

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DOS
NÍVEIS DE INFESTAÇÃO POR *Rhipicephalus microplus* E
INFECÇÃO POR *Babesia bigemina* E *Babesia bovis* EM
BOVINOS DA RAÇA ANGUS**

Gabriela David

Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DOS
NÍVEIS DE INFESTAÇÃO POR *Rhipicephalus microplus* E
INFECÇÃO POR *Babesia bigemina* E *Babesia bovis* EM
BOVINOS DA RAÇA ANGUS**

Discente: Gabriela David

Orientador: Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira

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

D249e	David, Gabriela Estudo de Associação Genômica Ampla dos Níveis de Infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i> e Infecção por <i>Babesia bigemina</i> e <i>Babesia bovis</i> em Bovinos da Raça Angus / Gabriela David. – Jaboticabal, 2021 84 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Henrique Nunes de Oliveira 1. Babesiose bovina. 2. Carrapato. 3. Genética quantitativa. 4. Genômica. 5. Genética animal. I. Título.
-------	--

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

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DOS NÍVEIS DE INFESTAÇÃO POR *Rhipicephalus microplus* E INFECÇÃO POR *Babesia bigemina* E *Babesia bovis* EM BOVINOS DA RAÇA ANGUS

AUTORA: GABRIELA DAVID

ORIENTADOR: HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA

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

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

Pós-doutoranda AMANDA MARCHI MAIORANO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

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

Jaboticabal, 20 de dezembro de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Gabriela David – nascida na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, no dia 10 de dezembro de 1993, filha de Haroldo Cesar David e Rosalina Aparecida Tapetti David. Iniciou a graduação em março de 2013, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal. Realizou estágio extracurricular no Setor de Bovinocultura de Leite de março de 2016 a novembro de 2017, sob a supervisão da Professora Doutora Maria Imaculada Fonseca. De fevereiro a maio de 2019, cumpriu o estágio curricular obrigatório na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), unidade Pecuária Sudeste, na área de Recursos Genéticos e Melhoramento Animal, sob orientação do Professor Doutor Henrique Nunes de Oliveira e supervisão da Doutora Cintia Righetti Marcondes. Obteve o título de Zootecnista em agosto de 2019. No mesmo mês, ingressou no programa de mestrado em Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, sob a orientação do Professor Doutor Henrique Nunes de Oliveira, com projeto pesquisa em parceria com a Embrapa unidades Pecuária Sudeste e Pecuária Sul e o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

EPÍGRAFE

O que vale na vida não é o ponto de partida e
sim a caminhada. Caminhando e semeando,
no fim terás o que colher.

Cora Coralina

DEDICATÓRIA

Dedico a todos os pesquisadores, que mesmo em meio ao desmonte da ciência seguem lutando por valorização e trabalhando para promover conhecimento, senso crítico e desenvolvimento. Em especial, às meninas e mulheres, para que sejam cada vez mais empoderadas e incentivadas a ultrapassar barreiras por meio da educação e ciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha irmã Fernanda e ao meu irmão Pedro, por serem o mais puro significado de fraternidade, por dividirem angústias e conquistas e me ajudarem sempre e como podem.

Agradeço aos meus pais, por entenderem minhas escolhas da melhor forma possível e me incentivarem a seguir o caminho dos estudos.

Agradeço ao meu namorado Fellipe, por sempre apoiar os meus sonhos e escolhas, por compartilhar a vida comigo e por cada dia mais me mostrar o significado de companheirismo, partilhando momentos bons, me acolhendo e me fortalecendo quando necessário.

Agradeço aos meus familiares e amigos de longa data, por compreenderem minha ausência e me acompanharem sempre que podem.

Agradeço a todos os amigos que fiz durante esses anos de graduação e pós-graduação em Jaboticabal, todos me ajudaram a percorrer esse caminho e contribuíram de alguma forma para este trabalho. Agradeço especialmente minhas amigas Mariana e Jasmine, por se fazerem sempre presentes, mesmo com a distância.

Agradeço a todos os professores que cruzaram o meu caminho, por serem ferramenta de transformação e por fazerem parte da minha formação.

Agradeço à todas as mulheres das gerações anteriores, as quais representaram papel fundamental no movimento de transformação do espaço acadêmico, abrindo caminhos e possibilitando que minha geração encontrasse maior acesso à ciência e educação.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista – Júlio de Mesquita Filho, Campus de Jaboticabal, lugar onde pude realizar o sonho de obter o título de Bacharel em Zootecnia e cursar o mestrado em um programa de excelência.

Agradeço ao Professor Doutor Henrique Nunes de Oliveira, pela confiança depositada em mim, por compartilhar todo seu conhecimento, me introduzir no mundo acadêmico, me acompanhar desde a graduação e me mostrar um novo horizonte a cada reunião. Agradeço a orientação, gentileza e empatia que sempre teve comigo

durante todos esses anos. Agradeço por ser um exemplo ímpar de profissional e ser humano.

Agradeço a todos os profissionais que conheci na Embrapa Pecuária Sudeste, muitos foram essenciais nessa jornada. Agradeço especialmente à Doutora Cintia Righetti Marcondes, que considero uma profissional inspiradora, pela supervisão, ensinamentos e ajuda durante minha estadia em São Carlos. Agradeço também à Doutora Márcia Cristina Sena de Oliveira, por ser peça-chave para conclusão deste trabalho, dedicando seu tempo para garantir que minhas análises ficassem prontas em meio a todos os inconvenientes da pandemia.

Agradeço à Doutora Amanda Marchi Maiorano e ao Doutor Rodrigo Giglioti, por cederem parte valiosa do seu tempo para contribuir com este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (Capes), pelo fomento e auxílio para realização do presente trabalho – Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	III
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	V
LISTA DE QUADROS.....	V
LISTA DE TABELAS	VI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. <i>Rhipicephalus microplus</i>	7
2.2. Babesiose bovina.....	10
2.3. Detecção de <i>Babesia</i> spp.	13
2.4. Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS)	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo Geral.....	16
3.2. Objetivos específicos.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1. Contagem de carrapato	17
4.2. Nível de infecção por <i>Babesia</i> spp.	18
4.3. Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) para <i>Babesia</i> <i>Bigemina</i>	19
4.4. qPCR para <i>Babesia bovis</i>	19
4.5. Quantificação absoluta do número de cópias	20
4.6. Informação genotípica	22
4.7. Obtenção de parâmetros genéticos	22
4.8. Estudo de associação genômica ampla.....	24
4.9. Anotação de genes e mapeamento de QTLs	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Parâmetros genéticos	28
5.2. GWAS	35
5.3. Anotação de genes e QTLs	38
5.3.1. Genes candidatos para infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i>	40

5.3.2. Genes candidatos para nível de infecção por <i>Babesia bigemina</i>	43
5.3.3. Genes candidatos para nível de infecção por <i>Babesia bovis</i>	45
6. CONCLUSÃO	47
7. REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICE.....	62

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DOS NÍVEIS DE INFESTAÇÃO POR *Rhipicephalus microplus* E INFECÇÃO POR *Babesia bigemina* E *Babesia bovis* EM BOVINOS DA RAÇA ANGUS

RESUMO – O Brasil está entre os principais produtores de carne. Animais taurinos são utilizados puros ou em cruzamentos em busca de maior produtividade e qualidade da carne e da carcaça. Entretanto, animais taurinos são mais suscetíveis à infestação por carrapatos. O *Rhipicephalus microplus* transmite os agentes patogênicos *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, que constituem a Tristeza Parasitária Bovina (TPB). Animais taurinos também são mais vulneráveis às infecções. Assim, além dos prejuízos causados, carrapato e babesiose bovina representam um entrave na intensificação da bovinocultura de corte. O presente estudo avaliou as características de níveis de infestação por *R. microplus* (Icar), por meio da contagem de carrapatos, infecção por *B. bigemina* (Ibig) e infecção *B. bovis* (Ibov), determinados por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). Essas características são economicamente importantes e complexas e há dificuldade em selecionar animais resistentes pelo método BLUP tradicional. Foram estimados parâmetros genéticos e foi conduzido um estudo de associação genômica ampla (GWAS) para proporcionar maior entendimento da base genética dessas características, com o objetivo de auxiliar a seleção de animais resistentes. Foram realizadas análises para Icar (624 animais, n=1246), Ibig (786 animais, n=1312) e Ibov (677 animais, n=980) utilizando 770 fêmeas genotipadas com painel de aproximadamente 150.000 marcadores do tipo SNP. Os componentes de variância foram obtidos por inferência bayesiana em um modelo tri-característica. A estimativa de herdabilidade para Icar foi de baixa magnitude (0,17), sugerindo que a seleção pelo fenótipo de contagem dos carrapatos trará respostas a longo prazo. Para Ibig e Ibov as estimativas foram próximas de zero, indicando maior influência ambiental. As repetibilidades de Icar (0,24), Ibig (0,12) e Ibov (0,12) também foram de baixa magnitude, evidenciando que as variações nos níveis de infestação e infecção podem ser atribuídas principalmente a fatores ambientais. As estimativas de correlações genética e fenotípica entre o Icar e níveis de infecção sugerem que não há relação entre níveis de infestação e infecção e a seleção para uma característica não afetaria significativamente a seleção para a outra, visto que, todas foram próximas de zero. A correlação genética entre Ibig e Ibov foi alta e negativa (-0,69). A correlação fenotípica também foi negativa (-0,10) e embora tenha apresentado valor de baixa magnitude, fortaleceu a associação inversa entre as características. Para o estudo de GWAS, foi empregado o método WssGBLUP, utilizando análises univariadas e realizando três iterações, as variâncias das soluções dos SNPs foram usadas como ponderadores. As 15 janelas com maior variação explicaram 30,84%, 54,30% e 47,63% da variância genética de Icar, Ibig e Ibov, respectivamente. Após análise funcional, diversos genes candidatos foram identificados nas 15 janelas de cada característica, contribuindo para a detecção de regiões promissoras para futuros estudos visando identificar genes diretamente envolvidos na resistência dos animais.

Palavras-chave: Babesiose bovina, carrapato, genética quantitativa, genômica, GWAS

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY OF *Rhipicephalus microplus* INFESTATION LEVEL AND *Babesia bigemina* AND *Babesia bovis* INFECTION LEVELS IN ABERDEEN ANGUS CATTLE

ABSTRACT – Brazil is among the main beef producers. Taurine animals are used pure or in crossbreeding in search of greater productivity and quality of meat and carcass. However, *Bos taurus taurus* animals are more susceptible to tick infestation. *Rhipicephalus microplus* transmits the pathogens *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina*, and *Babesia bovis*, which constitute Bovine Parasitic Sadness (BPS). Taurine animals are also more vulnerable to infections. Thus, in addition to the damage caused, ticks and bovine babesiosis represent an obstacle in the intensification of beef cattle breeding. The present study evaluated the characteristics of *Rhipicephalus microplus* infestation level (IT), determined by tick counts, and infection levels by *B. bigemina* (Ibig) and *Babesia bovis* (Ibov), determined using the Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) technique. These traits are economically important and complex, and there is difficulty in selecting more resistant animals by the traditional method. Genetic parameters were estimated and a genome-wide association study (GWAS) was conducted to provide a further understanding of the genetic basis of these traits to aid in the selection of resistant animals. Analyses were performed for IT (624 animals, n=1246), Ibig (786 animals, n=1312), and Ibov (677 animals, n=980) using 770 females genotyped with a panel of approximately 150,000 SNP markers. Variance components were obtained by Bayesian inference in a tri-characteristic model. The heritability estimate for IT was of low magnitude (0.17), suggesting that selection by phenotype will bring long-term responses. For Ibig and Ibov the estimates were close to zero, indicating greater environmental influence. The repeatabilities for IT (0.24), Ibig (0.12), and Ibov (0.12) were also of low magnitude, showing that the variations in the levels of infestation and infection can be attributed mainly to environmental factors. The correlation estimates between infestation and infection levels suggest that there is no relationship between them, and selection for one trait would not significantly affect selection for the other, since they were all close to zero. The genetic correlation between Ibig and Ibov was high and negative (-0.69), the phenotypic correlation was also negative (-0.10) and although it presented a low magnitude value, it strengthened the inverse association between the characteristics. For the GWAS, the WssGBLUP method was employed, using univariate analysis and performing three iterations, the variances of the SNP solutions were used as weights. The 15 windows with the highest variance explained 30.84%, 54.30%, and 47.63% of the genetic variance of IT, Ibig, and Ibov, respectively. After functional analysis, several candidate genes were identified in the 15 windows of each trait. Thus, contributing to the detection of promising regions for future studies aiming to identify genes directly involved in the resistance of animals.

Keywords: Bovine babesiosis, tick, quantitative genetics, genomics, GWAS

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Manhattan plot</i> da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i>	36
Figura 2. <i>Manhattan plot</i> da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infecção por <i>Babesia bigemina</i>	37
Figura 3. <i>Manhattan plot</i> da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infecção por <i>Babesia bovis</i>	37
Figura 4. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i>	38
Figura 5. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infecção por <i>Babesia bigemina</i>	39
Figura 6. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infecção por <i>Babesia bovis</i>	39
Figura 7. Rede de termos de ontologia gênica relacionados à imunidade para o nível de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i>	40
Figura 8. Rede de termos de ontologia gênica relacionados à imunidade para o nível de infecção por <i>Babesia bigemina</i>	44
Figura 9. Rede de termos de ontologia gênica relacionados à imunidade para o nível de infecção por <i>Babesia bovis</i>	45

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Condições de termociclagem adotadas para a reação em cadeia da polimerase quantitativa para amplificação de <i>Babesia bigemina</i> nas amostras de DNA dos animais Angus.....	19
Quadro 2. Sequências utilizadas como oligonucleotídeos iniciadores direto (<i>Primer F</i>) e reverso (<i>Primer R</i>) para quantificação do número de cópias de DNA de <i>Babesia bigemina</i>	19
Quadro 3. Condições de termociclagem adotadas para a reação em cadeia da polimerase quantitativa para amplificação de <i>Babesia bovis</i> nas amostras de DNA dos animais Angus.....	20

Quadro 4. Sequências utilizadas como oligonucleotídeos iniciadores direto (<i>Primer F</i>) e reverso (<i>Primer R</i>) para quantificação do número de cópias de DNA de <i>Babesia bovis</i>	20
--	-----------

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Estatísticas descritivas dos níveis de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i> , infecção por <i>Babesia bigemina</i> e infecção por <i>Babesia bovis</i> , transformados em $\text{Log}_{10}(n+1)$	27
Tabela 2. Médias e intervalos de 95% de maior densidade das variâncias genética aditiva (σ^2_a), de ambiente permanente (σ^2_{ep}) e fenotípica (σ^2_p), para os níveis de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i> (Icar), infecção por <i>Babesia bigemina</i> (Ibig) e infecção por <i>Babesia bovis</i> (Ibov).....	29
Tabela 3. Médias e intervalo de 95% de maior densidade da herdabilidade e repetibilidade para os níveis de infestação por <i>Rhipicephalus microplus</i> (Icar), infecção por <i>Babesia bigemina</i> (Ibig) e infecção por <i>Babesia bovis</i> (Ibov).....	29
Tabela 4. Médias e intervalo de maior densidade para as correlações genética (acima da diagonal) e fenotípica (abaixo da diagonal) entre as características nível de infecção por <i>Babesia bigemina</i> (Ibig), nível de infecção por <i>Babesia bovis</i> (Ibov) e contagem de carrapatos (Icar).....	33

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores e fornecedores de alimento para o mundo e a pecuária representa um importante segmento do agronegócio. A bovinocultura de corte se estabeleceu de forma extrativista por muitos anos, mas pressões de mercado criaram a necessidade de uma atividade mais produtiva, gerando mudança no perfil da pecuária, em busca de intensificação de forma eficiente e racional (Euclides Filho, 2000; Alencar, 2004). Com isso, a produtividade do Brasil aumentou expressivamente nos últimos 30 anos e o país apresenta grande relevância na produção global (Abiec, 2021). Entretanto, o fato do sistema brasileiro ser predominantemente extensivo faz com que a eficiência produtiva pareça ser inferior a países como os Estados Unidos, que mantêm a maior parte dos seus animais em sistema de confinamento, portanto apresentam altos níveis de desempenho animal.

A fonte de alimentação é um componente fundamental a ser considerado, visto que criação baseada em pastagens e subprodutos de outros setores agrícolas reduz a competição por grãos utilizados para consumo humano (Berndt e Tomkins, 2013). A implantação de um sistema deve levar em consideração diferenças regionais e, em alguns casos, como o do Brasil, isso implica em optar por manter níveis de produção mais baixos, para que sejam compatíveis com os recursos disponíveis (Euclides Filho, 2000). Isso é dado pois a sustentabilidade de um sistema de produção está ligada a aumentar sua contribuição para a segurança alimentar, utilizando recursos naturais de forma eficiente e atendendo as demandas de mercado (Gerber *et al.*, 2015). Este tem exigido sistemas cada vez mais competitivos e o Brasil vem enfrentando pressão para melhoria em produtividade e qualidade (Hadlich *et al.*, 2013), por isso cresce a importância em ajustar genótipo-ambiente-mercado (Euclides Filho, 2000; Porto Neto *et al.*, 2014).

