus* a este parasita, e o fato de que o aumento da proporção de *B. taurus* aumenta a suscetibilidade do rebanho (VILLARES, 1941; BONSMAN, 1944; UTECH et al., 1978; UTECH e WHARTON, 1982; LEMOS et al., 1985; OLIVEIRA e ALENCAR, 1987; OLIVEIRA et al., 1989; OLIVEIRA e ALENCAR, 1990; SILVA et al., 2007; BIANCHIN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2013). Apesar de existirem diferenças entre indivíduos de raças diferentes e dentro de raças para a resistência ao *R. microplus* (UTECH et al., 1978), os mecanismos de resistência dos bovinos aos carrapatos são complexos e ainda não foram inteiramente compreendidos.

A resistência dos bovinos aos carrapatos pode ser influenciada por vários fatores, incluindo o comportamento de auto-limpeza (CASTRO, 1985), o aumento de eosinófilos, basófilos e mastócitos (CASTRO e NEWSON, 1993), a presença de padrões específicos de imunoglobulinas (KASHINO et al., 2005), células T (PIPER et al., 2010), de genes relacionados à expressão de queratinas e lipocalinas (KONGSUWAN et al., 2010) e características do pelame (IBELLI et al., 2012), entre outros. Como o couro dos animais é um dos habitats do carrapato, algumas de suas características podem propiciar condições mais ou menos favoráveis para a fixação e desenvolvimento das larvas.

Bonsma (1949) relatou que o couro e suas características (pigmentação, espessura, glândulas sudoríparas e sebáceas, espessura do pêlo, cor do pêlo, etc.) são atributos adaptativos importantes dos bovinos nas regiões tropicais e subtropicais. O couro seria um dos fatores responsáveis pela tolerância dos bovinos as altas temperaturas e aos carrapatos. Riek (1962) relatou que áreas de maior fixação das larvas, no verão, foram as áreas de couro fino, como flanco, axila e barbela, sugerindo que couro fino podem ser áreas de preferência para fixação das larvas. Entretanto, Wilkinson (1962) e Riek (1962) estudando animais *B. taurus* e *B. taurus* e seus cruzamentos, respectivamente, não encontraram correlação significativa entre espessura do couro e grau de resistência aos carrapatos.

Embora exista evidência da associação da espessura do couro com a resistência aos carrapatos, os estudos são escassos na literatura. Conhecer a associação da resistência ao carrapato com o nível de parasitemia por *B. bovis*, assim como verificar a influência da espessura do couro na resistência dos bovinos aos carrapatos e à babesia pode ser importante não apenas para estudos epidemiológicos, mas também para definir objetivos e critérios de seleção. Dessa forma, o estudo teve como objetivo verificar as associações entre espessura do couro, resistência aos carrapatos *R. microplus* e nível de parasitemia por *B. Bovis* em fêmeas das raças Nelore e Caracu infestadas artificialmente com carrapatos.

Material e métodos

Animais

Foram utilizadas novilhas da raça Nelore e da raça Caracu, nascidas em 2011. A colheita de dados foi conduzida no período de março a agosto de 2013, no Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica dos Agronegócios (CAPTA) - Bovinos de Corte, unidade do Instituto de Zootecnia em Sertãozinho - SP. A fazenda está situada a 21°10' de latitude sul e 48°5' de longitude oeste, em região de clima tropical úmido, com temperatura média anual de 24°C e precipitação média anual de 1.312 mm, condições que favorecem a ocorrência do carrapato *R. microplus* em todos os meses do ano (KUTLER, 1981).

Foram consideradas 120 fêmeas Nelore e 50 fêmeas Caracu a partir das quais foram escolhidos 20 animais de cada raça para composição dos grupos amostrais. A escolha dos animais foi realizada considerando a espessura do couro, a idade e o peso. Dessa forma, foram escolhidas 10 novilhas com os menores valores de espessura do couro e 10 novilhas com os maiores valores de espessura do couro. A média e o desvio padrão da espessura do couro das novilhas Nelore escolhidas foram $11,73 \pm 2,53$ mm, com valores mínimo e máximo de 7,63 mm e 15,60 mm, respectivamente. A média e o desvio padrão da espessura do couro das novilhas Caracu escolhidas foram $13,77 \pm 2,26$ mm, com valores mínimo e máximo de 10,10 mm e 18,80 mm, respectivamente. Os animais tiveram peso inicial entre 300 kg e 400 kg e idades próximas aos 450 dias no início do experimento.

As novilhas foram manejadas em piquete separado dos demais animais, em condições normais de pastejo e água, além de proximidade ao retiro, possibilitando o monitoramento diário. As condições de manejo foram apropriadas para preservar o bem estar animal.

Espessura do couro

A medida da espessura do couro (EC) foi realizada com uso de paquímetro na região posterior a escápula do animal. O método utilizado e aceito na avaliação da espessura do couro é a mensuração por meio da dobra de pele (DOWLING, 1955). A

região posterior a escápula do animal foi documentada como a melhor localização para obter a medida da EC, pois a EC é relativamente uniforme nesta área (WESONGA et al., 2006).

*Infestação artificial e contagem de carrapatos *R. microplus**

Durante o experimento, todas as novilhas foram infestadas artificialmente com larvas infestantes de *R. microplus* e permaneceram em pastejo no mesmo piquete. As larvas infestantes foram obtidas de fêmeas ingurgitadas, de animais de uma propriedade próxima à cidade de Avaré. Elas foram colhidas e transportadas para incubação no Laboratório de Sanidade Animal (LSA) do Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste - EMBRAPA, localizado no município de São Carlos, SP.

As fêmeas de carrapato foram lavadas e cuidadosamente secadas com papel absorvente. Posteriormente, foram colocadas em placas de Petri estéreis e mantidas em incubadoras BOD a $27\pm1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 80% para a ovipostura, por período aproximado de 18 dias. Os ovos originários das fêmeas foram pesados em porções de um grama, contendo aproximadamente 20.000 ovos (GONZALES, 1993), e colocados em seringas de 20 ml. Para este procedimento, as pontas das seringas foram cortadas com estilete de forma a permitir a inserção do conteúdo e, posteriormente, foram vedadas com algodão. As seringas com ovos foram incubadas novamente em BOD, na mesma temperatura e condições de umidade descritas acima, até a eclosão das larvas, que ocorreu aproximadamente em 14 dias.

Para as infestações artificiais realizadas a campo, foram escolhidas somente seringas que apresentaram massas de ovos com taxas de eclosão acima de 90%, conferidas por inspeção visual. Os animais foram levados ao tronco de contenção e infestados com todo o conteúdo das seringas na região dorsal. Foram realizadas três infestações artificiais em intervalos de 14 dias, usando larvas com idade entre 15 e 21 dias.