A introdução de animais zebuínos no país foi essencial para o desenvolvimento e expansão da pecuária e o rebanho brasileiro é composto majoritariamente por esses animais. Porém, animais *Bos taurus indicus* apresentam menor produtividade, representando uma limitação à intensificação sustentável da produtividade dos bovinos em países tropicais e subtropicais (Porto Neto *et al.* 2014). Durante o século passado, animais taurinos foram intensivamente selecionados para características produtivas e, em ambientes favoráveis, apresentam maior produtividade que animais

zebuínos (Low *et al.*, 2020). O potencial genético dos animais exerce papel fundamental na busca por maior eficiência, por isso, com a melhoria das condições de alimentação e manejo, se utiliza a introdução de raças taurinas e cruzamento entre taurinos e zebuínos, em busca de sistemas mais produtivos e com produto final de qualidade superior (Alencar 2004; Porto Neto *et al.*, 2014).

A raça Angus tem forte participação na atividade da região Sul do Brasil e animais dessa raça são amplamente utilizados nos cruzamentos com animais Nelore em todas as outras regiões do país (Asbia, 2017). Entretanto, há uma barreira na introdução da raça em ambientes tropicais, devido à falta de adaptabilidade dos animais taurinos (Porto Neto *et al.*, 2014). Considerando o sistema produtivo brasileiro, as infestações por *Rhipicephalus microplus* representam um dos principais obstáculos à expansão das raças taurinas. Este ectoparasita gera perdas devido aos seus efeitos diretos, além disso causa perdas indiretas por atuar como vetor dos agentes da Tristeza Parasitária Bovina (TPB), um complexo de doenças que engloba babesiose e anaplasmose, causadas pelos hemoparasitas *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale* (Jongejan e Uilenberg, 2004; Mapholi *et al.*, 2014).

A presença do carrapato e ocorrência da TPB limitam a introdução de animais puros e cruzamentos com raças *Bos taurus taurus* (Alencar, 2004; Pereira *et al.*, 2009), visto que a resistência dos animais é inversamente proporcional à fração de genes taurinos (Frisch, 1999; Jonsson, 2006). Dessa forma, *R. microplus* é o ectoparasita que mais causa impacto na pecuária, sendo o carrapato bovino e a TPB um obstáculo à intensificação da atividade e uma das causas mais relevantes nas perdas de produção (Jongejan e Uilenberg, 2004; Cardoso *et al.*, 2021).

Os agentes patogênicos causadores da babesiose bovina são transmitidos exclusivamente pelo *R. microplus*, a doença causa infecção aguda e, em alguns casos, pode ser fatal, sendo *Babesia bovis* a espécie mais patogênica (Bock *et al.*, 2004; De Wall e Combrink, 2006). É bem estabelecido que existe imunidade relacionada à idade para infecção inicial de babesiose, caracterizada pela forte imunidade em bezerros (Goff *et al.*, 2001). Portanto, em áreas onde o vetor está presente o ano todo, os animais são expostos à infecção ainda jovens, desenvolvem imunidade e se tornam portadores, devido à constante reinfecção. Nessas áreas,

existe um equilíbrio na relação hospedeiro, vetor, agente e ambiente, por isso a doença clínica ocorre raramente. Porém, em regiões onde a população do carrapato oscila durante o ano, seja por condições climáticas ou controle inadequado do vetor, ocorre instabilidade endêmica, desencadeando surtos da enfermidade, com alta taxa de mortalidade (Mahoney e Ross, 1972; Bock *et al.*, 2004).

É necessário fazer o controle do carrapato por questões de bem-estar animal, para reduzir efeitos diretos causados pelo hematofagismo e evitar inoculação excessiva de agentes patogênicos, mas é necessário que exista conservação da população de carrapatos em um nível mínimo, para que ocorra desenvolvimento e manutenção da imunidade a *Babesia* spp. (Jonsson *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2019). Acaricidas são utilizados como principal estratégia para controle do carrapato, no entanto têm vida útil limitada. Além disso, o uso de acaricidas aumenta os custos de produção, pode deixar resíduos nos produtos de origem animal e contaminar o meio ambiente (Machado *et al.*, 2010; Andreotti *et al.*, 2019).

Hospedeiros resistentes a endo e ectoparasitas têm sido apontados como forma determinante para um controle efetivo e a longo prazo, uma vez que não requer mão de obra e/ou aumento nos custos, além de reduzir o uso de medicamentos e produtos químicos, viabilizando produtos de origem animal saudáveis, livres de resíduos e reduzindo barreiras sanitárias impostas pelo comércio internacional (Frisch, 1999; Coutinho *et al.*, 2010; Cardoso *et al.*, 2021). Diversos estudos evidenciaram a variabilidade genética para resistência ao carrapato e babesiose bovina, indicando potencial para o melhoramento dessas características (Benavides e Sacco, 2007; Jonsson *et al.*, 2008; Bilhassi *et al.*, 2014; Jonsson *et al.*, 2014).

Um dos métodos utilizados para caracterização da babesiose no animal são testes baseados na Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR), que apresentam alta sensibilidade e especificidade, além de permitir avaliação quantitativa dos níveis de infecção (Buling *et al.*, 2007; Giglioti *et al.*, 2016), visto que, por meio de fluoróforos adicionados à reação e de uma curva de diluição seriada com valores conhecidos, é possível detectar o número de cópias do DNA de *Babesia* spp. presente em amostras de sangue bovino.

Ferramentas genômicas têm possibilitado o desenvolvimento de estratégias para identificar e selecionar animais com maior mérito genético antes mesmo da

expressão fenotípica da característica, reduzindo a necessidade de obtenção de fenótipos cuja mensuração é dispendiosa, inacurada, limitada a um dos sexos ou que exigem sacrifício do animal (Coutinho *et al.*, 2010). Ainda que a característica não se enquadre nessas categorias, o uso de informações genômicas pode acelerar o ganho genético, pelo aumento da acurácia de predição do valor genético do animal. Sabe-se que a resistência ao carrapato e babesiose bovina são geneticamente determinadas, porém os mecanismos de resistência ainda são pouco compreendidos (Bilhassi *et al.*, 2014; Siqueira *et al.*, 2016). Além disso, características adaptativas como resistência a doenças são difíceis de medir (Burrow, 2012).

Os estudos de associação genômica ampla (GWAS) permitem associar regiões genômicas a variação fenotípica, possibilitando maior entendimento da base genética destas características economicamente importantes e complexas (Yang *et al.*, 2013; Cavani *et al.*, 2020a). Um maior entendimento sobre níveis de infestação por *R. microplus* e de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* possibilitará o desenvolvimento de métodos de avaliação e seleção de animais que tenham a capacidade de manter uma carga mais baixa desses parasitas em relação a outros mantidos nas mesmas condições, viabilizando a intensificação no uso de animais taurinos no sistema produtivo de corte e possibilitando que o sistema seja mais eficiente e sustentável.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os primeiros bovinos de corte foram introduzidos no Brasil durante a colonização, instituindo a bovinocultura de corte no país. Até meados de 1980, a atividade foi conduzida de forma extrativista, com baixo investimento em insumo e tecnologia. Entretanto, a necessidade de tornar a pecuária de corte mais produtiva motivou a busca por maiores investimentos em tecnologia, visando intensificar a produção de forma racional (Euclides Filho, 1997;). Na década de 90, pesquisadores relataram a formação de um novo *status* de cultura global, em que as demandas de mercado passariam a ser estabelecidas por exigência quanto a qualidade de vida e bem-estar, associadas à qualidade do produto e ao baixo custo (Euclides Filho, 1997; Euclides Filho 1999; Euclides Filho 2000).

O processo de globalização, aliado à crescente demanda por alimentos seguros, aspectos produtivos e recursos naturais disponíveis, alterou a configuração da bovinocultura de corte mundial. Neste contexto, a pecuária de corte brasileira se tornou destaque na produção e exportação de carne bovina (Almeida e Michels, 2012; Lobato *et al.*, 2014). Atualmente, o Brasil detém o maior rebanho do mundo e é o maior exportador de carne bovina, destacando-se no cenário mundial. Em 2020, a pecuária movimentou R\$ 747,05 bilhões, apresentando crescimento de 20,8% em relação ao ano anterior. A atividade tem grande impacto na economia brasileira, representando 10% do PIB nacional (Abiec, 2021). A introdução de animais zebuínos no país foi essencial para o desenvolvimento e expansão da pecuária brasileira, a qual é predominantemente extensiva e com rebanho composto majoritariamente por esses animais.

Nos últimos 30 anos, a produtividade da atividade no Brasil aumentou 159% e o país responde a 14,3% da produção mundial em toneladas equivalentes de carcaça (TEC) (Abiec, 2021). Ao comparar os números do país com os EUA, principal produtor de carne e com grande parte de seus animais confinados, o Brasil aparenta ser ineficiente, por produzir 3% a menos de TEC, com aproximadamente o dobro de animais em relação ao rebanho estadunidense (Mottet *et al.*, 2017; Abiec, 2021). Altos níveis de desempenho animal são obtidos em confinamento, mas esse sistema apresenta expressiva demanda por grãos e a cadeia da carne é frequentemente criticada por seu consumo, visto que parte da alimentação utilizada em confinamento poderia servir aos humanos ou sua matéria prima foi produzida em áreas aptas ao cultivo de alimentos para a população. Portanto, ocorre uma contribuição limitada desse sistema à segurança alimentar e subsistência, além de estar relacionado a impactos ambientais (Gerber *et al.*, 2015; Mottet *et al.*, 2017).

O sistema extensivo contribui para o equilíbrio alimentar, pois os animais desempenham papel fundamental ao converter alimentos não consumidos por humanos em proteína altamente nutritiva e aproveitam terras marginais. No entanto, esse sistema apresenta menor produtividade, em decorrência do maior gasto de energia dos animais, baixa densidade nutricional da dieta e maior tempo para a terminação. A baixa conversão de recursos naturais em produtos de origem animal provoca pressões para intensificação de forma sustentável, em função de questões

ambientais e da crescente demanda por alimento, uma vez que sistemas são avaliados em termos de desempenho animal (Gerber *et al.*, 2015; Mottet *et al.*, 2017; Cardoso *et al.*, 2020).

Raças taurinas foram intensivamente selecionadas para características de produção e, em ambientes favoráveis, diferem substancialmente dos animais zebuínos, apresentando maior precocidade e qualidade do produto final (Porto Neto *et al.*, 2014; Low *et al.*, 2020). No entanto, o número efetivo de animais *Bos t. indicus* do rebanho brasileiro é expressivamente maior, visto que produtores optam por criá-los devido a sua adaptabilidade ao ambiente e às pastagens. Portanto, existe uma limitação à intensificação sustentável da produtividade do gado nos trópicos (Oliveira *et al.*, 2014; Porto Neto *et al.*, 2014). Além disso, a raça influencia na qualidade da carne - o menor nível de maciez oriundo de animais zebuínos é considerado um dos pontos fracos da bovinocultura no país (Ferraz e Felício, 2010). Como o mercado da carne tem exigido sistemas cada vez mais competitivos, o Brasil vem enfrentando pressão para melhoria em produtividade e qualidade (Hadlich *et al.*, 2013).

Em países tropicais, cruzamentos são utilizados buscando a adequação do genótipo ao ambiente e visando uma complementaridade entre as espécies zebuínas e taurinas (Scholtz *et al.*, 2013; Favero *et al.*, 2019), dada a necessidade de atender as demandas ambientais e de mercado. Dados do relatório da Associação Brasileira de Inseminação Artificial mostram que Angus e Nelore são as duas principais raças na produção e comercialização de sêmen de bovinos de corte (Asbia, 2017). Animais da raça Angus apresentam excelente qualidade de carne e carcaça, alta fertilidade, puberdade precoce e adaptabilidade ao clima temperado. Entretanto, não prosperam em ambientes tropicais e/ou com alto índice de doenças e parasitas (Low *et al.*, 2020).

O sistema de produção da pecuária de corte brasileira é predominantemente extensivo, mais de 80% dos animais abatidos são criados a pasto (Abiec, 2021). Com isso, um dos principais desafios da atividade é o controle eficaz do carrapato bovino, considerado o ectoparasita de maior importância para a pecuária (Jongejan e Uilenberg, 2004), principalmente por ser transmissor dos agentes patogênicos que constituem a Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Guglielmone *et al.*, 2006).

Danos atribuídos ao carrapato causam prejuízos de bilhões de dólares anualmente (Grisi *et al.*, 2014) e o seu controle depende, principalmente, da utilização

de produtos químicos. Estes não são totalmente eficazes e geram preocupações de segurança alimentar, impacto ambiental e desenvolvimento de linhagens de carrapato resistentes à diversas classes de produtos químicos (Graf *et al.*, 2004). Além disso, vem sendo exigida a redução no uso de acaricidas, visando diminuir a possibilidade da contaminação dos produtos de origem animal e meio ambiente (Coutinho *et al.*, 2010).

As infestações podem limitar a produtividade de animais taurinos, com isso o carrapato e a TPB apresentam grande restrição à produção animal de países tropicais e subtropicais (Jongejan e Uilenberg, 2004), pois há dificuldade em introduzir esses animais onde há ocorrência dos parasitas. Além disso, mudanças climáticas têm efeito direto na distribuição de vetores de doenças e parasitas. Alterações nos padrões de infestação e infecção são uma ameaça permanente e significativa, capaz de aumentar a pressão sobre a produção e sobrevivência dos animais (Scholtz *et al.*, 2013), podendo prejudicar a produtividade também nas regiões em que os taurinos já são adaptados, como no caso da região Sul do Brasil, a qual tem atividade baseada na criação desses animais.

Considerando as exigências feitas à indústria da carne e as limitações apresentadas pelos métodos existentes de controle do carrapato, há necessidade de obter medidas alternativas que não resultem em maiores gastos. Tem-se utilizado como alternativa bovinos mais resistentes, em busca da redução de prejuízos causados pelas infestações e aumento da resistência dos carrapatos aos acaricidas (Oliveira *et al.*, 2007). A resistência do hospedeiro é uma solução permanente e um dos fatores mais importantes que afetam a economia no controle do carrapato, mas a seleção é negligenciada devido à dificuldade em obter fenótipos para essa característica (Cardoso *et al.*, 2021).

2.1. *Rhipicephalus microplus*

O *Rhipicephalus microplus* é uma espécie de carrapato da família Ixodidae, amplamente disseminado no Hemisfério Sul e no Sul dos Estados Unidos (Taylor *et al.*, 2017). Trata-se de um ectoparasita monóxeno, com ciclo biológico composto por

etapas de vida parasitária e livre, cujo hospedeiro preferencial são bovinos, mas podem parasitar outros animais (Garcia *et al.*, 2019).

A fixação das larvas ao hospedeiro dá início ao ciclo de vida parasitário, durante essa fase ocorrem duas ecdises, a primeira da fase larval para o estágio de ninfa e a segunda de ninfa para o estágio adulto, onde ocorre a diferenciação sexual. Na fase adulta, ocorre a cópula, a fêmea inicia o repasto sanguíneo e quando ingurgitada se desprende do animal, dando início a fase de vida livre. As teleóginas realizam a oviposição no solo, em locais protegidos de luz solar direta. Ao fim da postura, a fêmea finaliza seu ciclo de vida e os ovos permanecem no solo para incubação. Após a eclosão, as larvas migram para a extremidade das folhas da pastagem e permanecem agrupadas a espera de contato com o hospedeiro (Pereira *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2019).

A fase parasitária dura em média 21 dias e o carrapato não sofre tanto com as condições climáticas, por estar fixo no hospedeiro. No entanto, as condições climáticas são um fator determinante na fase de vida livre, influenciando diretamente na sua duração (Pereira *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2019). Durante o outono e inverno a fase de vida livre é mais longa do que na primavera e verão, quando as temperaturas médias são maiores. Temperaturas abaixo de 25 °C prolongam as fases de postura e incubação, maiores que 30 °C causam mortalidade das fêmeas e abaixo de 15 °C ocasionam mortalidade de fêmeas e ovos (Campos Pereira e Labruna, 2008).

Redução no ganho de peso e fertilidade, anemia e danos ao couro, são exemplos de efeitos diretos decorrentes da infestação por carrapatos (Jonsson, 2006), os quais são responsáveis por limitar a produtividade e representar grande impacto econômico, mesmo que não atuem como vetor de doenças (Jongejan e Uilenberg, 2004). Entretanto, o *R. microplus* é transmissor dos patógenos que constituem a TPB, um complexo de doenças causadas por um ou mais dos agentes da babesiose e anaplasiose bovina (Jonsson *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2019). Portanto, em termos de impacto econômico, o *R. microplus* é a espécie mais significativa na pecuária, sendo o carrapato e as doenças transmitidas por ele as causas mais relevantes nas perdas de produção pecuária de regiões tropicais e subtropicais (Jongejan e Uilenberg, 2004; Cardoso *et al.*, 2021).

Estimativas recentes atribuíram ao carrapato bovino e as doenças transmitidas por ele uma perda global de 22 a 30 bilhões de dólares ao ano (Lew-Tabor e Rodriguez Valle, 2016). No Brasil, as perdas econômicas potenciais são de aproximadamente 3,2 bilhões de dólares (Grisi *et al.*, 2014). Como o clima é o fator primário no sucesso da disseminação do carrapato, o aumento de temperatura, causado pelo aquecimento global, poderá potencializar a incidência do carrapato em regiões que o ectoparasita é endêmico, causando sérias implicações na variação sazonal das infestações, incidência de TPB e estratégias de controle (Mapholi *et al.*, 2014).