Após cada infestação, foram realizadas contagens dos carrapatos no intervalo do 19º ao 23º dia após a infestação, que correspondem aos dias modais para teleógina. As contagens foram usadas para avaliar o nível de infestação em cada animal. Nas contagens, foram consideradas apenas fêmeas ingurgitadas com

tamanho maior do que 4,5 mm (fêmeas padrão), presentes no lado esquerdo de cada animal.

Colheita de sangue e extração do DNA

Foram realizadas colheitas de amostras de sangue da veia jugular de cada animal com uso tubo a vácuo contendo solução anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetra-acético tripotássico). As colheitas de sangue foram realizadas no 1º, 7º, 21º, 35º e 49º dia do experimento, totalizando cinco amostras de sangue por animal.

A extração do DNA foi realizada no LSA- EMBRAPA, com uso do *Kit illustra blood genomicPrep Mini Spin* (GE Healthcare®), seguindo o protocolo do fabricante. Foi adotado o protocolo de extração do DNA genômico padronizado para conteúdo de sangue de 50-300 µL, sendo utilizando volume de 300 µL de sangue.

Reações de qPCR

A técnica de qPCR foi empregada para a quantificação de *B. bovis* nas amostras de DNA extraídos, usando os “primers” específicos cbosg-1: 5'-TGTTCTGGAAGCGTTGATTC-3' e cbosg-2: 5'-AGCGTGAAAATAACGCATTGC-3' (BULLING et al., 2007), os quais amplificam um fragmento de 88 pares de bases correspondente ao gene mitocondrial do citocromo B de *B. bovis* (SALEM et al., 1999; BULLING et al., 2007). O reagente utilizado nas reações de qPCR foi o Kit SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad®), e foram utilizados tubos brancos em tiras (Low-Profile 0,2 ml 8-Tube Strips without Caps) e tampas óticas (Optical Flat 8-Cap Strips). A escolha pelo corante EvaGreen foi devido à sua alta especificidade na detecção de amplificação de amostras em qPCR (WANG et al., 2006).

As quantificações foram processadas no equipamento CFX™ Real-Time PCR Detection Systems da Bio-Rad®. Foi utilizado o método de quantificação absoluta, e cada ensaio de qPCR continha uma curva padrão que foi padronizada a partir de amostras de um isolado de *B. bovis*, fornecidos pelo Departamento de Patologia Animal da Unesp/FCAV de Jaboticabal. Os ciclos adotados nas reações de padronização foram os sugeridos pelo fabricante do reagente (Tabela 1).

Tabela 1. Ciclos adotados nas reações de qPCR.

Etapa	Número de Ciclos	Temperatura (°C)	Tempo (segundos)
Ativação Enzimática	1	95	120
Desnaturação	37	95	5
Anelamento/Extensão		57	30
Curva de Dissociação	1	65-95 (incremento de 0,5°C)	5/passo

O tempo de cinco segundos sugerido pelo fabricante, na etapa de anelamento/extensão, não foi suficiente para a amplificação ocorrer até a fase de platô, para isso o tempo foi aumentado para trinta segundos. Além disso, o volume final de cada reação foi modificado para 12 µL, enquanto o kit sugeria uma reação com um volume final de 20 µL. A reação de um volume final de 12 µL foi formada com os seguintes reagentes: 5,0µL do reagente SsoFast™ EvaGreen® Supermix; 0,3µL de cada “primer” (cbosg-1 e cbosg-2); 4,4µL de água ultra pura e 2,0 µL de solução de DNA genômico que foi extraído a partir das amostras de sangue de cada animal.

Cálculo da eficiência da reação (E) dos ensaios de qPCR

Para avaliar a eficiência de cada reação, uma curva padrão para cada reação foi gerada utilizando diluições seriadas de amostra clonada de isolados de *B. bovis* (88pb), e em seguida, foi gravada a eficiência para a subsequente análise da quantificação do DNA. O cálculo da eficiência da reação (E), descrito por Pfaffl (2001) e Vandesompele et al. (2002), estima o quanto do DNA alvo foi produzido em cada ciclo da reação. O software do equipamento CFX™96 da BioRad calcula automaticamente a eficiência da reação, sendo obtida da seguinte forma:

$$E = 10^{(-1/\text{slope})}$$

em que: Slope é a inclinação da linha derivada da curva padrão.

A conversão matemática do valor E para porcentagem foi pela seguinte fórmula:

$$\% E = (E - 1) * 100$$

Os resultados foram analisados com base no valor do ciclo quantitativo (C_q), definido após o término de cada reação. C_q é o ciclo em que o sinal de amplificação exponencial atinge intensidade de fluorescência superior ao limiar de detecção (threshold). O momento em que o C_q é ultrapassado está diretamente relacionado à quantidade de DNA amplificado (MORTARINO et al., 2004), dessa forma, possibilita analisar de forma quantitativa a taxa de infecção por *B. bovis*.

Para todos os ensaios de qPCR, a linha threshold foi ajustada para um mesmo valor, pois esta linha determina o ponto exato do C_q de cada amostra e dos valores da curva de calibração, possibilitando a estimativa do nível de parasitemia nos animais. Para a construção da curva de calibração foi realizada a clonagem dos “amplicons” purificados de *B. bovis* no laboratório de Genética Animal da Embrapa Suínos e Aves, localizado em Concórdia. Na clonagem foi utilizado o kit pGEM®-T Easy Vector Systems (Promega), com uso da enzima de restrição ECOR1, seguindo as instruções do fabricante.

Após a clonagem, as amostras foram purificadas e sequenciadas no equipamento Amplie Bi systems/HITACHI ABI Prisma® 3130XL Avant Genetic Analyzer, usando o kit BigDye® terminator v.3.1. As sequências obtidas na clonagem foram comparadas com as sequências presentes no banco de dados de sequência – GeneBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) e apresentaram 100% de identidade com sequência de DNA mitocondrial de *B. bovis*.

Número de cópias de moléculas de DNA de B. bovis

O valor do número de cópias (NC) foi utilizado para calcular os valores de quantidade inicial de DNA de *B. bovis* em cada amostra no software do equipamento da BioRad. O NC foi calculado seguindo a fórmula descrita por Ke et al. (2006):

$$\text{Número de cópias / } 2\mu\text{L} = \frac{6,022 \times 10^{23} \left(\frac{\text{cópias}}{\text{mol}} \right) \times \text{Concentração} \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)}{\text{Massa Molecular} \left(\frac{\text{g}}{\mu\text{L}} \right)}$$

em que, $6,022 \times 10^{23}$ é o número de Avogadro e Massa Molecular é o peso molecular médio da molécula do nucleotídeo fita dupla (330×2) multiplicado pelo tamanho do fragmento clonado (vetor e inserto, 3088 pb). Para calcular o NC do produto clonado (número de cópias/ $2\mu\text{L}$), a concentração determinada em espectrofotômetro em $\text{ng}/\mu\text{L}$ foi convertida para $\text{g}/\mu\text{L}$ ($\times 10^{-9}$), e em seguida, multiplicada por 10^{-2} que foi a concentração inicial usada na primeira diluição da curva de calibração do produto clonado e, no final, multiplicado por 2,0 que é o volume da amostra de DNA aplicada (μL).

Análises estatísticas

Para análise estatística dos dados, as variáveis contagens totais de carrapatos (CTC) e NC do DNA alvo da *B. bovis* foram transformados em $\log_{10}(n+1)$. Para CTC, conforme proposto por Oliveira e Alencar (1987), a variável porcentagens de retorno (PR_{ij}) foi transformada em $\text{PR}_{ij}^{0,25}$. As variáveis CTC, NC e PR_{ij} foram transformadas visando aproximar a distribuição dos dados à distribuição normal.

A variável porcentagens de retorno (PR_{ij}), que é a porcentagem de carrapatos contados em um lado do corpo (esquerdo) em relação ao total de larvas utilizadas na infestação, foi calculada pela fórmula $\text{PR}_{ij} = 400 \text{ C}_{ij} / 20.000$, em que: 400 resulta da multiplicação de 100 (porcentagem) por 2 (sexo do carrapato, macho e fêmea) por 2 (dois) lados do animal (direito e esquerdo), i = é o animal, j é o número de infestação ($j = 1, \dots, 3$), 20.000 é o número de larvas de carrapato usado em cada infestação e C_{ij} é a soma do número de carrapatos contados no animal i , nos cinco dias contados (19º ao 23º dia após a infestação j).

Os dados de CTC, PR_{ij} e NC foram analisados, considerando medidas repetidas, por meio do procedimento MIXED do programa SAS (2010). Conforme Littell et al. (1998), para todas as variáveis, foram testados modelos mistos com as seguintes estruturas: estrutura de matriz de covariâncias autoregressiva de ordem 1

(AR(1)), incluindo o efeito aleatório de animal, estrutura de matriz de covariâncias simetria composta (CS) e estrutura de matriz de covariâncias não estruturada (UN). Modelos que apresentaram menor valor de BIC foram selecionados para a análise dos dados. Esta métrica foi utilizada por considerar a penalização pelo número de parâmetros, uma vez que o valor de BIC varia de acordo com a estrutura utilizada. Além disso, foi estimado o coeficiente de repetibilidade da variável por meio da correlação intraclasse entre as medidas do mesmo animal, como sendo o componente de variância de animal dividido pela variância fenotípica (residual + animal), obtidos em modelos com uso da estrutura CS.

Para análises das variáveis CTC e PR_{ij} foi utilizado modelo com os efeitos fixos de grupo genético (GG), grupo com relação a espessura do couro (GEC), infestação (IN) e suas interações. Na matriz de covariâncias foi utilizada estrutura do tipo CS. Os dados de NC foram analisados com modelo considerando como efeitos fixos grupo genético (GG), grupo com relação a espessura do couro (GEC), dia da colheita (DIA) e suas interações, e, como aleatório, o efeito de animal. Para a análise do NC, foi utilizada matriz de covariâncias AR(1).

O grupo genético foi definido com novilhas das diferentes raças, Nelore e Caracu, e o grupo de espessura do couro foi definido como couro fino ou couro grosso, sendo que animais com espessura do couro menor que 12 mm e 14 mm, respectivamente, para Nelore e Caracu, foram agrupados na classe de couro fino, e animais com espessura superior a estes valores foram classificados como couro grosso. Foram considerados valores de 1 a 3 para infestação e de 1 a 5 para dia da colheita de sangue.

Comparações de médias foram realizadas pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,05$) para verificar as diferenças entre grupo genético e grupo de espessura de couro. Foram também estimadas as correlações fenotípicas das variáveis estudadas, utilizando-se o procedimento CORR do programa estatístico SAS (SAS, 2001), considerando resultados de CTC da primeira a terceira infestação e somente resultados de NC do terceiro, quarto e quinto dia de colheita de sangue, por se referirem as medidas tomadas no mesmo tempo.

Resultados e Discussão

Contagens de carrapatos R. microplus

Por meio dos resultados obtidos nos modelos foram verificados que, para a variável CTC transformada em $\log_{10}(n+1)$, os efeitos de grupo genético, infestação e a interação grupo genético com infestação foram significativos ($p < 0,05$) (Tabela 2). Como a interação foi significativa, deve-se avaliar as médias dos grupos genéticos em cada infestação e médias de infestação em cada grupo genético. Para a variável $PR^{(0,25)}$ apenas os efeitos de grupo genético e infestação foram significativos ($p < 0,05$) (Tabela 2). A raça Nelore demonstrou menor carga parasitária em todas as contagens e maior capacidade de eliminar as larvas infestantes comparada a raça Caracu.

As médias gerais do número de carrapatos infestantes nos animais das raças Caracu e Nelore foram, respectivamente, 91,3 e 5,5. Ibelli et al. (2012) realizaram infestações artificiais para estudar a resistência de animais Nelore, Nelore x Senepol e Nelore x Angus e as médias observadas para dados não transformados foram, respectivamente, 1,71, 1,91 e 11,37, e as médias do Nelore e Nelore x Senepol diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do Nelore x Angus. Silva et al. (2010) estudaram infestação natural de carrapatos em fêmeas de diferentes grupos, e verificaram a superioridade de animais Nelore, com média observada para contagem de carrapatos transformada de 0,65, que foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparado aos resultados obtidos em bovinos mestiços Canchim x Nelore, Angus x Nelore e Simental x Nelore. Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com Silva et al. (2010), uma vez que a quantidade de carrapatos presente em bovinos Nelore é menor em relação a quantidade observada em animais de composição genética que inclui raças de bovinos de origem européia.

Os valores de contagens totais de carrapatos, de infestações naturais, observados por Oliveira et al. (2013) também foram menores em animais Nelore que em produtos finais $\frac{1}{2}$ Angus + $\frac{1}{4}$ Canchim + $\frac{1}{4}$ Nelore. Com base em dados observados em infestações naturais e artificiais, a raça Nelore pode ser considerada mais resistente aos carrapatos do que animais com algum grau de composição racial de animais europeus (OLIVEIRA e ALENCAR, 1987; SILVA et al., 2010; OLIVEIRA et

al., 2013), e, em alguns casos, os mestiços de Nelore x *B. taurus* apresentam semelhança aos animais Nelore (IBELLI et al. (2012). Ibelli et al. (2012) sugerem que estes índices podem indicar que a resistência ao carrapato seja uma característica dominante, fazendo com que os animais cruzados tenham fenótipo semelhante ao do parental mais resistente. Dessa forma, maior resistência ao carrapato deve ser influenciada pela proporção da composição racial zebu, afetando diretamente na quantidade de carrapatos presentes nos animais.