Os métodos de controle do carrapato incluem rotação de pastagens e programas integrados com manejos de controle biológico e químico, mas a principal estratégia utilizada para combater as infestações é o uso de acaricidas (Mapholi *et al.*, 2014). O controle é realizado visando limitar as perdas diretas e as decorrentes da TPB, sendo implementado nos níveis de erradicação e controle estratégico (Gonçalves, 2000; Jonsson *et al.*, 2008). Contudo, a presença de uma quantidade controlada do carrapato é importante para manter a imunidade dos animais contra agentes da TPB (Saueressig, 2006) e sua erradicação não é viável (Oliveira *et al.*, 2008).

Ao realizar aplicação de acaricidas, ocorre pressão de seleção na população de carrapatos (Koller *et al.*, 2019). O uso incorreto e a longo prazo de pesticidas sintéticos acelera o processo de seleção de alelos ligados à resistência aos acaricidas, fazendo com que cepas resistentes evoluam mais rapidamente que o desenvolvimento de produtos químicos, uma vez que o processo de descoberta de novos acaricidas é demorado e oneroso. Além disso, os acaricidas aumentam os custos de produção e, quando não utilizados da forma recomendada, podem deixar resíduos nos produtos de origem animal e causar contaminação do meio ambiente (Machado *et al.*, 2010; Andreotti *et al.*, 2019).

A curto prazo, os acaricidas são essenciais, mas não oferecem uma solução permanente para o controle de carrapatos, enquanto a resistência do hospedeiro além de representar uma solução permanente, não requer trabalho ou recursos extras. Portanto, bovinos resistentes são um dos fatores mais importantes que afetam a economia do controle do carrapato e representam uma peça chave para que esse controle seja efetivo e a longo prazo (Frisch, 1999; Cardoso *et al.*, 2021). Diversos

mecanismos imunes, características físicas e mecânicas da pele, comprimento, espessura e cor da pelagem e capacidade de autolimpeza, são componentes que contribuem para a interação complexa entre bovinos e carrapatos (Jonsson *et al.*, 2014; Tabor *et al.*, 2017).

O *R. microplus* é originária da Ásia, com isso, animais zebuínos foram domesticados em ambientes em que essa espécie de carrapato era endêmica. A convivência de milhares de anos entre o carrapato e animais *Bos t. indicus* conferiu maior resistência desses animais devido a seleção natural. Quando comparados bovinos taurinos e zebuínos, carrapatos infestam de cinco a dez vezes mais animais *Bos t. taurus* expostos as mesmas condições que animais *Bos t. indicus* (Jonsson *et al.*, 2014). Em animais cruzados, a resistência ao carrapato diminui conforme a fração de genes europeu aumenta, existe também uma variação de resistência entre e dentro de raças (Frisch, 1999; Jonsson, 2006; Biegelmeyer *et al.*, 2012). Variações na resistência às hemoparasitoses foram evidenciadas ao comparar níveis de infecção de animais taurinos e zebuínos, sendo animais taurinos mais propensos a TPB (Bock *et al.*, 1997; Jonsson *et al.*, 2008; Piper *et al.*, 2010; Bilhassi *et al.*, 2014).

2.2. Babesiose bovina

Os protozoários do gênero *Babesia* são parasitas intraeritrocitários que acometem animais domésticos, selvagens e, eventualmente, o ser humano. Cinco espécies de *Babesia* spp. infectam bovinos (Bock *et al.*, 2004). No Brasil, *B. bigemina* e *B. bovis* são os agentes da babesiose bovina e são transmitidos exclusivamente pelo *R. microplus* (Guglielmone, 1995; Oliveira-Sequeira *et al.*, 2005). *Babesia* spp. são parasitas heteróxeos, ou seja, têm seu desenvolvimento envolvendo estágios no hospedeiro vertebrado e no hospedeiro invertebrado, o qual atua como vetor. Os bovinos são infectados, durante o repasto sanguíneo, pelos esporozoítos presentes nas glândulas salivares do vetor. A infecção no carrapato pode ocorrer devido a ingestão de sangue de bovinos infectados ou por transmissão transovariana (Bock *et al.*, 2004).

Transmitidos via saliva do carrapato, os esporozoítos penetram na membrana celular dos eritrócitos dos bovinos e dentro das hemácias se transformam em

trofozoítos, estes originam os merozoítos por fissão binária. Os merozoítos provocam a lise das hemácias parasitadas e invadem novos eritrócitos, dando continuidade ao ciclo de *Babesia* spp., no hospedeiro vertebrado. O carrapato absorve merozoítos durante o repasto sanguíneo de bovinos infectados, esses merozoítos se transformam em gametócitos na passagem do sangue até o intestino do ectoparasita. Grandes agregados de gametócitos sofrem divisão completa, assumindo a forma de gametas que se fundem aos pares formando zigotos. Estes invadem células digestivas intestinais e basófilas e se multiplicam (esquizogonia primária), originando os cinetos primários que acometem diversos órgãos e células (Bock *et al.*, 2004).

Durante a invasão de diversos tecidos do hospedeiro invertebrado, os cinetos primários originam cinetos secundários, os quais invadem as glândulas salivares formando esporoblastos. Estes permanecem dormentes até o contato do carrapato com o hospedeiro vertebrado, quando é ativada a formação de esporozoítos que serão inoculados nos bovinos via saliva. Nas fêmeas os cinetos infectam os oócitos, onde ocorre ciclos sucessivos de esquizogonia secundária, causando transmissão transovariana, com desenvolvimento posterior do protozoário ocorrendo na fase larval. Após a fixação da larva no hospedeiro, a forma infecciosa do protozoário para os bovinos demora cerca de nove dias para se formar em *B. bigemina* e de dois a três dias em *B. bovis*. Portanto, a transmissão de *B. bovis* ocorre no estágio de larva, enquanto *B. bigemina* pode ser transmitida por ninfas e adultos (Bock *et al.*, 2004).

É fundamental conhecer a epidemiologia da doença, para nortear seu controle. Na babesiose bovina três situações epidemiológicas podem ser observadas, de acordo com a ocorrência do vetor, são elas: áreas livres, áreas de instabilidade endêmica e áreas de estabilidade endêmica. Quando ocorre oscilação na população do carrapato, seja por controle inadequado ou fatores climáticos, ocorre instabilidade endêmica (Mahoney e Ross, 1972). Nestas áreas, a ausência do vetor faz com que animais jovens não sejam infectados e animais adultos não reforcem sua imunidade e, quando as condições ambientais forem favoráveis ao carrapato, a exposição dos animais ao parasita acarretará infestações em que os animais não têm imunidade suficiente, resultando em surtos de babesiose, com casos agudos e alta mortalidade (Uilenberg, 1995; De Waal e Combrink, 2006).

Nas áreas de estabilidade endêmica, há presença constante do vetor e a transmissão do protozoário é contínua, implicando na exposição precoce dos animais que, ao se recuperarem, estabelecem imunidade contra a doença, mas podem permanecer com infecção persistente dos agentes patológicos (Guglielmone, 1995; Allred, 2003). Existe uma resistência inversa em função da idade, em que animais mais jovens são menos susceptíveis aos vetores e naturalmente mais resistentes à babesiose, apresentando apenas infecções subclínicas quando são infectados antes de atingirem nove meses de idade (Callow, 1984; Utech *et al.*, 1978). Sendo assim, o contato constante entre vetor biológico e rebanho, proporciona aos animais infectados ainda bezerros a manutenção da infecção de forma assintomática tornando-os portadores sadios quando adultos e favorecendo um equilíbrio entre imunidade e doença (Gonçalves, 2000; Oliveira *et al.*, 2005).

Os primeiros sintomas da *Babesia* spp. podem ser observados de oito a 16 dias após a infecção e são eles: febre, debilidade, falta de apetite, hemoglobinúria, anemia e icterícia. Estes sintomas variam em função da espécie, patogenicidade entre cepas da mesma espécie e suscetibilidade do hospedeiro (Saueressig, 1995). Animais recuperados de *B. bigemina* permanecem portadores por alguns meses e infectantes para carrapatos de quatro a sete semanas. Em casos de *B. bovis*, os animais permanecem como portadores assintomáticos por anos e a duração da infecção depende da raça (Mahoney, 1969; Johnston *et al.*, 1978). Na fase aguda, os hemoparasitas apresentam sintomas semelhantes, entretanto, a *B. bovis* provoca modificações nos eritrócitos causando obstrução de fluxo sanguíneo em capilares de órgãos vitais. Lesões mais deletérias acometem pulmão, e cérebro, ocasionando dificuldade respiratória e sintomas neurológicos como convulsão, hiperestesia, nistagmo, incoordenação motora e paralisia (Kessler e Schenk, 1998; Jonsson *et al.*, 2008).

Na infecção por *B. bovis*, geralmente, ocorre febre antes que outros sinais clínicos se tornem evidentes, podendo causar aborto em vacas prenhes e redução de fertilidade em touros. A fase aguda dura de três a sete dias e os sintomas incluem inapetência, fraqueza, perda muscular, diarreia e aumento de frequência respiratória. A hemoglobinúria está frequentemente presente em casos agudos da doença, mas o sintoma pode não ocorrer em caso subagudo ou crônico. Anemia e icterícia se

desenvolvem em casos mais prolongados e em casos avançados da doença ocorrem convulsões e coma (Bock *et al.*, 2004; Jonsson *et al.*, 2008).

A *B. bigemina* é considerada menos patogênica que a *B. bovis*, visto que, seus efeitos estão intimamente relacionados com a destruição dos eritrócitos. Animais infectados apresentam quadro de anemia, icterícia e a hemoglobínúria ocorre mais cedo e de forma mais consistente, a febre é menos característica e sinais neurológicos não são comuns. Geralmente, a recuperação é rápida e completa, mas, em alguns casos, a doença pode se desenvolver rapidamente causando a morte do animal (Bock *et al.*, 2004; Jonsson *et al.*, 2008).

A ocorrência de babesiose bovina é limitada a distribuição geográfica de seu vetor, portanto, para controlar a doença é essencial que haja controle do carrapato, para que a inoculação de *Babesia* spp. não seja excessiva. Porém, sua erradicação não é desejada, uma vez que o desenvolvimento e manutenção da imunidade dependem da inoculação constante dos patógenos. Vacinação, pré-imunização e quimioprofilaxia são estratégias que podem ser usadas no controle da doença, mas todas apresentam limitações. A quimioprofilaxia necessita de maiores comprovações e tem eficiência restrita, enquanto a pré-imunização pode causar a doença nos animais, além de existir a possibilidade de disseminação de outras doenças no rebanho. A vacina existente é viva atenuada, sua produção é complexa e envolve o uso de animais. No Brasil, apenas a forma refrigerada da vacina é fabricada e não há testagem de seus lotes, devido ao curto período de validade (Santos *et al.*, 2019).

2.3. Detecção de *Babesia* spp.

À medida que os países, onde há ocorrência do carrapato, buscam maior produtividade introduzindo raças taurinas, aumenta a relevância da babesiose bovina e a necessidade de melhor capacidade de seu diagnóstico. A técnica de esfregaço sanguíneo é adequada para diagnóstico da doença na fase aguda, mas é inadequada para detecção animais portadores, devido à dificuldade em identificar protozoários na lâmina quando a carga parasitária é baixa (Böse *et al.*, 1995; OIE, 2021). Testes sorológicos detectam anticorpos no soro por longos períodos, indicando animais que tiveram contato com agentes da babesiose, apresentando grande importância para

estudos epidemiológicos (Madruga *et al.*, 2000; Bock *et al.*, 2004; Buling *et al.*, 2007). Entretanto, os níveis de anticorpos podem não ter relação com o nível de parasitemia (Okino *et al.*, 2018).

Métodos de diagnósticos específicos e sensíveis, principalmente em animais portadores, são necessários para melhor conhecimento dos aspectos que envolvem a relação parasita hospedeiro (Bilhassi *et al.*, 2014). Diagnósticos molecular utilizando técnica baseada na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) possuem alta sensibilidade e especificidade e foram amplamente utilizados (Oliveira *et al.*, 2005; Oliveira-Sequeira *et al.*, 2005). Porém, estes detectam a infecção dos animais apenas de forma qualitativa (Buling *et al.*, 2007; Giglioti *et al.*, 2016). A técnica de PCR em tempo real (qPCR) é um aprimoramento da PCR convencional, que permite a quantificação do número de cópias dos fragmentos de DNA de *Babesia* spp. e a obtenção do diagnóstico de forma mais simples e eficiente (Giglioti *et al.*, 2016).

O estudo de Buling *et al.* (2007) desenvolveu um ensaio de qPCR para detecção e identificação de *B. bigemina* e *B. bovis*. Bilhassi *et al.* (2014) foram os primeiros a utilizar a técnica qPCR para comparar o número de cópias de *B. bovis* no sangue de diferentes grupos raciais de bovinos e a técnica permitiu observar diferentes níveis de infecção entre os grupos. Desde então, diversos estudos empregaram essa técnica, visando determinar níveis de infecção em diferentes raças bovinas a fim de identificar animais resistentes (Giglioti *et al.*, 2016; Giglioti *et al.*, 2018a; Cavani *et al.*, 2020a).

2.4. Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS)

A maior parte das características de interesse econômico são quantitativas, ou seja, são controladas por muitos genes, resultando em interações complexas, além de serem altamente afetadas por fatores ambientais (Regitano, 2004; Goddard e Hayes, 2009). Essas características quantitativas são comumente selecionadas com base em registros fenotípicos do indivíduo e seus parentes (Meuwissen *et al.*, 2001). Entretanto, em algumas situações o fenótipo não é um indicativo preciso do genótipo (Martinez e Machado, 2002).

A disponibilidade de plataformas de genotipagem com alta densidade impulsionou a busca por mutações relacionadas à variação em características complexas por meio de estudos de associação genômica ampla (GWAS). Estes estudos avaliam animais genotipados que possuem registros para fenótipos de interesse e buscam associar ao efeito dos alelos de um grande número de marcadores para localizar genes causais, com o objetivo de decifrar a base genética das características quantitativas (Goddard e Hayes, 2009; Blasco e Toro, 2014).

Marcadores do tipo polimorfismos de nucleotídeo único (SNP – do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*) são causados por mutação de uma única base, em um loco específico da sequência, representando a variação mais comum do genoma (Goddard e Hayes, 2009; Blasco e Toro, 2014). Para ser considerado um SNP, e não uma variante rara, o alelo menos frequente deve estar presente em ao menos 1% da população (Vignal *et al.*, 2002).

Os SNPs são geneticamente estáveis e amplamente distribuídos no genoma, sendo o único marcador que dispõe da densidade necessária ao mapeamento de Loci de Características Quantitativas (QTL) (Vignal *et al.*, 2002), já que permite rastrear até mesmo pequenos efeitos genéticos (Van Tassell *et al.*, 2008). A associação entre fenótipo e marcadores é baseada no princípio de que ao menos um SNP está em desequilíbrio de ligação (DL) com genes ou QTLs que afetam a característica de interesse (Van Eenennaam *et al.*, 2007; Hayes e Goddard, 2010).

A resistência à infestação ou a capacidade de desenvolver uma resposta imunológica eficaz é geneticamente determinada, porém o mecanismo de resistência dos bovinos é um fenômeno complexo e ainda pouco compreendido (Siqueira *et al.*, 2016). Além disso, a resistência ao carrapato e a babesiose são de difícil mensuração e é preciso desafiar os animais por infestação natural ou artificial para avaliar a variabilidade das características, o que leva a prejuízos econômicos, limitando a seleção convencional.

Estudos de GWAS identificam regiões com maior efeito sobre a característica e possibilitam maior conhecimento de vias biológicas e processos fisiológicos envolvidos na variação fenotípica das características (Yang *et al.*, 2013; Blasco e Toro, 2014). Em função da dificuldade de selecionar animais pelo método tradicional, e do número limitado estudos de GWAS para níveis de infestação por *R. microplus* (Turner

et al., 2010; Mapholi et al., 2016; Otto et al., 2018) e infecção por *B. bigemina* (Romero, 2021) e *B. bovis* (Cavani et al., 2020a) torna-se primordial a elaboração de trabalhos que utilizam informações genômicas, para aprofundamento nos estudos de resistência ao carrapato e hemoparasitas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a variação genética e realizar estudo de associação genômica ampla (GWAS) para identificar regiões genômicas com efeito sobre o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*, nível de infecção por *Babesia bigemina* e nível de infecção por *Babesia bovis*, em bovinos da raça Angus, buscando auxiliar a seleção de bovinos resistentes.

3.2. Objetivos específicos

Estimar o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*, por meio da contagem em animais da raça Angus sob infestação natural.

Estimar o nível de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, por meio da concentração de cópias de DNA alvo dos parasitas, obtida pela técnica molecular de PCR quantitativa em alíquotas de sangue dos bovinos.

Estimar os parâmetros genéticos para as características de níveis de infestação por *Rhipicephalus microplus* e infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*.

Conduzir estudos de associação genômica ampla buscando identificar regiões do genoma relacionadas com a variação no nível de infestação por *Rhipicephalus microplus* e níveis de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O grupo amostral foi composto por fêmeas da raça Angus, provenientes da Fazenda Santa Helena, pertencente à empresa GAP Genética, e Fazenda Cabanha Azul. Ambas estão localizadas no Rio Grande do Sul (RS), nas cidades de Uruguai

e Quaraí, respectivamente. As cidades fazem parte da microrregião Campanha Ocidental, onde o clima é do tipo Cfa, segundo a classificação climática de Köppen (Kuinchtner e Buriol, 2001). O tipo climático subtropical apresenta temperatura média inferior a 18 °C no mês mais frio e superior a 22 °C no mês mais quente (Wrege *et al.*, 2012).