Tabela 2. Médias gerais e por infestação e erros-padrão de dados transformados da contagens totais de carrapatos (CTC) e da porcentagens de retorno (PR) em novilhas Caracu e Nelore submetidas à infestação artificial de carrapatos.

CTC				
Grupo genético ¹	Infestação ^{1,2}			Média geral
	1	2	3	
CA	1,76±0,39A	1,83±0,35A	1,89±0,38A	1,83±0,37A
NE	0,47±0,45Ba	0,57±0,30Ba	0,86±0,34Bb	0,63±0,39B
Média geral	1,11±0,77	1,19±0,71	1,37±0,63	
PR				
Grupo genético ¹	Infestação ²			Média geral
	1	2	3	
CA	1,05±0,24	1,09±0,21	1,14±0,25	1,10±0,23A
NE	0,37±0,28	0,47±0,15	0,59±0,18	0,47±0,23B
Média geral	0,71±0,43a	0,78±0,36a	0,86±0,35b	

CA, Caracu; NE, Nelore. ¹Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p<0,05$). ²Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ($p<0,05$).

Foram verificadas diferenças significativas ($p<0,05$) para CTC de acordo com o número da infestação apenas na raça Nelore, no entanto pode ser observado progressivo aumento do número de carrapatos a cada infestação nas duas raças (Tabela 2). Ibelli et al. (2012) e Silva et al. (2010) também verificaram esse aumento no número de fêmeas padrão contadas nos animais com o avanço das infestações artificiais. Os autores inferiram que a quantidade de fêmeas desprendidas dos animais aumentou de maneira significativa ($p<0,05$) as larvas infestantes nas pastagens, o que pode ter ocasionado o aumento nas contagens. No presente experimento, os animais

permaneceram durante todo o período experimental no mesmo piquete, indicando ocorrência idêntica ao descrito pelos autores.

Os resultados obtidos em três infestações artificiais indicam que o grupo genético Nelore apresentou significativamente ($p < 0,05$) menor número de carrapatos *R. microplus* quando comparado aos bovinos da raça Caracu, que são animais *B. taurus* (Tabela 2). Sabe-se que as estratégias de controle de carrapatos nos animais dos diferentes grupos genéticos devem ser diferenciadas. Rebanhos da raça Nelore criados de forma isolada de outras raças mais suscetíveis, dificilmente necessitam de tratamentos contra esse parasita. No que se refere a raça Caracu pouco se conhece, sendo que o presente estudo é o primeiro a verificar o padrão de resistência da raça aos carrapatos, contudo Fraga et al. (2003) e Alencar et al. (2005) descreveram algumas estratégias de utilização de recursos genéticos para animais desta raça. No entanto, deve-se considerar que o tratamento com produtos químicos para os animais de ambas as raças deve ser justificado apenas em casos em que é necessário mitigar os efeitos dos carrapatos no crescimento e na produção, ou quando os níveis de infestação por carrapatos são considerados inaceitáveis por razões de bem-estar animal (JONSSON et al., 2008).

Os resultados obtidos corroboram os mencionados na literatura, em que foi documentada a maior tolerância das raças zebuínas (*B. indicus*) comparadas aos taurinos (*B. taurus*) quanto à resistência ao carrapato *R. microplus* (BONSMA, 1944; UTECH et al., 1978; UTECH e WHARTON, 1982; SILVA et al. 2007; BIANCHIN et al., 2007), assim, o uso de animais *B. indicus* e seus cruzamentos é recomendado em áreas altamente infestadas como alternativa no controle dos carrapatos (JONSSON, 2006).

Mackinnon et al. (1991), Fraga et al. (2003) e Regitano et al. (2006) estimaram herdabilidade para a resistência ao carrapato de 0,39, 0,22 e 0,15, respectivamente, por meio de dados de contagem de fêmeas ingurgitadas em um dos lados do corpo do animal. Dessa forma, a viabilidade da seleção pode ser verificada pelo coeficiente de herdabilidade obtidos nestas pesquisas.

Como foi verificada que existe variabilidade para resistência aos carrapatos entre os bovinos, os animais mais tolerantes poderiam ser escolhidos como

reprodutores. Considerando os resultados obtidos neste estudo, o uso de animais da raça Nelore em cruzamentos seria boa estratégia para o controle da carga parasitária de carrapatos nos bovinos ao longo das gerações, por se tratar de uma raça *B. indicus* resistente aos carrapatos dado que apresentou baixos valores de CTC e PR.

Os trabalhos que avaliam os níveis de resistências entre as raças seguem o padrão proposto por Utech et al. (1978), verificado a partir de infestação artificial de 20.000 larvas de *R. microplus* em bovinos australianos. Esses autores consideraram, na classificação do nível de resistência, o percentual médio de larvas infestantes de carrapato que não conseguiram chegar a fase adulta (taxa de mortalidade). Dessa forma, a resistência é considerada alta, moderada, baixa e muita baixa para porcentagens médias acima de 98%, 95 a 98%, 90 a 95% e abaixo de 90%, respectivamente. De acordo com Wharton, citado por Utech et al. (1978), bovinos que apresentam 100 ou 1000 fêmeas ingurgitadas na contagem, possuem nível de resistência de 99% e 90%, respectivamente. Dessa forma, apesar da diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as raças para CTC e PR, as taxas de mortalidades calculadas foram 98,90% e 99,53% para Caracu e Nelore, respectivamente, indicando que ambas as raças apresentam alta resistência aos carrapatos segundo a classificação de Utech et al. (1978).

Em rebanhos no Brasil, conforme a classificação, em trabalho apresentado por Olivera e Alencar (1987), a raça Nelore tem nível de resistência igual a 99,90%, e a raça Canchim igual a 98,75%. Silva et al. (2007) verificaram que a maior parte dos animais Nelore, Canchim x Nelore, Angus x Nelore e Simental x Nelore foram classificados em alta resistência, entretanto, entre os mestiços, ainda apareceram bovinos com moderada e baixa resistência. Ibelli et al. (2012) também observaram alta resistência nos animais puros Nelore e seus cruzamentos com animais *B. taurus*, das raças Angus e Simental, uma vez que os animais tiveram mais de 98% de mortalidade dos carrapatos.

Apesar do pequeno número de animais da raça Caracu considerado no estudo, ao considerar os dados de taxa de mortalidade de carrapatos obtidos em rebanhos brasileiros e a taxa de mortalidade para a raça, foi possível observar que este grupo

genético deve ser classificado como resistente aos carrapatos *R. microplus*, assim como os bovinos Nelore.

A seleção natural nos animais formadores da raça Caracu, que foram introduzidos no Brasil no século XVI, antes mesmo dos zebuínos, e a escolha dos selecionadores pelos animais mais fortes e rústicos foram fatores que influenciaram à adaptação dos animais deste grupo aos trópicos (LIMA et al., 1992). Dessa forma, bovinos Caracu representam boa alternativa de *B. taurus* para serem utilizados em cruzamentos garantindo a resistência aos carrapatos quando comparados as outras opções de animais *B. taurus*.

As médias observadas para CTC transformada em $\log_{10}(n+1)$ de animais de couro fino foram, respectivamente, $1,88 \pm 0,40$ e $0,53 \pm 0,10$ para animais Caracu e animais Nelore, os valores para animais de couro grosso foram, respectivamente, $1,77 \pm 0,10$ e $0,74 \pm 0,10$. No caso da variável PR, os valores médios observados para couro fino e couro grosso foram, respectivamente, $1,13 \pm 0,24$ e $1,05 \pm 0,22$ para Caracu e, respectivamente, $0,43 \pm 0,20$ e $0,52 \pm 0,24$ para a raça Nelore. Nas análises realizadas para as variáveis CTC e PR, não houve efeito significativo ($p>0,05$) do grupo de espessura do couro e suas interações com outras variáveis do modelo. De acordo com Jonsson et al. (2014), os mecanismos de defesa dos bovinos aos carrapatos são amplamente estudados e podem ser divididos em duas subáreas, a primeira investiga a resposta imune adquirida à infestação, e a outra coloca em evidência a potencial função dos atributos físicos e mecânicos da pele, incluindo a espessura do couro dos animais.

Com os resultados obtidos foi possível verificar que a espessura do couro não foi um fator físico que contribuiu com a resistência dos bovinos aos carrapatos. Os resultados do presente estudo corroboram os descritos por autores como Wilkison (1962) e Riek (1962), que não encontraram correlação significativa ($p>0,05$) entre espessura do couro e resistência ao carrapato.

As estimativas dos coeficientes de repetibilidade para CTC e PR transformadas foram moderadas (Tabela 3), sugerindo que medidas observadas no mesmo animal tiveram valores próximos nas três infestações de forma que as medidas obtidas são parâmetros confiáveis para inferir sobre medidas futuras do animal. Entretanto,

segundo Silva et al. (2007), alterações bruscas no ambiente e fisiológicas no animal podem influenciar o número de carrapatos observados sobre o corpo do hospedeiro nas próximas contagens. O resultado obtido para CTC foi próximo de estimativas encontradas em trabalhos em que a repetibilidade foi calculada a partir de dados de contagens de carrapatos em infestações naturais (MACKINNON et al., 1991) e infestações artificiais (SILVA et al., 2007).

Tabela 3. Estimativas dos componentes de variâncias de animal e resíduo e do coeficiente de repetibilidade (r) para contagens totais de carrapatos (CTC), porcentagens de retorno (PR) e número de cópias (NC) de DNA de *B. bovis* transformadas.

Componentes	CTC		PR		NC	
	Valor estimado	r	Valor estimado	r	Valor estimado	r
Animal	0,0843	0,62	0,0295	0,53	0,0237	0,10
Resíduo	0,0507		0,0258		0,2234	

Número de cópias do DNA de Babesia bovis

As curvas-padrão utilizadas para a quantificação do número de cópias (NC) do DNA de *B. bovis* permitiu sensibilidade de quantificação entre as faixas de 10^{-3} a 10^{-10} ng/uL, sendo que esta última diluição correspondeu a sensibilidade de 12 cópias. No total, foram realizados sete ensaios de qPCR, e em cada um foram incluídas as curvas de calibração, as amostras de DNA dos animais e três amostras de controle negativo (“tampão de reação” + água). Os valores da eficiência da reação, *slope* e coeficiente de correlação observados para cada ensaio de qPCR foram próximos aos valores ideais de 100%, -3,3 e >0,99, respectivamente. O valor de *slope* de -3,3 está relacionado a eficiência de reação de 100%, indicando que o número de moléculas amplificadas dobra a cada ciclo da PCR (KUBISTA et al., 2006).

Dessa forma, o método da qPCR com uso dos oligonucleotídeos cbosg-1 e cbosg-2 propostos por Buling et al. (2007) permitiu estimar precisamente o nível de parasitemia de *B. bovis* nos animais Caracu e Nelore. Bilhassi et al. (2014) e Gigliotti (2013) verificaram, ao utilizarem os mesmos oligonucleotídeos, alta sensibilidade na amplificação do gene mitocondrial do citocromo B de *B. bovis*. No caso de Bilhassi et al. (2014) a técnica da qPCR permitiu avaliar a infecção em bovinos Nelore, Angus e

cruzados Nelore x Angus que, inicialmente, não foi possível com uso da técnica “nested” PCR.

Os resultados das quantificações do NC do DNA de *B. bovis*, obtidos a partir da qPCR, indicaram que 100% dos animais estudados estavam infectados por *B. bovis*. Uma vez que não foi verificada amplificação dos controles negativos incluídos em cada placa, pode-se considerar que os resultados obtidos são fidedignos.

Os animais usados nesse experimento foram criados em local onde as condições climáticas favorecem o desenvolvimento das fases de vida livre do carrapato durante todos os meses do ano e como a distribuição da *Babesia spp.* está associada com a presença do vetor (LIMA et al., 2000), pode-se afirmar que esta região apresenta estabilidade endêmica para as babesioses. O diagnóstico por qPCR demonstra ser altamente sensível e pode se tornar importante para o desenvolvimento de estudos epidemiológicos e também na verificação do nível de parasitemia por *B. bovis* em diferentes raças e indivíduos

Nas quantificações do DNA de *B. bovis*, ou seja, do NC, foi verificado que não houveram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação aos dois grupos genéticos e ao grupo de espessura do couro. Nas raças Caracu e Nelore, as médias observadas para NC transformada em $\log_{10}(n+1)$ nos animais de couro fino foram, respectivamente, $2,23 \pm 0,62$ e $2,30 \pm 0,61$, os valores observados nos animais de couro grosso foram, respectivamente, $2,35 \pm 0,61$ e $2,35 \pm 0,56$. Para a variável NC transformada em $\log_{10}(n+1)$ foi observado somente efeito significativo ($p < 0,05$) do dia da colheita e da interação grupo genético e dia da colheita (Tabela 4).