Em áreas marginais como o RS, o carrapato não desenvolve seu ciclo durante o inverno, devido ao frio intenso, e apresenta três gerações durante o ano. A população de carrapato bovino é menor durante seu primeiro ciclo, que ocorre na primavera, o ápice populacional é atingido durante o terceiro ciclo, no outono (Santos *et al.*, 2019). Em decorrência da oscilação populacional de carrapatos, a área estudada se enquadra em uma região de instabilidade endêmica.

As características avaliadas nos animais foram nível de infestação por *R. microplus*, determinado por meio da contagem de carrapatos, e níveis de infecção por *B. bigemina* (Ibig) e por *B. bovis* (Ibov), determinados pela quantificação do número de cópias de DNA no sangue do animal. Todos os animais empregados nas análises possuíam dados genotípicos, sendo avaliadas 624 (n = 1246), 786 (n = 1312) e 677 (n = 980) fêmeas para Icar, Ibig e Ibov, respectivamente. As contagens de *R. microplus* e coletas de sangue foram realizadas entre os meses de janeiro e maio, época em que há população de carrapatos em áreas de instabilidade endêmica. Os dados foram obtidos em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), unidades Pecuária Sudeste e Pecuária Sul.

4.1. Contagem de carrapato

A mensuração da infestação por *R. microplus* seguiu a metodologia proposta por Utech *et al.* (1978) e Hermans *et al.* (1994), sendo realizada a contagem de fêmeas adultas com tamanho superior a 4,5 mm e inferior a 8 mm, presentes no lado esquerdo dos animais. Dessa forma, a avaliação fenotípica leva em consideração apenas os ectoparasitas que completaram seu ciclo de vida e a resistência ao carrapato é expressa como a capacidade do hospedeiro de eliminá-los antes que completem seu ciclo de vida (Cavani *et al.*, 2020b).

Em cada fazenda, foram realizadas duas contagens de carrapatos em animais naturalmente infestados, com um intervalo de aproximadamente 60 dias entre elas. Na Fazenda Santa Helena, a contagem foi realizada em 355 fêmeas com idade entre 14 e 17 meses na primeira contagem, a qual foi realizada em janeiro e a segunda contagem foi realizada em março, nos mesmos animais (fêmeas com 16 a 19 meses). As contagens da Fazenda Cabanha Azul foram realizadas nos meses de março e maio, em 269 fêmeas com idade de 4 a 7 meses e 6 a 9 meses na primeira e segunda contagem, respectivamente.

4.2. Nível de infecção por *Babesia* spp.

Foram obtidas amostras de sangue da veia caudal de cada animal, em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para quantificação do nível de infecção por *B. bigemina* e *B. bovis*. Na fazenda Santa Helena, as coletas de sangue foram realizadas no mesmo grupo de animais, durante o manejo das duas contagens de carrapato realizadas. A coleta das amostras de sangue obtidas na fazenda Cabanha Azul foi realizada em dois grupos de animais, uma coleta foi realizada durante uma das contagens de carrapato e foram feitas duas outras coletas em um grupo de animais sem informação fenotípica para infestação de carrapatos.

Os tubos com as amostras de sangue foram identificados com o número de cada animal, acondicionados em isopor com gelo e enviados ao Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Pecuária Sudeste, onde ocorreram as etapas de extração de DNA e quantificação do número de cópias de *B. bigemina* e *B. bovis*.

O DNA foi extraído das amostras de sangue dos bovinos utilizando o kit Easy – For Genomic DNA isolation (Invitrogen, Waltham, EUA, catálogo nº. K1800-01). Posteriormente, os níveis de infecção por *B. bigemina* (Ibig) e por *B. bovis* (Ibov) foram estimados por quantificação absoluta do número de cópias de cada DNA alvo por meio da técnica de qPCR.

4.3. Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) para *Babesia Bigemina*

O reagente HOT FIREPol Probe Universal qPCR Mix (Solis BioDyne, Tartu, Estônia) foi utilizado para a quantificação de *B. bigemina*, realizada no termociclador CFX96™ da Bio-Rad. No Quadro 1, estão dispostas as condições de termociclagem.

Quadro 1. Condições de termociclagem adotadas na reação em cadeia da polimerase quantitativa para amplificação de *Babesia bigemina* nas amostras de DNA dos animais Angus.

Etapa do ciclo	Ciclos	Temperatura	Tempo
Ativação enzimática	1	95 °C	10 minutos
Desnaturação	40	95 °C	15 segundos
Anelamento e extensão		60 °C	60 segundos

Para amplificação dos fragmentos de *B. bigemina* presente nas amostras, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores, os quais flanqueiam fragmentos do gene do citocromo B mitocondrial, produzindo *amplicons* com 98 pares de base (Okino *et al.*, 2018) e sondas de hidrólise contendo o *reporter* FAM e *quencher* BQ1 (Black Hole Quencher 1, IDT Integrated and Technologies), expostos no Quadro 2.

Quadro 2. Sequências de oligonucleotídeos iniciadores direto (*Primer F*) e reverso (*Primer R*) e sonda de hidrólise para ensaios de quantificação absoluta do número de cópias de DNA de *Babesia bigemina*.

Sequência (5' – 3')		<i>amplicon</i> (pb)
<i>Primer F</i>	TGTTCCAGGAGATGTTGATTCT	98
Sonda	FAM-ACTGAGGTTAATATGGGTTGGGCACT-BHQ1	
<i>Primer R</i>	GAAACACATTGAGCATGGAAATAAC	

4.4. qPCR para *Babesia bovis*

A quantificação foi realizada no equipamento CFX™ Real-Time PCR Detection Systems da Bio-Rad e para as reações utilizou-se como reagente o kit SsoFast™ EVAGREEN® Supermix (Bio-Rad, Hercules, EUA) que contém todos os reagentes

necessários, exceto o DNA da amostra e os oligonucleotídeos iniciadores da sequência alvo. As condições de termociclagem das reações estão no Quadro 3. Foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores descritos por Buling *et al.* (2007), os quais flanqueiam um fragmento do gene mitocondrial do citocromo B (mt-cyt B) de *B. bovis*, produzindo *amplicons* com 88 pares de base, conforme exposto no Quadro 4.

Quadro 3. Condições de termociclagem adotadas na reação em cadeia da polimerase quantitativa para amplificação de *Babesia bovis* nas amostras de DNA dos animais Angus.

Etapa do ciclo	Ciclos	Temperatura	Tempo
Ativação enzimática	1	98 °C	2 minutos
Desnaturação	44	98 °C	8 segundos
Anelamento e extensão		60 °C	30 segundos
Curva de dissociação	1	65 °C a 95 °C Incremento 0,5 °C	5 segundos/passos

Quadro 4. Sequências utilizadas como oligonucleotídeos iniciadores direto (*Primer F*) e reverso (*Primer R*) para quantificação do número de cópias de DNA de *Babesia bovis*.

Iniciadores	Sequência (5' – 3')	<i>amplicon</i> (pb)
<i>Primer F</i>	TGTTCTGGAAGCGTTGATTC	88
<i>Primer R</i>	TGTTCTGGAAGCGTTGATTC	

4.5. Quantificação absoluta do número de cópias

A quantificação absoluta do número de cópias do DNA alvo foi feita em lotes de 40 amostras biológicas em duplicata, em placas multiplate™ de 96 poços. Os 16 poços restantes foram utilizados para controle positivo, controle negativo e para construção da curva padrão por meio de diluições seriadas de razão constante igual a 10 de DNA sintético gBlocks®, que contém concentrações conhecidas da sequência alvo de *B. bigemina* e *B. bovis*. Para *B. bigemina* e *B. bovis* as diluições utilizadas foram de 10^{-9} a 10^{-3} e 10^{-10} a 10^{-3} , respectivamente. A eficiência da reação (E) (Pfaffl, 2001; Vandesompele *et al.*, 2002) expressa quanto de DNA alvo está sendo produzido

ao final de cada ciclo da reação de amplificação e é definida a partir da curva padrão. A E é determinada por meio da fórmula:

$$E = \left(10^{\left(\frac{-1}{slope}\right)} - 1 \times 100 \right)$$

Em que *slope* é a inclinação da linha derivada da curva padrão.

Os valores das diluições da curva padrão também são utilizados como referência para estimar o número de cópias das sequências alvo, determinando assim o Ibig e Ibov. O número de cópias é determinado pela fórmula descrita por Ke *et al.* (2006):

$$\frac{\text{Número de cópias}}{\mu\text{L}} = \frac{6,022 \times 10^{23} \left(\frac{\text{cópias}}{\text{mol}} \right) \times [] \text{ do produto } \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)}{\text{Massa molecular } \left(\frac{\text{g}}{\mu\text{L}} \right)}$$

Onde:

- $6,022 \times 10^{23}$ refere-se ao número de Avogrado;
- [] do produto: concentração de gBlock® utilizado para sintetizar a curva padrão na diluição determinada como referência;
- Massa molecular: multiplicação do peso molecular médio da molécula do nucleotídeo fita dupla (330Da x 2), pelo tamanho do fragmento do produto utilizado para síntese da curva de calibração (98 pb ou 88 pb).

A linha de *threshold* foi padronizada no valor de 160 unidades de fluorescência relativa (RFU) para *B. bigemina* e 200 RFU para *B. bovis*. É possível quantificar os níveis de Ibig e Ibov baseando-se nos valores de Ciclo de Quantificação (Cq) obtido para cada amostra na reação. O Cq determina o momento em que a amplificação do DNA alvo ultrapassa o limiar de fluorescência pré-estabelecido na fase exponencial. A curva padrão, feita com quantidades conhecidas da sequência alvo, possibilita o cálculo da quantidade de DNA de *Babesia* spp. nas amostras dos animais, devido a relação direta existente entre a quantidade de DNA na curva padrão e nas amostras, uma vez que a amplificação ocorre de forma exponencial.

Todas as amostras foram testadas em duplicata, para *B. bigemina* as amostras que apresentaram desvio padrão do ciclo de quantificação (Cq) > 1,0 foram testadas novamente e amostras com número de copias de DNA alvo (NC) > 0 foram consideradas positivas para infecção. Enquanto para *B. bovis* as amostras foram

testadas novamente ao apresentarem desvio padrão do $C_q > 0,5$ e foram considerados positivos para infecção animais com $NC > 0$ e Temperatura de Melting (T_m) de $77,5 \pm 0,5$.

4.6. Informação genotípica

Foram genotipadas 795 fêmeas com o chip Gene Seek™ Genomic Profiler Bovine, da Illumina®, contendo aproximadamente 150.000 marcadores SNP, 355 animais pertencentes a fazenda Santa Helena e 440 da fazenda Cabanha Azul. O mapa de SNPs utilizado nas análises foi atualizado da referência UMD v3.1 para as coordenadas de cromossomo e posição da nova referência ARS – UCD 1.2.

O controle de qualidade foi realizado no *software* plink v.1.9 (Chang *et al.*, 2015), o critério para exclusão de amostras foi o de *call rate* $\leq 0,90$. Para os SNPs, foram definidos os seguintes limiares: *call rate* $\leq 0,90$, frequência $\leq 0,02$ dos alelos menos frequentes (MAF – do inglês *minor allele frequency*) e $P < 10^{-5}$ no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Também foram excluídos os SNPs presentes em cromossomos não autossômicos e marcadores com designação diferente que foram mapeados na mesma coordenada genômica. Foram excluídos 16.143 marcadores e 25 amostras, totalizando 770 animais com genótipos avaliados, 349 e 421 das fazendas Santa Helena e Cabanha Azul, respectivamente.

A fim de minimizar a perda de marcadores que não foram lidos durante o processo de genotipagem, foi realizada a imputação de genótipos faltantes utilizando o *software* Beagle v. 5.1 (Browning *et al.*, 2018). Após a imputação, foi feito um novo controle de qualidade, empregando os mesmos parâmetros de exclusão do primeiro controle, tanto para SNPs quanto para amostras e não resultou em nenhuma nova exclusão de amostras e marcadores.

4.7. Obtenção de parâmetros genéticos

A manipulação dos dados foi efetuada no *software* R. Devido a distribuição de dados não se aproximar de uma curva normal, para execução das análises estatísticas, tanto os valores de I_{car} , quanto I_{big} e I_{bov} foram transformados para

$\text{Log}_{10}(n+1)$, em que n é o número de carrapatos ou o número de cópias do DNA alvo de *B. bigemina* ou *B. bovis*. Os grupos contemporâneos (GC) foram compostos por animais nascidos na mesma fazenda, ano e estação e pertencentes ao mesmo grupo de manejo e coleta. Foi realizada também a limpeza dos dados, removendo GC contendo três animais ou menos. O arquivo de *pedigree* utilizado continha dados de 2913 animais, com profundidade de até sete gerações.

As análises para obtenção dos componentes de variâncias foram realizadas utilizando o conjunto de programas da família BLUPF90 (Miszta, 2002). O programa RENUMF90 foi executado a fim de renumerar os indivíduos, ajustar o arquivo de *pedigree* e elaborar arquivos de dados para entrada no programa GIBBS2F90. Este último foi utilizado para aplicação de inferência bayesiana em um modelo animal tri-característica com medidas repetidas, descrito a seguir:

$$y = X\beta + Za + Pep + e$$

Em que:

- y : vetor de observações fenotípicas;
- X : matriz de incidência relacionando fenótipos a efeitos fixos;
- β : vetor de efeitos fixos;
- Z : matriz de incidência relacionando animais aos fenótipos;
- a : vetor de efeitos genéticos aditivos diretos de cada animal;
- P : matriz de incidência relacionando fenótipo ao ambiente permanente dos animais;
- ep : vetor de efeito permanente do animal;
- e : vetor de resíduos.

O grupo contemporâneo (fazenda, ano e estação de nascimento, grupo de manejo e coleta) foi incluído no modelo como efeito fixo e para as babésias o modelo incluiu ainda o efeito de placa multiplate em que foi realizada a quantificação dos DNAs alvos. Foi pressuposto que $a \sim MVN(0, \mathbf{G})$, $ep \sim MVN(0, \mathbf{P})$ e $e \sim MVN(0, \mathbf{R})$, onde $\mathbf{G} = \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}_0$, $\mathbf{P} = \mathbf{I} \otimes \mathbf{P}_0$, $\mathbf{R} = \mathbf{I} \otimes \mathbf{R}_0$. Em que:

$$\mathbf{G}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{a1}^2 & \sigma_{a21} & \sigma_{a31} \\ \sigma_{a21} & \sigma_{a2}^2 & \sigma_{a32} \\ \sigma_{a31} & \sigma_{a32} & \sigma_{a3}^2 \end{bmatrix}; \mathbf{P}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{ep1}^2 & \sigma_{ep21} & \sigma_{ep31} \\ \sigma_{ep21} & \sigma_{ep2}^2 & \sigma_{ep32} \\ \sigma_{ep31} & \sigma_{ep32} & \sigma_{ep3}^2 \end{bmatrix}; \mathbf{R}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{e1}^2 & \sigma_{e21} & \sigma_{e31} \\ \sigma_{e21} & \sigma_{e2}^2 & \sigma_{e32} \\ \sigma_{e31} & \sigma_{e32} & \sigma_{e3}^2 \end{bmatrix}$$

Foram geradas 6,5 milhões de amostras, sendo descartadas as 2000 iniciais e coletadas uma a cada 50 iterações, totalizando 129960 amostras. A convergência das cadeias foi verificada por meio da inspeção visual dos gráficos de traços e da aplicação do teste de Geweke, usando o pacote coda do *software* R (Plummer *et al.*, 2006).

Optou-se por descartar mais nove em cada dez amostras, gerando um intervalo amostral (“*skipparameter*”) total de 500. Com isso, foram utilizadas para as inferências um total de 12996 amostras. Obteve-se então as médias, erros de Monte Carlo e intervalos de maior densidade dos componentes de (co)variância e dos parâmetros genéticos. O tamanho efetivo do conjunto foi estimado em 10074,31 amostras, utilizando o pacote mcmcse (Vats *et al.*, 2015).

4.8. Estudo de associação genômica ampla

O GWAS foi conduzido em análises univariadas utilizando o método do melhor preditor linear não viesado genômico de passo único ponderado (WssGBLUP), proposto por Wang *et al.* (2012) por meio do seguinte modelo:

$$y = Xb + Za + Pep + e$$

Em que:

- y é a variável resposta lcar, lbig ou lbov;
- b é o vetor de efeitos fixos (GC para lcar e GC + placa para lbig e lbov);
- a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos;
- ep é o vetor de efeitos de ambiente permanente do animal;
- e é o vetor de efeitos residuais;
- X, Z e P são as matrizes de incidência de b, a e ep, respectivamente.

Partiu-se do pressuposto que $a \sim MVN(0, H\sigma_a^2)$, $p \sim MVN(0, I\sigma_{ep}^2)$ e $e \sim MVN(0, I\sigma_e^2)$, onde σ_a^2 , σ_{ep}^2 e σ_e^2 correspondem às variâncias genética aditiva, ambiente permanente e residual, respectivamente. A matriz H combina informações de *pedigree* e genômicas e a inversa da Matriz H (Aguilar *et al.*, 2010), necessária para modelos mistos, pode ser descrita por:

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

Em que $\mathbf{A}$ é a matriz de parentesco, formada com base no pedigree de todos os animais; $\mathbf{A}_{22}$ é a matriz de coeficientes de parentesco entre indivíduos genotipados; e $\mathbf{G}$ é a matriz de relacionamento genômico que foi obtida de acordo com VanRaden (2008):

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

Onde:

- $\mathbf{Z}$ é uma matriz de conteúdo genético, ajustada para frequências alélicas (0, 1 ou 2 para AA, AB e BB, respectivamente);
- M é o número de SNPs;
- p_i é a menor frequência alélica do i -ésimo SNP.

Programas da família BLUPF90 foram utilizados para obtenção dos valores genéticos preditos para os animais e os efeitos dos SNPs, diversos programas são utilizados para aplicar o WssGBLUP. Foi utilizado o programa RENUMF90 para preparação do conjunto de dados e, posteriormente, o PREGSF90, em que foi realizado um controle de qualidade e montadas as matrizes $\mathbf{G}^{-1}$ e $\mathbf{A}_{22}^{-1}$, necessárias para obtenção da matriz $\mathbf{H}^{-1}$.

O programa BLUF90 foi utilizado para obtenção das soluções dos valores genéticos dos animais e o POSTGSF90 para obtenção das soluções dos efeitos dos SNPs a partir dos valores genéticos predito dos animais genotipados (GEBV), conforme proposto por Wang *et al.* (2012):

$$\hat{\mathbf{u}}_{(t)} = \lambda \mathbf{D}_{(t)} \mathbf{Z}' \mathbf{G}_{(t)}^{*-1} \hat{\mathbf{a}}_g$$

Em que $\hat{\mathbf{u}}$ é o vetor dos efeitos dos SNPs; $\hat{\mathbf{a}}_g$ é o valor GEBV; $\mathbf{Z}'$ é a matriz transposta que relaciona os genótipos de cada locus; $\mathbf{G}^{*-1}$ é a inversa da matriz de relacionamento genômico. Na primeira iteração, $\mathbf{D}$ foi equivalente a uma matriz identidade, ou seja, os SNPs foram considerados igualmente importantes para a característica. Ao final da primeira iteração, juntamente com as soluções dos SNPs, são geradas as variâncias dessas soluções, as quais foram utilizadas como ponderadores, para diferenciar os SNPs de acordo com a variância que esses explicam e o $\hat{\mathbf{a}}_g$ foi computado novamente. O mesmo foi feito da iteração dois para a

três e, portanto, foi obtido considerando três iterações. Os dois primeiros programas são necessários apenas na primeira iteração, nas iterações dois e três foram executados apenas o BLUPF90 e o POSTGSF90.

Foram consideradas as variâncias de janelas deslizantes contendo dez SNPs adjacentes. Janelas sem sobreposição foram utilizadas para construir os *Manhattan plots*. Buscando identificar as regiões do genoma que explicaram a maior proporção da variância genética aditiva das características, foram consideradas as 15 janelas de maior variação, sem sobreposição de SNPs.

4.9. Anotação de genes e mapeamento de QTLs

A fim de complementar os resultados do GWAS, foi realizada análise funcional nas 15 janelas de maior variação para cada característica. Para cada janela, foram analisadas regiões de 500kb antes e depois da posição do primeiro e último SNP da janela, respectivamente. Para localizar genes candidatos as regiões foram analisadas por meio da ferramenta Biomart com base no banco de dados Ensembl Genes 104, utilizando o genoma bovino ARS-UCD1.2 (Kinsella *et al.*, 2011). Para verificar se as regiões das janelas de maior variância eram coincidentes com locus de característica quantitativa (*Quantitative Trait Loci* – QTLs), foi utilizado o CattleQTLdb v.45 (Hu *et al.*, 2013).

O pacote GALLO (Fonseca *et al.*, 2020) foi utilizado para visualização gráfica da porcentagem dos QTLs mapeados em cada uma das classes de características (“*Exterior*”, “*Health*”, “*Meat and Cascass*”, “*Milk*”, “*Production*” E “*Reproduction*”) determinadas pelo CattleQTLdb. O software DAVID (Huang *et al.*, 2009) foi usado considerando o banco de dados biológicos *Gene Ontology Consortium* (GO) para agrupar os genes candidatos considerando a similaridade em termos associados com Componente Celular (CC), Função Molecular (FM) e Processo Biológico (PB), verificar a relação dos *clusters* com as características estudadas e determinar se há enriquecimento funcional ($p < 0,05$), ou seja, se os termos estão relacionados com os genes candidatos mais do que esperado ao acaso. O *plug-in* ClueGo v2.5.8 do software Cytoscape v3.9.0 (Shannon *et al.*, 2003; Bindea *et al.*, 2009; Bindea *et al.*,

2013) foi utilizado para realizar análise funcional agrupando genes associados a termos GO relacionados ao sistema imune.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos níveis de infestação e infecção variaram de uma colheita para outra, mas não necessariamente no mesmo sentido (Tabela 1). A média da primeira colheita foi maior para Ibov, enquanto Ibig e Icar obtiveram médias menores na colheita um, em relação à colheita dois.

Tabela 1. Estatísticas descritivas dos níveis de infestação por *Rhipicephalus microplus*, infecção por *Babesia bigemina* e infecção por *Babesia bovis*, transformados em $\text{Log}_{10}(n+1)$.

	Colheita	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
<i>R. microplus</i>	1	624	1,610	0,276	0,301	2,272
	2	622	1,661	0,560	0,000	2,487
	1 e 2	1246	1,636	0,442	0,000	2,487
<i>B. bigemina</i>	1	596	2,300	0,807	0,000	4,426
	2	384	2,475	0,722	0,537	4,366
	1 e 2	980	2,369	0,779	0,000	4,426
<i>B. bovis</i>	1	786	3,087	0,980	0,000	6,524
	2	484	2,144	0,564	0,115	3,97
	1 e 2	1312	2,709	0,957	0,000	6,524

Fatores ambientais afetam a população de carrapatos presentes nas pastagens, o que se torna ainda mais relevante na área do estudo, caracterizada como sendo de instabilidade endêmica. Quando o ambiente é propício ao carrapato, a população vai aumentando gradativamente, com a primeira geração, na primavera, apresentando menor população e com seu ápice na terceira geração, que ocorre no outono (Santos *et al.*, 2019). Portanto, apesar da área de estudo ser de instabilidade endêmica, as contagens e coletas foram realizadas nos meses em que não só há a presença do carrapato como ocorrem as maiores infestações por carrapato e risco de surtos de TPB.

Todos os animais apresentaram infestação por carrapato em ambas as contagens, para *B. bigemina* as taxas de infecção foram de 98,5% (nove animais negativos) na primeira coleta e 100% na segunda, enquanto a taxa de infecção para *B. bovis* foi de 99,75% (dois animais negativos) e 100% nas coletas um e dois, respectivamente. Bilhassi *et al.* (2014) ao quantificarem o DNA de *B. bovis* em animais Nelore, Nelore x Angus e Angus, constataram taxa de infecção de 96%, 98% e 100%, respectivamente. Giglioti *et al.* (2016) detectaram taxa de 100% de infecção por *B. bovis* e 98% por *B. bigemina*, em animais da raça Angus. Posto isso, e considerando os meses em que foram obtidos os fenótipos, já era esperado que a taxa de infestação e infecção nos animais fosse alta, visto que, comparado com animais zebuínos e cruzados, taurinos são mais suscetíveis ao carrapato e babesiose (Jonsson *et al.*, 2008).

5.1. Parâmetros genéticos

O desdobramento da variância fenotípica permite estimar a proporção de variação correspondente a fatores genéticos aditivos, efeitos permanentes de ambiente e o ambiente temporário (que atua sobre cada medida em particular).

No melhoramento genético, o componente mais importante da variância fenotípica é a variância genética aditiva, uma vez que essa variação ocorre em função da soma dos efeitos independentes dos genes. Portanto, trata-se da variância dos valores genéticos da população. Todas as estimativas das variâncias genéticas aditivas apresentaram valores baixos (Tabela 2).

Tabela 2. Médias e intervalos de 95% de maior densidade das variâncias genética aditiva (σ^2_a), de ambiente permanente (σ^2_{ep}) e fenotípica (σ^2_p), para os níveis de infestação por *Rhipicephalus microplus* (Icar), infecção por *Babesia bigemina* (Ibig) e infecção por *Babesia bovis* (Ibov).

	σ^2_a	σ^2_{ep}	σ^2_p
Icar	0,0103 (0,0054; 0,0153)	0,0041 (0,0008; 0,0080)	0,0608 (0,0560; 0,0662)
Ibig	0,0309 (0,0021; 0,0662)	0,0259 (0,0000; 0,0640)	0,4734 (0,4333; 0,5236)
Ibov	0,0274 (0,0031; 0,0528)	0,0219 (0,0005; 0,0491)	0,3925 (0,3617; 0,4267)

A herdabilidade (h^2) é um parâmetro genético que expressa o quanto a variabilidade da característica é de origem genética, pois trata-se da proporção da variância fenotípica que pode ser atribuída a variância genética aditiva (Eler, 2017), permitindo comparar a importância de fatores genéticos e não genéticos, representando um parâmetro essencial para prever a resposta à seleção da característica de interesse (Pereira, 2008). Os valores das estimativas de h^2 para todas as características apresentaram de baixa magnitude (Tabela 3), indicando que grande parte da superioridade ou inferioridade dos animais para infestação por carrapato ou infecção por babesiose bovina será devido a efeitos que não serão transmitidos à progênie.

Tabela 3. Médias e intervalo de 95% de maior densidade da herdabilidade e repetibilidade para os níveis de infestação por *Rhipicephalus microplus* (Icar), infecção por *Babesia bigemina* (Ibig) e infecção por *Babesia bovis* (Ibov)

	Herdabilidade	Repetibilidade
Icar	0,1692 (0,0894; 0,2417)	0,2372 (0,1662; 0,3038)
Ibig	0,0651 (0,0047; 0,1383)	0,1197 (0,0305; 0,2039)
Ibov	0,0696 (0,0098; 0,1328)	0,1252 (0,0484; 0,2108)

A Icar apresentou herdabilidade de baixa magnitude (0,1692). Na literatura, os valores de h^2 encontrados para Icar são variáveis. Esta variação pode estar ligada a

diversos fatores como: intensidade do desafio natural, diferença de grupos genéticos, estado imunológico, estrutura de dados e modelo de desenvolvimento da análise (Porto Neto *et al.* 2011; Ayres, 2012). Maiores valores de h^2 , que contrastam com os deste estudo, foram obtidos por Burrow (2001) e Turner *et al.* (2010). Ambos os estudos avaliaram bovinos naturalmente infestados e estimaram herdabilidades de 0,42 e 0,37, respectivamente.

Ao dividir os animais em grupos de acordo com a contagem média de carrapatos, Budeli *et al.* (2009) observaram uma relação entre o nível de infestação e os valores de h^2 , a qual aumentou de acordo com a contagem média, se estabilizando quando a contagem era ≥ 25 e < 31 , em que o valor da estimativa de h^2 foi o mesmo obtido neste estudo (0,17). Em nosso estudo, o número médio de contagem de carrapatos ficou próximo de 45, para o grupo com média de contagem ≥ 35 os autores encontraram o menor valor de h^2 relatado na literatura (0,03), associando o resultado à baixa variância genética do grupo (0,0129) a qual foi maior que a obtida neste estudo. A baixa contagem média de carrapatos (≥ 5) também resulta em uma baixa estimativa de h^2 (0,05). Prayaga e Henshall (2005) também relacionaram o valor de h^2 obtido ao baixo desafio do carrapato. Além da relação com os valores de h^2 , quando as contagens são realizadas em época de baixa infestação, não é possível afirmar se os animais são resistentes ou se o desafio é pequeno (Gulias Gomes *et al.*, 2010).

Biegelmeyer *et al.* (2017) e Cavani *et al.* (2020a) avaliaram animais Hereford e Braford, provenientes da mesma região do presente estudo, estimando valores de h^2 próximo (0,19) e de menor magnitude (0,13) que o obtido neste trabalho. Além das diferenças populacionais, os valores distintos obtidos podem ser explicados por diferentes relacionamentos de matriz utilizados no modelo, visto que o uso de matriz de parentesco (matriz A) pode resultar em maiores valores de variância genética em comparação com o uso da matriz H (Cavani *et al.* 2020a).

Ainda que de baixa magnitude, existe a possibilidade de selecionar animais resistentes utilizando Icar, por meio da contagem de carrapatos, para prever o valor genético dos animais, entretanto o progresso genético será lento. De acordo com Cardoso *et al.* (2006), a baixa herdabilidade para resistência ao carrapato é um fator limitante para a seleção tradicional, fortalecendo, assim, a necessidade de estudos

utilizando informações genômicas, visando maior entendimento da característica e possibilitando a seleção com maior viabilidade e progresso genético.

Estudos utilizando qPCR para quantificar o número de cópias de *Babesia* spp. visando determinar Ibig e Ibov e estimar parâmetros genéticos são recentes e foram encontrados poucos trabalhos na literatura para comparação dos valores obtidos. As características Ibig e Ibov apresentaram valores de baixa magnitude, de 0,0651 e 0,0696, respectivamente. Estes foram similares aos obtidos por Romero (2021), que estimou h^2 de 0,09 para Ibig, nas raças Hereford e Braford, e os valores para Ibov variaram de 0,077 a 0,095 (Cavani *et al.*, 2020a e Cavani *et al.*, 2020b), corroborando com os obtidos no estudo.

Além dos valores observados na literatura, as variâncias genéticas aditivas das características Ibig e Ibov foram muito próximas de zero e os valores de variância fenotípica consideravelmente maiores (Tabela 2). Os baixos valores de herdabilidade evidenciam que o fenótipo não será um bom indicativo do genótipo. No entanto, a existência de variabilidade genética indica que podem ser obtidas respostas a seleção (Cavani *et al.* 2020a).

A repetibilidade (t) é um parâmetro aplicado a medidas repetidas do animal, correlacionando tais medidas. Portanto, expressa a similaridade entre os desempenhos do animal para determinada característica em diferentes períodos de sua vida (Eler, 2017). Esse parâmetro está relacionado com a acurácia de mensurações múltiplas e é possível reduzir a variância causada por efeitos de ambiente temporário, reduzindo assim a variância fenotípica, com o aumento do número de informações do mesmo animal (Pereira, 2008).

Na Tabela 3, estão representados os valores de repetibilidade para todas as características. A t para Icar apresentou valor moderado (0,24), diversos estudos relataram valores semelhantes (Fraga *et al.*, 2003; Biegelmeyer *et al.*, 2017; Cavani *et al.*, 2020a). Os intervalos de maior densidade para a repetibilidade de todas as características foram amplos (Tabela 3), indicando que os valores podem variar consideravelmente em outras estimativas da repetibilidade para as mesmas características.

Valores de alta magnitude foram descritos em condições ambientais controladas, como mostrado nos estudos de Silva *et al.* (2007) e Maiorano *et al.*

(2018), os quais relataram repetibilidade de 0,65 e 0,62 para Icar, respectivamente. Esses dois estudos foram realizados em estação experimental, com animais infestados artificialmente a cada 14 dias e a divergência com o valor obtido neste estudo demonstra que infestações naturais e longos períodos entre contagens podem reduzir a repetibilidade, em razão de alterações nos efeitos de ambiente temporário, como, por exemplo, animais, clima e pastagens.

Ao avaliarem animais Angus, Giglioti *et al.* (2016) relataram repetibilidade para Icar inferior (0,05) ao valor obtido neste estudo e atribuíram a baixa repetibilidade à realização de apenas duas contagens, com intervalos relativamente longo entre elas, indicando que a variação ambiental em cada contagem foi mais importante que a capacidade do animal em manter o nível de infestação.

Neste trabalho, também foram feitas duas contagens e com intervalo semelhante ao estudo de Giglioti *et al.* (2016), porém nenhuma delas foi realizada durante o inverno, como no referido estudo. A fase de vida livre do carrapato sofre alterações com mudanças climáticas, a maior repetibilidade encontrada para Icar neste trabalho pode ser atribuída ao fato de não ter ocorrido grande oscilação na população de carrapatos entre contagens, pois elas foram realizadas no verão e outono.

Um estudo feito por Giglioti *et al.* (2018a) estimou a repetibilidade para Icar, Ibig e Ibov em fêmeas Canchim por 25 meses, dividindo as avaliações em quatro fases de acordo com a idade dos animais. A repetibilidade para Icar variou de 0,06 a 0,33, sendo semelhantes a este estudo os valores obtidos nas fases dois (0,20) e três (0,18), quando os animais tinham idade de 14 a 25 meses. Os valores de t para Ibig variaram 0,04 a 0,32, obtendo na fase quatro o mesmo valor estimado neste estudo (0,12). Para Ibov os valores foram de 0,17 a 0,35 apresentando magnitudes expressivamente superiores a t obtida nesse estudo, nas fases dois e quatro.

Os baixos valores de repetibilidade encontrados no estudo evidenciam que um registro da característica não é um bom indicativo para os próximos registros, sugerindo que as características variam muito de uma coleta para a outra. Sendo assim, os valores dependem mais de fatores ambientais, relacionados a cada coleta, do que de fatores intrínsecos do animal.

Os valores das correlações genéticas e fenotípicas entre as características Icar, Ibig e Ibov estão apresentados na Tabela 4. A correlação genética entre Ibig e Ibov foi alta e negativa, sugerindo que não são os mesmos fatores genéticos que atuam na variação dos níveis de Ibig e Ibov. Além disso, não há valores positivos no intervalo de maior densidade, reforçando que a correlação entre essas características é negativa e os valores genéticos para os níveis de infecção variam inversamente. O estudo de Romero (2021) obteve correlação genética alta e positiva para Ibig e Ibov, divergindo do obtido neste trabalho. No entanto, o intervalo de maior densidade relatado pela autora inclui valores negativos.