Valores médios de NC de DNA de *B. bovis* superiores aos verificados neste estudo foram observados por Bilhassi et al. (2014) em animais Nelore, Angus e mestiços Nelore x Angus, e por Giglioti (2013) em animais das raças Angus, Senepol, Simental, Simangus, Senepol x Nelore. Apesar dos trabalhos realizados até então usarem o mesmo fragmento de amplificação, alguns fatores devem ainda ser explorados para justificar as grandes diferenças na quantificação do DNA de *B. bovis* como diferenças entre metodologias de extração de DNA e sua consequente interferência na sensibilidade e acurácia das quantificações, assim como diferenças

de manejo do rebanho, nível de parasitemia dos ácaros e quantidade de carrapatos nos animais.

Tabela 4. Médias gerais e erros-padrão de dados transformados em $\log_{10}(n+1)$ do número de cópias (NC) de DNA de *B. bovis* observado em novilhas Caracu e Nelore.

Grupo genético ¹	NC					Média geral
	Dia da colheita ²					
	1	2	3	4	5	
CA	2,68±0,53a	2,60±0,73a	1,92±0,63b	2,47±0,40a	1,82±0,30b	2,29±0,64
NE	2,97±0,44a	2,37±0,58b	2,08±0,55b	2,31±0,42b	1,87±0,22c	2,32±0,58
Média	2,82±0,50	2,48±0,66	2,00±0,59	2,39±0,41	1,84±0,26	

Ca, Caracu; Ne, Nelore. ^{1,2}Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p<0,05$).

As novilhas deste estudo foram submetidas a três infestações artificiais em que se pode presumir que parte das larvas aplicadas nos animais estava infectada com *B. bovis*, dado que as fêmeas foram colhidas em bovinos criados em área de estabilidade endêmica. A manutenção e persistência da babesiose no carrapato vetor foi assegurada por transmissão transovariana e transestadial (CHAUVIN et al., 2009). Na transmissão transovariana, ocorre a invasão pelo protozoário do ovário da fêmea (CHAUVIN et al., 2009) resultando na infecção dos ovos (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008). Dessa forma, as novilhas sofreram dois desafios simultâneos com larvas de carrapatos e com o inóculo do hemoparasita contido nessas larvas, o que pode ter induzido a resposta imune muito próxima do que ocorre naturalmente nos animais criados a campo.

Os mecanismos imunológicos agem diretamente contra os eritrócitos infectados ou contra os merozoítas livres de *B. bovis* (CHAUVIN et al., 2009). Pode-se verificar variação média significativa ($p<0,05$) do NC de *B. bovis* entre alguns dias de colheita de sangue (Tabela 4). Foi possível observar que houve redução do NC de *B. bovis* quantificados nas amostras de DNA dos animais estudados (Figura 1). Inicialmente, as médias do NC de novilhas Caracu e Nelore eram, respectivamente, 992,84 e 1507,05, sendo que, após três infestações artificiais, a parasitemia atingiu níveis significativamente ($p<0,05$) mais baixos com médias equivalentes a 82,53 para

animais Caracu e 82,48 para animais Nelore. Como os animais estudados já apresentavam valores quantificáveis de NC e não apresentaram sinais clínicos da doença durante o experimento, pode-se presumir que já haviam desenvolvido mecanismos de resistência protetora contra *B. bovis*, o que fez com que os animais respondessem aos desafios de forma efetiva, o que deve ter reduzido o NC de DNA de *B. bovis*.

O fato das novilhas terem permanecido no mesmo local antes e no momento do experimento e terem recebido as mesmas condições de manejo sanitário, e mesma carga de larvas de carrapatos quando foram submetidos a infestações artificiais, pode-se considerar a hipótese de que os bovinos da raça Caracu foram capazes de controlar a parasitemia de forma tão eficiente quanto os bovinos Nelore, que são considerados mais resistentes as babesioses que animais taurinos (BOCK et al., 1997; JONSSON et al, 2008; PIPER et al, 2010).

O coeficiente de repetibilidade estimado para NC foi baixo (Tabela 3). Neste trabalho as novilhas foram submetidas a subseqüentes desafios que podem ter contribuído com a variação verificada entre as quantificações de NC no mesmo animal e podem explicar a baixa estimativa de repetibilidade obtida. No entanto, a estimativa da repetibilidade está de acordo com resultado encontrado por Giglioti (2013), 0,04, que utilizou dados de diferentes rebanhos e maiores intervalos de tempo entre as quantificações.

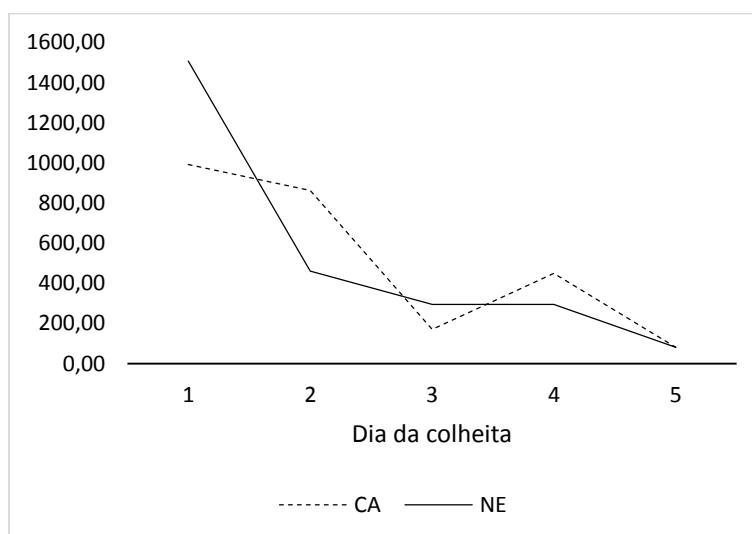


Figura 1. Médias do número de cópias do DNA de *Babesia bovis* em amostras de DNA de novilhas Caracu (CA) e Nelore (NE) em cinco dias de colheita de sangue.

Embora não se conheça associação entre a carga de carrapatos e o nível de parasitemia por *B. bovis*, os resultados observados neste estudo indicam que a variação na parasitemia por *B. bovis* não está diretamente relacionada ao número de carrapatos presentes no corpo do hospedeiro, uma vez que a correlação encontrada entre as variáveis CTC e NC de *B. bovis*, dentro de cada raça, não foi significativa ($p > 0,05$; $\rho = -0,07$ na raça Caracu e $\rho = 0,19$ na raça Nelore).