Tabela 4. Médias e intervalo de maior densidade para as correlações genética (acima da diagonal) e fenotípica (abaixo da diagonal) entre as características nível de infecção por *Babesia bigemina* (Ibig), nível de infecção por *Babesia bovis* (Ibov) e contagem de carrapatos (Icar).

	Ibig	Ibov	Icar
Ibig	---	-0,692	0,059
	---	(-1,000; -0,127)	(-0,517; 0,708)
Ibov	-0,100	---	-0,076
	(-0,170; -0,036)	---	(-0,666; 0,575)
Icar	0,009	-0,017	---
	(-0,057; 0,076)	(-0,085; 0,046)	---

O controle da parasitemia em infecções por babesiose bovina é dependente do equilíbrio entre células T CD4+ e T CD8+, as quais ativam macrófagos esplênicos (Brown *et al.*, 2006; Rauf *et al.*, 2020), sugerindo a existência de mecanismos de defesa em comum agindo nos níveis de infecção. Entretanto, os protozoários são transmitidos pelo carrapato em fases de vida diferentes e existem diferenças relevantes na ação dos hemoparasitas no hospedeiro vertebrado e sintomatologia, isso poderia explicar a correlação negativa obtida neste estudo. O protozoário de *B. bovis* altera a arquitetura das hemácias infectadas, aumentando a superfície de contato dos eritrócitos, facilitando sua citoadesão e acúmulo nos capilares. Esse processo é mediado por genes envolvidos na variação antigênica, para evitar a pressão imunológica causada pelo bovino. Ainda que os protozoários de *B. bigemina* expressem genes homólogos aos protozoários de *B. bovis*, não há relatos de que *B.*

bigemina cause modificação das hemácias e seu sequestro na microvasculatura, causando diferença na sintomatologia das infecções (Suarez *et al.*, 2019).

Os diferentes resultados obtidos em diversos testes imunológicos também corroboram com o valor negativo deste estudo, visto que há relatos de detecção de anticorpos homólogos por mais tempo após infecção por *B. bovis*, reatividade cruzada de anticorpos restrita ao período de recuperação da doença, reatividade sorológica cruzada bidirecional, antissoro de *B. bigemina* reagindo apenas com esse parasita e antissoro de *B. bovis* reagindo às duas espécies, entre outros (Mahoney, 1967; Smith *et al.*, 1980; Wright *et al.*, 1987). Murguía *et al.* (1999) evidenciaram resposta imune específica, indicando imunidade cruzada insuficiente conferida por cepas de *B. bigemina* e *B. bovis*. Existe uma maior compreensão da resposta imunológica à infecção por *B. bovis*, porém permanecem desconhecidas as respostas à infecção por *B. bigemina*. Há uma lacuna no entendimento de como o sistema imune reage à infecção por babesiose bovina, com animais apresentando a doença de forma aguda, enquanto outros apresentam infecção persistente sem sintomas clínicos (Suarez *et al.*, 2019).

A correlação fenotípica entre os níveis de infecção por *Babesia* spp. também foi negativa e o zero não estava incluído no intervalo de maior densidade (Tabela 4). Ainda que de baixa magnitude, o valor fortalece uma associação inversa entre as características. Portanto, as correlações genética e fenotípica obtidas permitem indicar que animais com maiores níveis de infecção por *B. bigemina* apresentam menores níveis de infecção por *B. bovis* e o contrário também é verdadeiro. Estudos relataram baixos valores de correlação fenotípica entre os protozoários (Giglioti *et al.* 2016; Giglioti *et al.* 2018a). Entretanto, Giglioti *et al.* (2020) obtiveram altos valores de correlação fenotípica entre *B. bigemina* e *B. bovis*, ao avaliarem dois sistemas produtivos diferentes em gado de leite. De acordo com os autores, o grupo genético e o sistema de produção podem ter influenciado os altos valores de correlação fenotípica.

As correlações genéticas e fenotípicas de Icar com Ibig e Ibov apresentaram valores positivos e negativos nos limites inferior e superior de maior densidade, com as correlações variando entre equivalentes e inversas, no entanto todas foram muito próximas de zero (Tabela 4). Giglioti *et al.* (2018a) e Maiorano *et al.* (2018) relataram

valores de correlação entre carrapato e níveis de infecção por babesias próximas de zero. Os maiores valores encontrados na literatura para correlação genética entre carrapato e lbig e carrapato e lbov são 0,24 (Romero, 2021) e 0,20 (Cavani *et al.*, 2020b), respectivamente e, ainda assim, são de baixa magnitude.

Os valores obtidos neste estudo indicam que não há relação entre o nível de infestação do animal com seu nível de parasitemia. De acordo com Bock *et al.* (2004), um único carrapato infectado é suficiente para transmissão de babesiose ao hospedeiro. Além disso, existem relatos de alta correlação nos níveis de DNA de babesias entre bovinos e carrapatos, sugerindo que o nível de infecção nos bovinos é dependente ou determina o nível de parasitemia no carrapato (Giglioti *et al.*, 2018b). Portanto, os valores de correlação corroboram com o que foi exposto e sugerem que a seleção para uma característica não afetaria significativamente a seleção para a outra.

De acordo com Pereira (2008), normalmente os efeitos de ambiente e genéticos atuam no mesmo sentido, assim, a correlação fenotípica apresenta mesmo sentido e valor relativamente próximo a correlação genética. No entanto, o autor afirma que quando duas características apresentam herdabilidades muito diferentes ou quando efeitos de ambiente atuam em sentidos diferentes (ou são diferentes) para cada uma delas, é possível que o valor encontrado para a correlação genética seja maior que o obtido para correlação fenotípica, como ocorreu no caso deste estudo, ou até que as duas correlações tenham sinais diferentes.

5.2. GWAS

Após a realização das três iterações, foram identificadas as 15 janelas de maior contribuição à variabilidade genética de cada característica. Para o nível de infestação por *R. microplus*, as janelas com maior variação estavam distribuídas nos cromossomos BTA 1, 4, 5, 6, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 19, 20 e 26 e explicaram 30,84% da variação genética. Na figura 1, encontra-se o *Manhattan plot* gerado para o nível de infestação por carrapato.

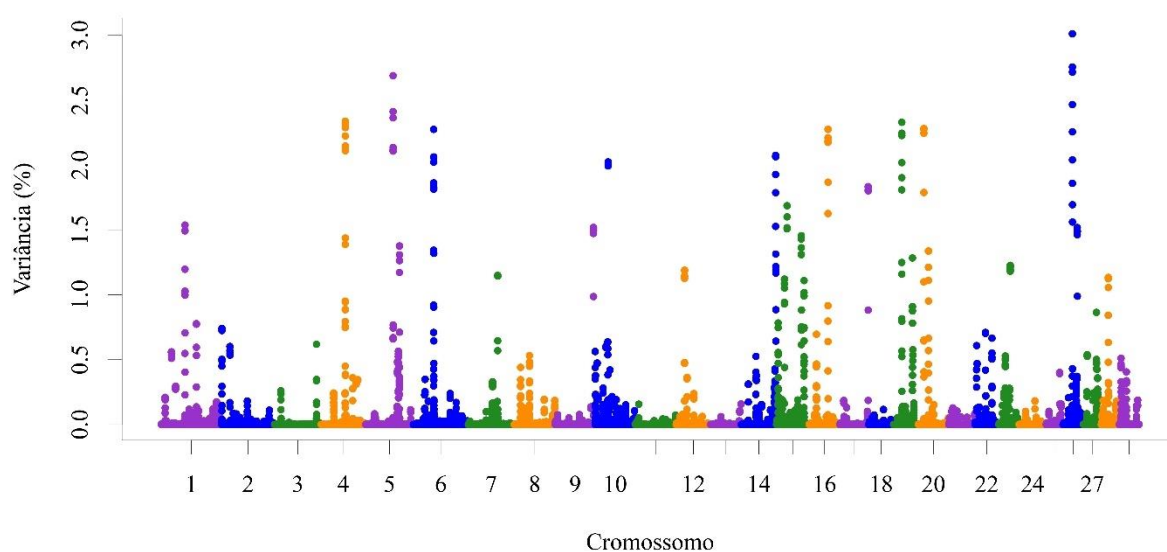


Figura 1. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*.

As principais janelas do Ibig estavam distribuídas nos cromossomos BTA 1, 3, 4, 8, 9, 11, 16, 17, 18, 19, 22 e 25 (Figura 2), explicando 54,30% da variação genética aditiva. Já para Ibov, as janelas explicaram 47,64% da variação e estavam dispostas nos cromossomos BTA 1, 2, 5, 8, 11, 14, 18, 20, 23, 25 e 26 (Figura 3).

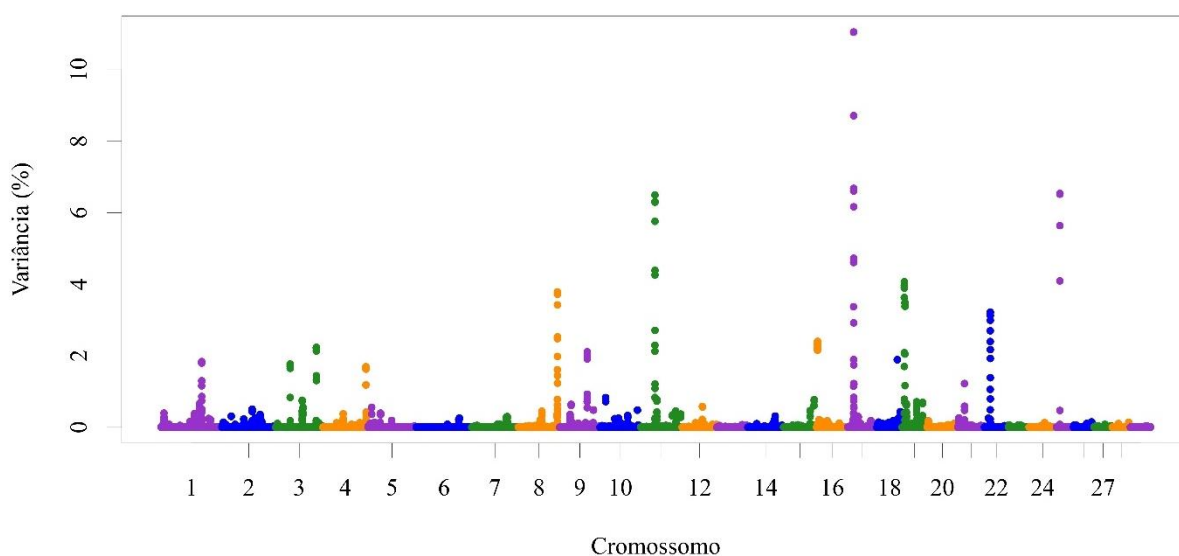


Figura 2. *Manhattan plot* da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infecção por *Babesia bigemina*.

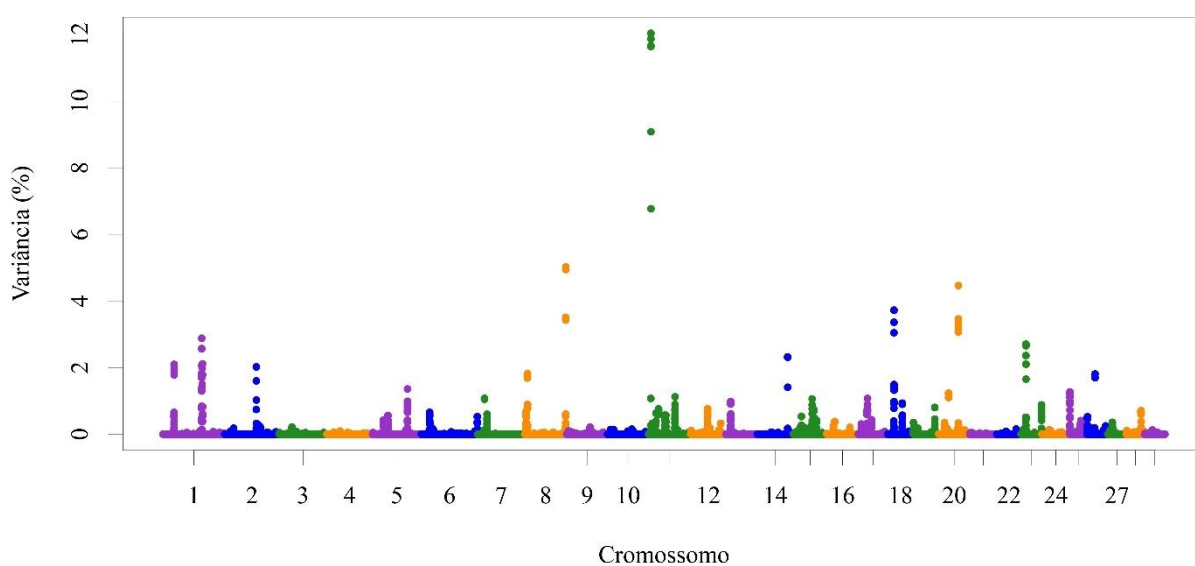


Figura 3. *Manhattan plot* da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para o nível de infecção por *Babesia bovis*.

Ao analisar os resultados de GWAS e os *Manhattan plots*, além de inferir as diferentes regiões que influenciam na expressão do fenótipo, foi possível observar diversas regiões de pequeno efeito, evidenciando o caráter poligênico de todas as características estudadas. As posições e variâncias explicadas por cada uma das

janelas principais para Icar, Ibig e Ibov e os genes pertencentes a cada janela, estão dispostos nas Tabelas Suplementares 1, 2 e 3, respectivamente.

5.3. Anotação de genes e QTLs

Ao avaliar as regiões de maior variância genética no Ensembl Gene 104 e no CattleQTLdb, foram obtidos 143 genes codificadores de proteína e 610 QTLs, relacionados à 191 características, para Icar. Para Ibig e Ibov, foram identificados cem genes e 432 QTLs (140 características) e 148 genes e 474 QTLs (163 características), respectivamente. No material suplementar, estão as tabelas contendo as informações dos genes identificados.

Para as três características foram identificados QTLs anteriormente associados com características pertencentes às seis classes de QTLs (“*Exterior*”, “*Health*”, “*Meat and Carcass*”, “*Milk*”, “*Production*” e “*Reproduction*”) definidas pelo CattleQTLdb, os QTLs relacionados com as características de Icar, Ibig e Ibov estão envolvidos com outras características de interesse econômico e é possível observar a representatividade e diversidade dos QTLs mapeados. Os gráficos contendo as proporções de QTLs em cada uma das classes estão dispostos a seguir.

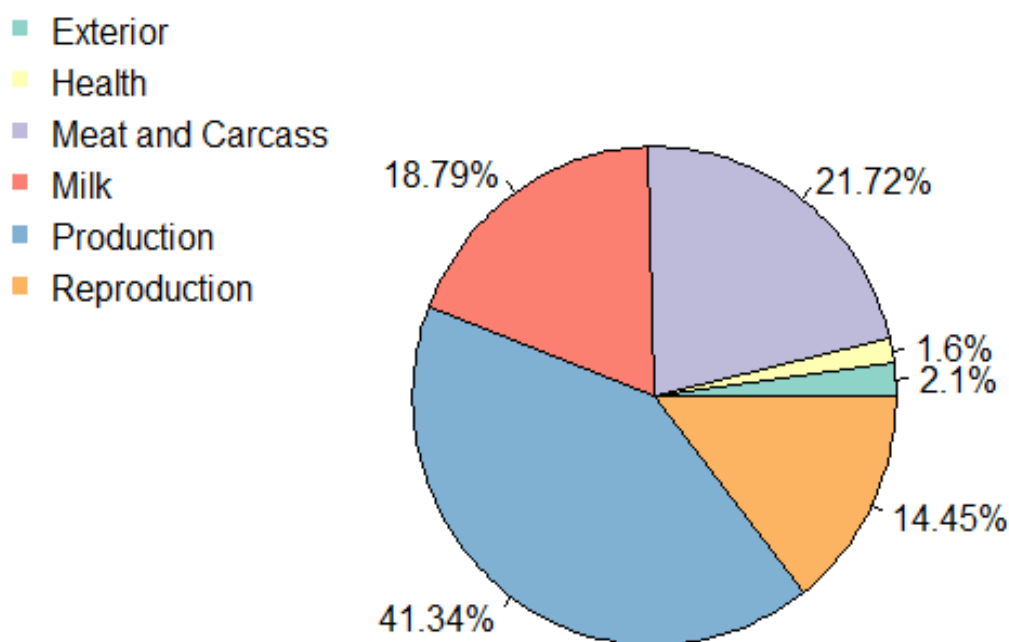


Figura 4. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*.