Conclusões

A falta de associação do grupo de espessura do couro com as variáveis CTC, PR e NC indica que a característica espessura do couro não é um atributo físico que ajuda na resistência dos bovinos aos carrapatos e a babesiose.

O grupo genético Nelore apresentou menor quantidade de carrapatos, indicando menor susceptibilidade as infestações artificiais, no entanto, ambos os grupos devem ser considerados resistentes aos carrapatos.

De acordo com as quantificações do número de cópias do DNA de *B. bovis*, obtidos a partir da qPCR, ambos os grupos genéticos foram eficientes no controle da parasitemia, e a correlação entre as variáveis relacionadas a contagem de carrapatos

e ao nível de parasitemia por *B. bovis* indica que a variação na parasitemia não está relacionada ao número de carrapatos presentes no corpo do hospedeiro.

Referências bibliográficas

ALENCAR, M. M.; FRAGA, A. B.; SILVA, A. M. Adaptação de genótipos a ambientes tropicais: resistência à mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*, LINNAEUS) e ao carrapato (*Boophilus microplus*, CANESTRINI) em diferentes genótipos bovinos. **Agrociencia**, Pelotas, v.9, n.2, p.579-585, 2005.

BENAVIDES, M. V. & SACCO, A. M. S. Differential *Bos taurus* cattle response to *Babesia bovis* infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.150, n.1/2, p.54–64, 2007.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B.; KICHEL, A. N.; TORRES, R. A. A.; HONER, M. R. The effect of the control of endo and ectoparasites on weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Tropical Animal Health Production**, Edinburgh, v.39, n.4, p.287-296, 2007.

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

BOCK, R. E.; de VOS, A. J.; KINGSTON, T. G.; McLELLAN, D. J. Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale*, **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.75, n.5, p.337-40, 1997.

BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A.; JORGENSEN, W. Babesiosis of cattle. **Parasitology**, London, v.129, p.247–269, 2004.

BONSMA, J. C. Breeding cattle for increased adaptability to tropical and subtropical environments. **Journal of Agricultural and Science**, Cambridge, v.39, p.204-221, 1949.

BONSMA, J. C. Hereditary heart water-resistant characters in cattle. **Farming South Africa**, Pretoria, v.19, p.71-96, 1944.

BULING, A.; CRIADO-FORNELIO, A.; ACENZO, G.; BENITEZ, D.; BARBA-CARRETERO, J. C.; FLORIN-CRISTENSEN, M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *B. bovis* and *B. bigemina*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.147, p.16-25, 2007.

CASTRO, J. J.; NEWSON, R. M. Host-resistance in cattle tick control. **Parasitology Today**, Amsterdam, v.9, p.13–17, 1993.

CASTRO, J. J.; YOUNG, A. S.; DRANSFIELD, R. D.; CUNNINGHAM, M. P.; DOLAN, T. T. Effects of tick infestation on Boran (*Bos indicus*) cattle immunized against theileriosis in an endemic area of Kenya. **Research in Veterinary Science**, London, v.9, p.279–288, 1985.

CHAUVIN, A.; MOREAU, E.; BONNET, S.; PLANTARD, O.; MALANDRIN, L. Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. **Veterinary Research**, Paris, v.40, n.37, p.1-18, 2009.

DOWLING, D. F. The thickness of cattle skin. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.6, p.776-785, 1955.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.32, supl.1, p.1578-1586, 2003.

FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG**, Belo Horizonte, n.8, p.49-61, 1993.

GIGLIOTI, RODRIGO. **Estudo quantitativo da infecção por Babesia bovis em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos**. 2013. 97 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. Porto Alegre: Edição do Autor, 1993. 80p.

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

IBELLI, A. M. G.; RIBEIRO, A. R. B.; GIGLIOTI, R.; REGITANO, L. C. A.; ALENCAR, M. M.; CHAGAS, A. C. S.; PAÇO, A. L.; OLIVEIRA, H. N.; DUARTE, J. M. S.; OLIVEIRA, M. C. S. Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.186, p.425-430, 2012.

JONSSON, N. N.; PIPER, E. K.; CONSTANTINOIU, C. C. Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Parasite Immunology**, Oxford, v.36, p.553–559, 2014.

JONSSON, N. N.; BOCK, R. E.; JORGENSESN, W. K. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesioses on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.155, p.1-9, 2008.

JONSSON, N. N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle with particular reference to *Bos indicus* and their crosses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.137, p.1–10, 2006.

KASHINO, S. S., RESENDE, J., SACCO, A. M., ROCHA, C., PROENCA, L., CARVALHO, W. A., FIRMINO, A. A., QUEIROZ, R., BENAVIDES, M., GERSHWIN, L. J., DE MIRANDA SANTOS, I. K. *Boophilus microplus*: the pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v.110, p.12–21, 2005.

KE, G. M; CHENG, H. L.; KE, L. Y.; JI, W. T.; CHULU, J. L.C.; LIAO, M. H.; CHANG, T. J.; LIU, H. J. Development of a quantitative Light Cycler real-time RT-PCR for detection of avian reovirus. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v.133, p.6–13, 2006.

KONGSUWANA, K.; JOSHA, P.; COLGRAVEA, M. L.; BAGNALL, N. H.; GOUGH, J.; BRIAN, B.; PEARSONA, R. Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.40, p.499–507, 2010.

KUBISTA, M.; ANDRADE, J. M.; BEGTSSON, M.; FOROOTAN, A.; JONAK, J.; LIND, K.; SINDELKA, R.; SJOBACK, R.; SJOGREEN, B.; STROMBOM, L.; STAHLBERG, A.; ZORIC, N. The Real Time Polymerase Chain Reaction. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.27, n.2-3, p.95–125, 2006.

KUTLER, K. L. Chemotherapy of Babesiosis: a review In: RISTIC, M.; KREIER, J.P. (Ed.). **Babesiosis**. New York: Academic Press, 1981. p.65-79

LEMOS, A. M.; TEODORO, R. L.; OLIVEIRA, G. P.; MADALENA, F. E. Comparative performance of six Holstein-Friesian x Guzera grades in Brazil. Burdens of *Boophilus microplus* under field conditions. **Animal Production**, Clayton South, v.41, p.187-191, 1985.

LIMA, W. S.; RIBEIRO, M. F.; GUIMARAES, M. P. Seasonal Variation of *Boophilus microplus* (*Canestrini*, 1887) (Acari: *Ixodidae*) in Cattle in Minas Gerais State, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht v.32, p.375-380, 2000.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, p.1216-1231, 1998.

MACKINNON, M. J.; MEYER, K.; HETZEL, D. J. S. Genetic variation and covariation for growth, parasite resistance and heat tolerance in tropical cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.27, p.105-122, 1991.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D. R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.48, p.292-8, 1972.