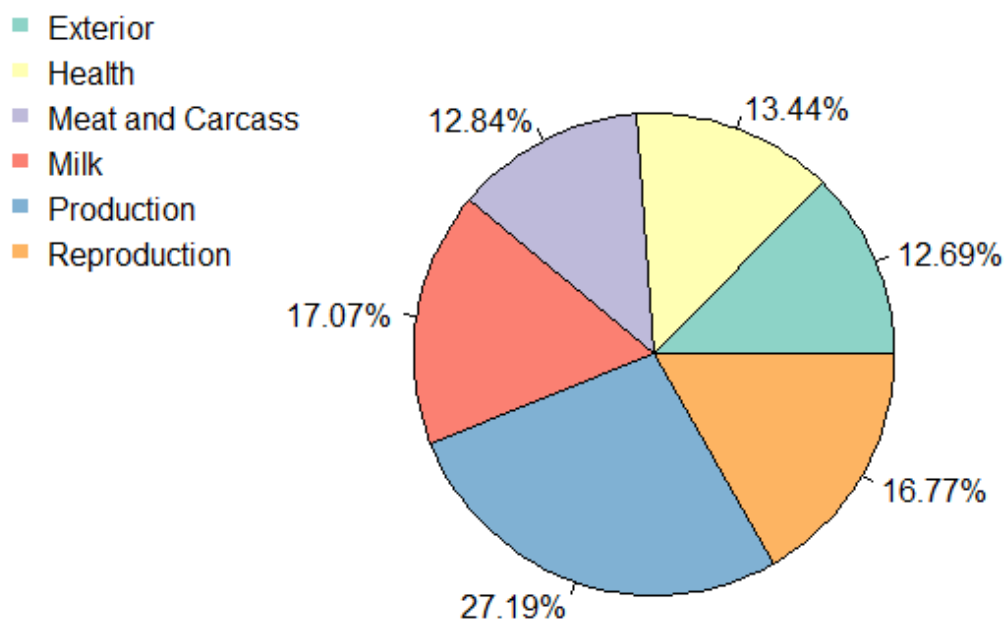


Figura 5. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infecção por *Babesia bigemina*.

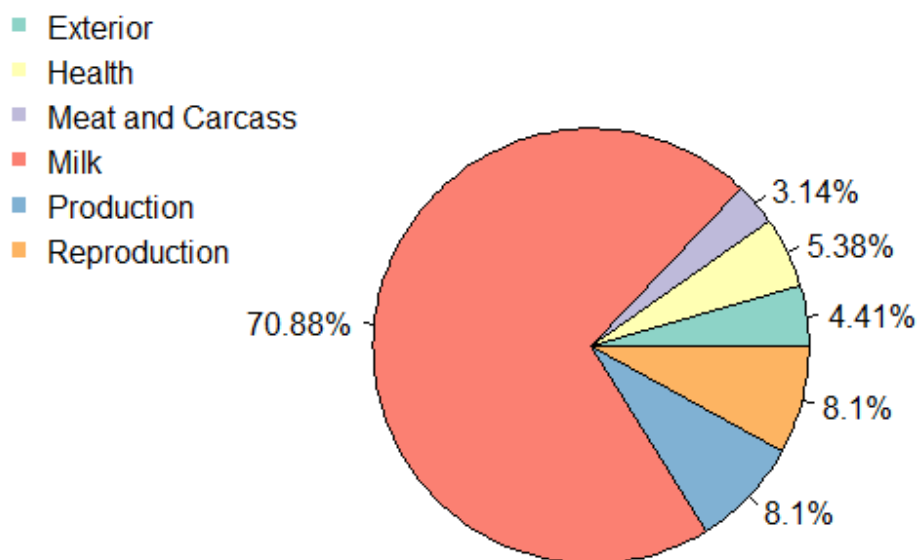


Figura 6. Porcentagem das classes de QTLs presentes nas regiões anotadas para o nível de infecção por *Babesia bovis*.

[illegible]

A hematopoiese é o processo de originação de células imunes a partir de células-tronco, genes relacionados a linhagens de células hematopoiéticas são altamente expressos em bovinos resistentes (Piper *et al.*, 2009; Robbertse *et al.*,

2017). Na Figura 7, é possível observar diversos genes deste estudo relacionados com o processo biológico de hematopoiese (*ADAM8*, *BCR*, *CCR6*, *MB*, *MEIS2* e *RBFOX2*) e sua regulação (*ADAM8*, *MEIS2* e *RBFOX*). O gene *TRIL* foi identificado em mamíferos como componente funcional da sinalização de *TLR4* e *TLR3*. Receptores Toll like (TLRs) são uma importante classe de genes receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) os quais identificam padrões moleculares associados a patógenos (Pietreti *et al.*, 2013). Zhao *et al.* (2013) relataram que a mutação do gene *TLR4* pode afetar o nível de histamina no sangue e ativar reações imunológicas após a infestação por carrapatos. Além disso, o gene *TRIL* está envolvido em processos biológicos de regulação da produção de citocina envolvida na resposta imune e regulação positiva da resposta inata (Figura 7). Em um estudo de perfil imunológico de bovinos, Piper *et al.* (2010) observaram vias de interação de citocina e seus receptores altamente expressas em animais resistentes e concluíram que animais suscetíveis apresentam perfil celular compatível com uma resposta inata do tipo inflamatória.

A hematofagia do carrapato gera respostas imunes inatas e adaptativas complexas, envolvendo células apresentadoras de antígenos, células T e B, anticorpos, citocinas, sistema complemento, basófilos, eosinófilos e diversas outras moléculas (Brossard e Wikel, 2004; Siqueira *et al.*, 2016). A imunidade inata está relacionada com características genéticas, idade e resposta imune celular do hospedeiro (Bock *et al.*, 2004) e é composta por células fagocitárias, células exterminadoras naturais (NK) e citocinas, sendo essa a primeira linha de defesa, mas sua resposta não é específica (Ulevitch *et al.*, 2004).

O gene *ADAM8* está associado com a regulação positiva de eosinófilos e sua migração dentro e entre órgãos (Figura 7). A ativação e aumento na frequência de eosinófilos transloca histaminas dos mastócitos e enzimas lisossomais para a lesão, prejudicando a alimentação e fixação do carrapato. Além disso, os eosinófilos ativam a degranulação de basófilos (Schlenger *et al.*, 1981; Marufu *et al.*, 2014; Wen e Rothenberg, 2016). Estes contêm grânulos ricos em histamina, as quais inibem a fixação dos carrapatos por meio de hipersensibilidade cutânea, portanto a histamina é fundamental para expressão do comportamento de coceira e autolimpeza, causando uma maior remoção de carrapato. A administração de anti-histamínico levou a maior

carga de carrapatos em bovinos de raças resistentes e suscetíveis (Tatchell e Bernnet, 1969; Veríssimo *et al.*, 2002; Robbertse *et al.*, 2017; Tabor *et al.*, 2017).

Neutrófilos são os leucócitos encontrados em maior abundância na corrente sanguínea e, durante a infestação por carrapato, são rapidamente recrutados para o local da inflamação, neste caso a pele. Ao destruírem a matriz extracelular ao redor do carrapato fixado, permitem acesso do carrapato ao sangue, favorecendo a infestação (Tabor *et al.*, 2017). Estudos relataram níveis mais elevados de neutrófilos em animais de raças suscetíveis (Maruf *et al.*, 2014; Franzin *et al.*, 2017) e, no geral, esses níveis elevados parecem estar relacionados ao fenótipo suscetível ao carrapato, enquanto aumento de eosinófilos, basófilos e mastócitos estão relacionados com fenótipos resistentes (Tabor *et al.*, 2017). O gene *ADAM8* também está envolvido com a regulação positiva de neutrófilos e sua migração dos vasos sanguíneos para regiões periféricas (Figura 7).

Quando ativados, neutrófilos podem levar a influxo de íons de cálcio e a regulação de proteínas de ligação de cálcio. De acordo com Bagnall *et al.* (2009), genes da via de regulação do cálcio foram mais expressos em animais resistentes, sugerindo que a ativação das vias de sinalização do cálcio, devido a sua maior concentração intracelular, contribui para a resistência ao carrapato. Porém, outros estudos relatam que maior comunicação celular mediada pelo cálcio gera um equivalente número de células de defesa nos tecidos inflamados, devido a maior expressão de genes relacionados com o controle de íons de cálcio, causando hipersensibilidade em animais suscetíveis (Nascimento *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2014). A literatura relata a necessidade de maiores estudos para o entendimento dos genes de sinalização de cálcio, ligações de cálcio e/ou controle de íons de cálcio e suas funções em bovinos suscetíveis e resistentes (Tabor *et al.*, 2017). Genes localizados nas regiões de maior variância genética para Icar (*ADAM8*, *EFCAB5*, *EFHB5* e *ENPP2*) estão relacionados com a função molecular de ligação de íons de cálcio (GO:0005509), podendo representar importantes genes candidatos a serem estudados.

Genes *CD59* e *CD80* fazem parte de um conjunto de genes de cluster de diferenciação, trata-se de moléculas de superfície celular expressas em leucócitos e outras moléculas do sistema imunológico, as quais recebem a nomenclatura CD por

reconhecerem padrões de diferenciação de forma particular. *CD59* é um gene regulador da família de genes de ativação do complemento e o *CD80* pertence a superfamília Imunoglobulina (Engel *et al.*, 2015). As moléculas de *CD80* se ligam a células T que produzem sinais estimulantes, aumentando a transcrição e estabilidade do mRNA da citocina Interleucina-2 (IL-2) e se ligam também a moléculas da célula T que quando ativadas reduzem o estímulo de leucócitos, mantendo assim uma homeostase imunológica (Parsons e Howard, 1999). É possível observar que *CD80* está relacionado com processos biológicos de ativação e regulação das células T (Figura 7). O gene *CD59* também modula a atividade de células T, mas o mecanismo ainda não está completamente elucidado (Longhi *et al.*, 2006). *CD59* foi relatado como um gene marcado por variante fixada em animais Nelore (Fernandes Júnior *et al.*, 2020), sua expressão foi alta em animais suscetíveis a nematoides intestinais (Araújo *et al.*, 2009) e está relacionado com os processos biológicos tanto de ativação quanto de regulação e também da ativação positiva e negativa da resposta imune (Figura 7). Genes da família CD atuam na ativação do sistema imunológico como resposta a estresse ambiental e, portanto, são genes importantes para a adaptação tropical (Fernandes Júnior *et al.*, 2020).

5.3.2. Genes candidatos para nível de infecção por *Babesia bigemina*.

A diferenciação de osteoclastos é desencadeada de forma excessiva em condições inflamatórias, essa diferenciação é induzida por citocinas pró-inflamatórias, como o TNF α e IL-1 β , IL-6 e IL-1, as quais são secretadas por células dendríticas, macrófagos e células T (Yu e Canalis, 2020). Os osteoclastos são responsáveis por reabsorção do tecido ósseo, contribuindo com a manutenção do volume ósseo e homeostase do cálcio. Nesse processo, ocorre liberação de minerais, resultando na transferência de cálcio do tecido ósseo para o sangue (Udagawa *et al.*, 2020), que apresenta importância para a infestação por carrapato e pode ser um fator importante na resistência à infecção por babesiose bovina.

Células imunes são formadas nas células tronco e mantidas na medula óssea, onde sistema ósseo e imunológico são regulados de forma integrada, compartilhando moléculas regulatórias, como citocinas, moléculas de sinalização e fatores de

transcrição e desempenham funções de forma cooperativa (Takayanagi, 2007; Tsukasaki e Takayanagi, 2019). Os genes *CTNNB1* e *CTPS1* estão associados ao processo biológico a proliferação de células T e *CTNNB1* também está relacionado aos processos de regulação da proliferação de células T, diferenciação de osteoclastos e sua regulação negativa e com a diferenciação de células T no timo (Figura 8). Acredita-se que anticorpos relacionados à linfócitos dependentes do timo danificam os merozoítos extracelulares e impulsionam a fagocitose tanto dos parasitas livres como dos eritrócitos parasitados (Ristic *et al.*, 1984).



Figura 8. Rede de termos de ontologia gênica relacionados à imunidade para o nível de infecção por *Babesia bigemina*.

A proteína helicase citoplasmática induzida por ácido retinóico (RIG-I) é crucial para o desenvolvimento da imunidade inata, visto que, faz parte dos receptores de reconhecimento padrão e induz a produção de interferon e citocinas pró-inflamatórias (Takeuchi e Akura, 2008; Poeck *et al.*, 2010; Han, 2019). Com isso, é possível sugerir que a via RIG-I esteja intimamente ligada a uma resposta à infecção pelo protozoário, fazendo com que o gene *NOP53* seja um potencial gene candidato, por estar relacionado com a via de sinalização de RIG-I e sua regulação (Figura 8). *C5AR1* e *C5AR2* são genes parálogos, codificadores de proteínas receptoras quimiotáticas do componente C5a do sistema complemento e apresentam expressão altamente correlacionadas (Crunivel *et al.*, 2010; Boulougouris *et al.*, 2019). O sistema

complemento integra o sistema imune inato, C5a é um pequeno peptídeo que faz parte da ativação da cascata do sistema complemento, mediando a inflamação por meio de degranulação de mastócitos, basófilos e eosinófilos, ativação de neutrófilos e estímulo a motilidade e a adesão de neutrófilos ao foco de inflamação. Portanto, C5a é uma anafilotoxina importante na infecção por *B. bigemina*, mas é preciso investigar seu papel na autoimunidade durante a infecção (Ristic *et al.*, 1984; Gerard, 2003; Crunivel *et al.*, 2010; McConnel *et al.*, 2020).

5.3.3. Genes candidatos para nível de infecção por *Babesia bovis*.

Além de estar relacionada à idade, a imunidade inata dos animais depende do baço, é bem determinado que o local de ação de respostas inatas e adquiridas ocorre em tecido linfoide secundário e que, no caso de infecção por hemoparasitas, o baço é fundamental para sobrevivência do hospedeiro. A gravidade de *B. bovis* é maior em animais esplenectomizados (Goff *et al.*, 2001). Os genes *CDH17* e *NKX2-3* são associados ao processo biológico de desenvolvimento do baço (GO:0048536) e diferenciação de linfócitos (Figura 9). O gene *FANCA* também está associado a esse processo e à regulação das células T regulatórias.

O gene *NKX2-3* também está relacionado com a diferenciação de macrófagos e de células T $\alpha\beta$ para T CD4+, enquanto *CDH17* está associado com a diferenciação de células B (Figura 9). O desenvolvimento da imunidade específica, mediada por linfócitos T e B, é necessário para que a defesa seja duradoura e eficiente (Bock *et al.*, 2004). As células T CD4+ são células auxiliares geradas nos órgãos linfoides secundários e essenciais para a resposta imune adaptativa. Essas células secretam citocinas e ativam os linfócitos B, estes se diferenciam e produzem anticorpos (Brown *et al.*, 2006). Na Figura 9, é possível constatar diversos genes envolvidos no processo biológico de hematopoiese (*HMGB2*, *CBFA2T3*, *GLO1*, *ZFPM1*, *FANCA*, *NKX2-3* e *CDH17*) e a associação do gene *GLO1* nos processos de diferenciação de osteoclastos e células mieloide. A importância e relevância desses termos para a infecção por babesiose bovina já foram discutidas neste estudo.

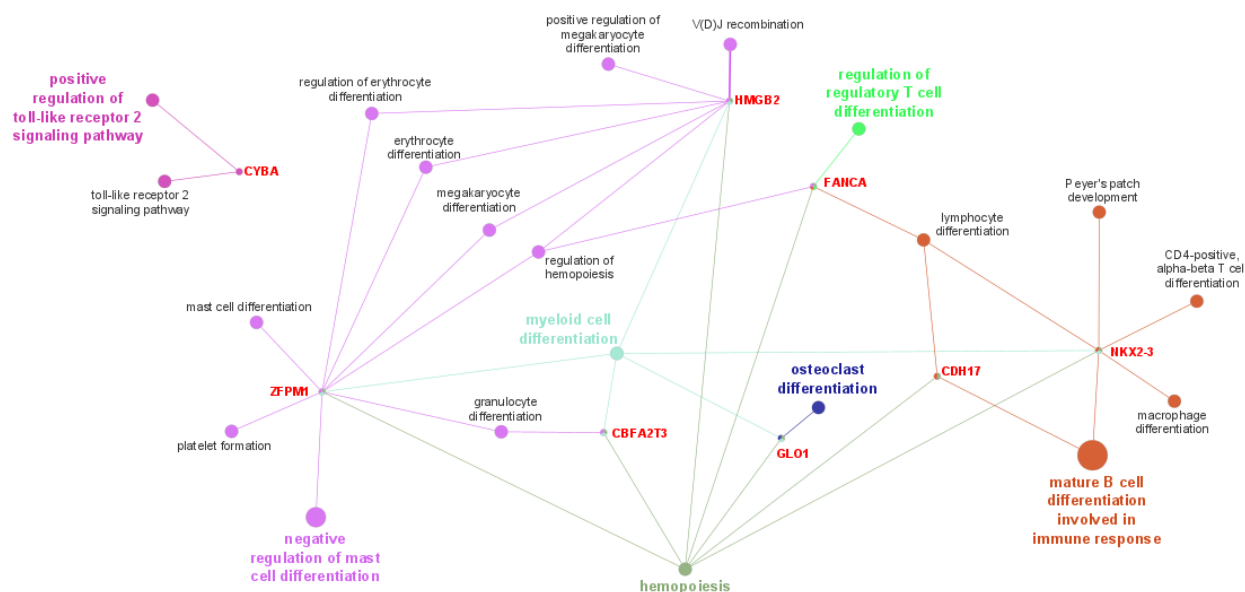


Figura 9. Rede de termos de ontologia gênica relacionados à imunidade para o nível de infecção por *Babesia bovis*.

Receptores Toll-like (TLRs) desempenham a função de reconhecimento de componentes de patógenos e ativação da resposta imune inata, levando ao desenvolvimento de resposta imune adaptativa. Mutações que ocorrem nas regiões de TLRs podem ser associadas a alterações na capacidade de resposta a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) em proteínas de protozoários, bactérias, vírus e fungos (Jann *et al.*, 2008; Mariotti *et al.*, 2009; Mucha *et al.*, 2009).