MORTARINO, M.; FRANCESCHI, A.; MANCIANTI, F.; BAZZOCCHI, C.; GENCHI, C.; BANDI, C. Quantitative PCR in the Diagnosis of Leishmania. **Parassitologia**, Roma, v.46, p.163-167, 2004.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos de seis graus de sangue Holandês-Guzerá ao carrapato (*Boophilus microplus*) e ao berne (*Dermatobia hominis*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.42, p.127-135, 1990.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. FREITAS, A. R. Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus*. II Natural infestation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, p.1267-1271, 1989.

OLIVEIRA, G. P. & ALENCAR, M. M. Resistencia de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. 1. Infestação artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.4, p.433-438, 1987.

OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; GIGLIOTI, R.; BERALDO, M. C. D.; ANÍBAL, F. F., CORREIA, R. O.; BOSCHINI, L.; CHAGAS, A. C. S.; BILHASSI, T. B.; OLIVEIRA, H. N. Resistance of beef cattle of two genetic groups to ectoparasites and gastrointestinal nematodes in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.197, p.168– 175, 2013.

OLIVEIRA, M. C. S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; REGITANO, L. C. A.; ALENCAR, M. M.; NEO, T. A.; SILVA, A. M.; OLIVEIRA, H. N. Detection of *Babesia bigemina* in cattle of different genetic groups and in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.155, p.281–286, 2008.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G., OLIVEIRA, M. C. S., ARAUJO JR., J. P., AMARANTE, A. F. T. PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. **International Journal for Parasitology**, Belo Horizonte, v.35, p.105–111, 2005.

PFAFFL M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.29, p.2002-2007, 2001.

PIPER, E. K.; JACKSON, L. A.; BIELEFELDT-OHMANN, H.; GONDRO, C.; LEW-TABOR, A. E.; JONSSON, N. N. 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*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.40, p.431-441, 2010.

REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; CARVALHO, M. E.; ANDRÉO, R.; MOREIRA, I. C.; NÉO, T. A.; BARIONI JÚNIOR, W.; SILVA, A. M. Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Brasília, n.121, p.1-15, 2006.

RIEK, R. F. Studies on the reactions of animals infested with ticks: VI. Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.13, p.532-550, 1962.

SALEM, G. H., LIU, X., JOHNSRUDE, J. D., ROMAN-REDDY, G. Development and evaluation of an extra chromosomal DNA-based PCR test for diagnosing bovine babesiosis. **Molecular and Cellular. Probes**, London, v.13, p.107–113, 1999.

SAS Institute. **SAS online doc**. Version 8. Cary, 2001.

SAS Institute. **SAS online doc**. Version 8. Cary, 2010.

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

SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; BARIONI JÚNIOR, W. Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. **Genetics Molecular Biology**, Amsterdam, v.30, p.1150-1155, 2007.

SIMON, L.; HERNANDEZ, K.; LOPEZ, O. Comportamiento productivo de machos Holstein x Cebú en silvopastoreo. **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v.32, p.189, 2009.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H. Breeding for resistance to *Boophilu smicroplus* in Australian Illawarra Shorthorn and Brahman x Australian Illawarra Shorthorn cattle. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.58, p.41-46, 1982.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H.; KERR, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.29, p.885-895, 1978.

VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F.; POPPE, B.; VAN ROY, N.; DE PAEPE, A. ; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal controlgenes. **Genome Biology**, London, v.3, p.1-12, 2002.

VILLARES, J. B. Climatologia Zootécnica. III. Contribuição ao estudo da resistência e susceptibilidade genética dos bovinos ao *B. microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.4, p.60-79, 1941.

WAAL, D. T. Vaccination against Babesiosis. **Acta Parasitologica Turcica**, Izmir, v.20, p.487-516, 1996.

WANG, W.; CHEN, K.; XU, C. DNA quantification using EvaGreen and a real-time PCR instrument. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.356, p.303-305, 2006.

WESONGA, F. D.; ORINDA, G. O.; NGAE, G. N.; GROOTENHUIS, J. Comparative tick counts on game, cattle and sheep on a working game ranch in Kenya. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v.38, p.35-42, 2006.

WILKINSON, P. R. Selection of cattle for tick resistance, and the effect of herds of different susceptibility on *Boophilus* populations. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.13, p.974-983, 1962.

ZINTL, A.; GRAY, J. S.; SKERRETT, H. E.; MULCAHY, G. Possible mechanisms underlying age-related resistance to bovine babesiosis. **Parasite Immunology**, v.27, p.115-120, 2005.

CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES

A realização do trabalho teve como perspectiva avaliar as associações entre as características espessura do couro, crescimento pós desmama e resistências aos carrapatos e à babesiose em novilhas de corte das raças Caracu e Nelore, e, além disso, verificar o uso da espessura do couro como critério de seleção em programas de melhoramento animal.

Análise bayesiana foi utilizada na obtenção dos parâmetros genéticos da espessura do couro, tendo em vista a falta de estudos descrevendo seus componentes de variância e a associação genética, ambiental e fenotípica com a característica ganho de peso pós desmama. Baixa correlação genética foi verificada entre ambas, assim, a seleção que possa favorecer a espessura do couro será pouco eficiente na obtenção de progresso genético no ganho de peso pós desmama.

Foi avaliada também a influência da espessura do couro na resistência dos animais aos carrapatos e no nível de parasitemia por *Babesia bovis*. Os resultados obtidos mostraram que não houve associação entre espessura do couro e estas variáveis. Considerando os resultados descritos, a seleção com base na espessura do couro deve ser negligenciada por, aparentemente, não contribuir com o aumento dos índices produtivos.

Com base nos dados observados das infestações artificiais, foi verificado que os animais da raça Nelore são altamente resistentes aos carrapatos *R. microplus*, e que as novilhas Nelore e Caracu, quando desafiadas, são eficientes no controle do nível de parasitemia por *B. bovis*. Entretanto a variação na parasitemia por *B. bovis* não está diretamente relacionada ao número de carrapatos presentes no corpo do hospedeiro.

Em geral, a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Quantitativa (qPCR), com uso dos primers bosg-1 e cbosg-2, realizada para quantificar o DNA de *B. bovis* nas amostras de DNA dos animais estudados, mostrou eficiência no diagnóstico da parasitemia e alta sensibilidade de quantificação. Alguns fatores ainda devem ser explorados para justificar as grandes diferenças na quantificação do DNA de *B. bovis* entre os trabalhos realizados até então, como

diferenças entre metodologias de extração de DNA e sua consequente interferência na sensibilidade e acurácia das quantificações, assim como diferença de manejo do rebanho, nível de parasitemia dos ácaros e quantidade de carrapatos nos animais.