O gene *CYBA* está relacionado ao processo biológico de regulação positiva da via de sinalização *TRL2* (Figura 9) e pode estar associado às características de resistência e à suscetibilidade do rebanho. A ontologia classifica os produtos gênicos atribuindo termos para os locais em que eles são ativos (componentes celulares). Os termos de componentes celulares em GO determinam a localização em que um produto gênico desempenha determinada função. Os genes *HBM*, *HBA* e *HBQ1* estão associados ao componente celular de hemoglobina (GO: 0005833) e as funções moleculares de atividade transportadora de oxigênio (GO:0005344) e ligação a íons de ferro (GO:0005506), podendo assim, se relacionarem diretamente com a característica. Existe uma consistência ao observar animais resistentes. Porém, diversas diferenças são observadas ao comparar estudos de expressão gênica, visto

que, no geral, as diferenças na expressão gênica de animais resistentes e suscetíveis podem ser específicas da raça (Regitano *et al.*, 2008; Tabor *et al.*, 2017).

6. CONCLUSÃO

A baixa magnitude da estimativa de herdabilidade para nível de infestação por *Rhipicephalus microplus* sugere que o progresso genético da seleção pelo fenótipo de contagem de carrapato será lento, trazendo respostas a longo prazo.

Os valores de repetibilidade das três características estudadas indicam que fatores ambientais atuando sobre cada medida da característica são os maiores responsáveis pela variação nos níveis de infestação por carrapato e infecção por babesiose bovina.

Levando em conta as correlações genéticas e fenotípicas obtidas entre níveis de infestação por carrapato e infecção por babésias, a seleção para o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus* não afetará a seleção para os níveis de infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, assim como a seleção para o nível de infecção por babesiose bovina não implicará em seleção para nível de infestação por carrapato. A correlação negativa obtida entre a infecção por *Babesia bigemina* e por *Babesia bovis* sugere que esses níveis de infecção variam em sentido oposto.

Os estudos de GWAS contribuíram para maior compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na resistência ao carrapato e babésias. As regiões detectadas podem ser promissoras para futuros estudos de identificação de genes diretamente envolvidos nas características de resistência dos bovinos aos níveis de infestação por *Rhipicephalus microplus* e infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*.

7. REFERÊNCIAS

ABIEC 2021: Beef Report Perfil da Pecuária no Brasil. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2021/>. Acesso em: 25 jul. 2021.

Aguilar I, Misztal I, Johnsson DL, Legarra A, Tsuruta S, Lawlor TJ (2010) Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Hostein final score. **Journal of Dairy Science** 93:743-752.

Alencar MM (2004) Utilização de cruzamentos industriais na pecuária de corte tropical. In.: Santos FAP, Moura JC de, Faria VP de (Eds.) **Pecuária de corte intensiva nos trópicos**. Piracicaba: FEALQ, p. 149-170.

Allred DR (2003) Babesiosis: persistence in the face of adversity. **Trends in Parasitology** 19:51–55.

Almeida AK de, Michels IL (2012) O Brasil e a economia-mundo: o caso da carne bovina . **Ensaio FEE** 33:207-230.

Andreotti R, Garcia MV, Koller WW (2019) Controle estratégico dos carrapatos nos bovinos. In.: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW (Eds.) **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: EMBRAPA, p. 125-136.

Araújo RN, Padilha T, Zarlenga D, Sonstegard T, Connor EE, Van Tassel C, Lima WS, Nascimento E, Gasbarre LC (2009) Use of a candidate gene array to delineate gene expression patterns in cattle selected for resistance or susceptibility to intestinal nematodes. **Veterinary Parasitology** 162:106-115

ASBIA 2017: Index - ASBIA 2017. Disponível em: http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2018/10/INDEX-ASBIA-2017_completo.pdf. Acesso em: 27 mar.2021.

Ayres DR (2012) **Análise genética de resistência ao *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos cruzados Hereford x Nelore**. 61 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Unesp, Jaboticabal.

Bagnall N, Gough J, Cadogan L, Burns B, Kongsuwan K (2009) Expression of intracellular calcium signalling genes in cattle skin during tick infestation. **Parasite Immunology** 31:177–187.

Barcellos VC, Mottin C, Passetti RAC, Guerrero A, Eiras CE, Prohman PE, Vital ACP, PRADO IN do (2017) Carcass characteristics and sensorial evaluation of meat from Nellore steers and crossbred Angus vs. Nellore bulls. **Acta Scientiarum** 39:497-448.

Benavides MV, Sacco MAS (2007) Differential Bos taurus cattle response to Babesia bovis infection. **Veterinary Parasitology** 150:54-64.

Berndt A, Tomkins NW (2013) Measurement and mitigation of methane emissions from beef cattle in tropical grazing systems: a perspective from Australia and Brazil. **Animal** 7:363-372.

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

Biegelmeyer P, Nizoli LQ, Cardoso FF, Dionello NJL (2012) Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato Rhipicephalus (Boophilus) microplus. **Archivos de Zootecnia** 61:1-11.

Bilhassi TB, Oliveira HN, Ibeli AMG, Giglioti R, Regitano LCA, Oliveira-Sequeira TCG, Bressani FA, Malagó Jr W, Resende FD, Oliveira MCS (2014) Quantitative study of *Babesia bovis* infection in beef cattle from São Paulo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases** 5:234-238.

Bindea G, Galon J, Mlecnik B (2013) CluePedia Cytoscape plugin: pathway insights using integrated experimental and in silico data. **Bioinformatics** 29:661-663.

Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, Fridman WH, Pagès F, Trajonoski, Galon J (2009) ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped hene ontology and pathway annotation networks. **Bioinformatics** 25:1091-1093.

Blasco A, Toro MA (2014) A short critical history of the application of genomics to animal breeding. **Livestock Science** 166:4–9.

Bock RE, De Vos AJ, Kingston TG, McLellan DJ (1997) Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Anaplasma marginale*. **Australian Veterinary Journal** 75:337–340.

Bock RE, Jackson ADV, Jorgensen W (2004) Babesiosis of cattle. **Parasitology** 129:S247–S269.

Böse R, Jorgensen WK, Dalgliesh RJ, Friedhoff KT, De Vos AJ (1995) Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. **Veterinary Parasitology** 57:61-74.

Boulougouris X, Rogiers C, Van Poucke M, De Spiegeleer B, Peelman LJ, Duchateau L, Burvenich C (2019) Distinct neutrophil C5a receptor inflammatory events in cows initiated by chemoattractant C5a and lipopolysaccharide around parturition and mid lactation. **Journal of Dairy Science** 102:1457-1472.

Brossard M, Wikel SK (2004) Tick immunobiology. **Parasitology** 129:161-176.

Brown WC, Norimine J, Knowles DP, Goff WL (2006) Immune control off *Babesia bovis* infection. **Veterinary Parasitology** 138:75-87.

Browning BL, Zhou Y, Browning SR (2018) A One-Penny Imputed Genome from Next-Generation Reference Panels. **American Journal of Human Genetics** 103:338-348.

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

Buling A, Criado-Fornelio A, Asenzo G, Benitez D, Barba-Carretero JC, Florin-Christensen M (2007) A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. **Veterinary Parasitology** 147:16-25.

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

Burrow HM (2012) Importance of adaptation and genotype x environment interactions in tropical beef breeding systems. **Animal** 6:729-740.

Callow LL (Eds.) (1984) Protozoal and rickettsial diseases. Canberra: Australian Government Publishing Service, 264p.

Campos Pereira M, Labruna MB (2008) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In.: Campos Pereira M, Labruna MB, Szabó MPJ, Klafke GM (Eds.) ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência***. São Paulo: MedVet, p. 15-53.

Cardoso AS, Barbero RP, Romanzini EP, Teobaldo RW, Ongaratto F, Fernandes MHMR, Ruggieri AC, Reis RA (2020). Intensification: A Key Strategy to Achieve Great Animal and Environmental Beef Cattle Production Sustainability in *Brachiaria* Grasslands. **Sustainability** 12:6656-6673.

Cardoso FF, Matika O et al. (2021) Multiple Country and Breed Genomic Prediction of Tick Resistance in Beef Cattle. **Frontiers in Immunology** 12:1-11.

Cardoso V, Fries LA, Roso VM, Brito FV (2006) Estimates of heritability for resistance to *Boophilus microplus* tick evaluated by an alternative method in a commercial polled Hereford x Nelore population in Brazil. In: 8th CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION. **Anais...**Belo Horizonte: WCGALP, p. 12-16.

Carvalho WA, Domingues R, Azevedo Prata MC, Silva MV, Oliveira GC, Guimarães SE, Machado MA (2014) Microarray analysis of tick-infested skin in resistant and susceptible cattle confirms the role of inflammatory pathways in immune activation and larval rejection. **Veterinary Parasitology** 205:307-317.

Cavani L, Braz CU, Giglioti R, Okino CH, Gúlias-Gomes CC, Caetano AR, Oliveira MCS, Cardoso FF, Oliveira HN (2020a) Genomic Study of *Babesia bovis* Infection Level and Its Association With Tick Count in Hereford and Braford Cattle. **Frontiers in Immunology** 11:1-11.

Cavani L, Lopes FB et al. (2020b) Inferring phenotypic causal networks for tick infestation, *Babesia bovis* infection, and weight gain in Hereford and Braford cattle using structural equation models. **Livestock Science** 238:1-8.

Chang CC, Chow CC, Tellier LCAM, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. **Gigascience** 4:7-23.

Coutinho LL, Jorge EC, Rosário MF do, Regitano LCA (2010) A genômica na bovinocultura de corte. In: Pires AV (Eds.) *Bovino cultura de corte*. Piracicaba: FEALQ, p. 813-826.

Cruvinel WM, Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelean TTT, Souza AWS, Silva NP, Andrade LEC (2010) Sistema imunitário – parte I fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia** 50:434-461.

De Wall DT, Combrink MP (2006) Live vaccines against bovine babesiosis. **Veterinary Parasitology** 138:88-96.

Engel *et al.* (2015) CD nomenclature 2015: human leucocyte differentiation antigen workshop as a driving force in immunology. **The Journal of Immunology** 195:4555-4563.

Erler JP (Eds.) (2017) Teorias e métodos em melhoramento genético animal: bases do melhoramento genético animal. Pirassununga: FZEA USP, 239p.

Euclides Filho K (1997) A pecuária de corte no Brasil: novos horizontes, novos desafios. Campo Grande: EMBRAPA: CNPGC, 28p. (Embrapa-CNPGC. Documentos, 69).

Euclides Filho K (1999) Melhoramento genético animal no Brasil: fundamentos, história e importância. Campo Grande: EMBRAPA: CNPGC, 63p. (Embrapa-CNPGC. Documentos, 75).

Euclides Filho K (2000) Produção de bovinos de corte o trinômio genótipo-ambiente-mercado. Campo Grande: EMBRAPA: CNPGC, 51p. (Embrapa – CNPGC. Documentos, 85).

Favero R *et al.* (2019) Crossbreeding applied to systems of beef cattle production to improve performance traits and carcass quality. **Animal** 13:2679-2686.

Fernandes Júnior GA, Oliveira HN, Carvalheiro R, Cardoso DF, Fonseca LFS, Ventura RV, Albuquerque LG (2020) Whole-genome sequencing provides new insights into genetic mechanisms of tropical adaptation in Nellore (*Bos primigenius indicus*). **Scientific Reports** 10:1-7.

Ferraz JBS, Felício PE (2010) Production systems – An example from Brazil. **Meat Science** 84:238-243.

Fonseca PAS, Suárez-Veja A, Marras G, Cánovas A (2020) GALLO: Na R package for genomic annotation and integration of multiple data sources in livestock for positional candidate loci. **GigaScience** 9:149.

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

Franzin AM, Maruyama SR, Garcia GR, Oliveira RP, Ribeiro JM, Bishop R, Maia AA, More DD, Ferreira BR, Santos IK (2017) Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Parasites & Vectors** 10:1-24.

Frisch JE (1999) Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for Parasitology** 29:57-71.

Garcia MV, Rodrigues VS, Koller WW, Andreotti R (2019) Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In.: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW (Eds.) **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: EMBRAPA, p. 17-28.

Gerard C (2003) Complement C5a in the sepsis syndrome – Too much of a good thing? **The New England Journal of Medicine** 348:167-169.

Gerber PJ, Mottet A, Opio CI, Teillard F (2015) Environmental impacts of beef production: review of challenges and perspectives for durability. **Meat Science** 109:2-12.

Giglioti R *et al.* (2020) Correlations and repeatability between *Babesia* spp. infection levels using dairy cattle breeding systems. **Experimental and Applied Acarology** 81:599-607.

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

Giglioti R, Oliveira HN, Okino CH, Oliveira MCS (2018b) qPCR estimates of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection levels in beef cattle and *Rhipicephalus microplus*. **Experimental and Applied Acarology** 75:235-240.

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

Goddard ME, Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Nature Reviews Genetics** 10:381-391.

Goff WL, Johnson WC, Parish SM, Barrington GM, Tuo W, Valdez RA (2001) The age-related immunity in cattle to *Babesia bovis* infection involves the rapid induction of interleukin-12, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase mRNA expression in the spleen. **Parasite Immunology** 23:463-471.

Gonçalves PM (2000) Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. **Ciência Rural** 30:187-194.

Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, Arantes GJ (2004) Tick control: an industry point of view. **Parasitology** 129:427-442.

Grisi L, Leite RC, Martins JRS, Barros ATM de, Andreotti R, Cançado PHD, León AAP de, Pereira JB, Villela HS (2014) Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 23:150-156.

Guglielmone AA (1995) Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. **Veterinary Parasitology** 57:109-119.

Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, Mangold AJ, Szabó MPJ, Martins JR, González-Acuña D, Estrada-Peña A (2006) Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental & Applied Acarology** 40:83-100.

Gulias Gomes CC, Cardoso FF, Roso VM (2010) Método de obtenção qualificada de fenótipos visando à avaliação de genótipos bovinos resistentes ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Bagé: EMBRAPA: CPPSUL, 5p. (Embrapa – CPPSUL. Comunicado Técnico, 75).

Hadlich JC, Curi RA, Silva MGB da, Factori MA, Silveira AC, Chardulo LAL (2013) Maciez da carne bovina e sua relação com o crescimento e os tipos de fibra musculares. **Revista Acadêmica Ciência Animal** 11:421-430.

Han H (2019) Identification of several key genes by microarray data analysis of Bovine mammary gland epithelial cells challenged with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Gene** 683:123-132.

Hayes B, Goddard M (2010) Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. **Genome** 53: 876–883.

Hermans P, Dwinger RH, Buening GM, Herrero MV (1994) Seasonal incidence and hemoparasite infection rates of Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) detached from cattle in Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical** 42:623–632.

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

Huang D, Sherman B, Lempicki R (2009) Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nature Protocols** 4:44-57.

Jann OC, Werling D, Chang JS, Haig D, Glass EJ (2008) Molecular evolution of Bovine Toll-like receptors 2 suggests substitutions of functional relevance. **BMC Evolutionary Biology** 8:1-16.

- Johnston LAY, Leatch G, Jones PN (1978) The duration of latent infection and functional immunity in droughtmaster and hereford cattle following natural infection with *Babesia argentina* and *Babesia bigemina*. **Australian Veterinary Journal** 54:14-18.
- Jongejan F, Uilenberg G. (2004) The global importance of ticks. **Parasitology** 129:3-14.
- Jonsson NN (2006) The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology** 137:1-10
- Jonsson NN, Bock RE, Jorgensen WK (2008) 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** 155:1–9.
- Jonsson NN, Piper EK, Constantinoiu CC (2014) Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Parasite Immunology** 36:553-559.
- Ke GM, Cheng HL, Ke LY, Ji WT, Chulu JLC, Liao MH, Chang TJ, Liu HJ (2006) Development of a quantitative Light Cycler real-time RT-PCR for detection of avian reovirus. **Journal of Virological Methods** 133:6-13.
- Kessler RH, Schenk MAM (Eds.) (1998) Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC, 157p.
- Koller WW, Higa LOS, Zimmermann NP, Oshiro LM, Andreotti R (2019) Resistência dos carrapatos aos acaricidas. In: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW (Eds.) **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: EMBRAPA, p. 149-160.
- Kuinchtner A, Buriol GA (2001) Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarium Scientia** 2:171-182.
- Lew-Tabor AE, Valle MR (2016) A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. **Ticks and Tick-borne Diseases** 7:573-585.
- Lobato JFP, Freitas AK, Devincenzi T, Cardoso LL, Tarouco JU, Vieira RM, Dillenburg DR, Castro I (2014) Brazilian beef produced on pastures: Sustainable and healthy. **Meat Science** 98:336-345.
- Longhi MP, Harris CL, Morgan BP, Gallimore A (2006) Holding T cells in check – a new role for complement regulators? **Trends in Immunology** 27:102-108.
- Low WY, Tearle R et al. (2020) Haplotype-resolved genomes provide insights into structural variation and gene content in Angus and Brahman cattle. *Nature Communications*, 11:1-14.

Machado MA, Azevedo ALS et al. (2010) Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (*Bos taurus* × *Bos indicus*). **BMC Genomics** 11:1-11.

Madruga CR, Marques APC, Leal CRB, Carvalho CME, Araújo FR, Kessler RH (2000) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against *Anaplasma marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 20:109-112.

Mahoney DF (1964) Bovine babesiosis: an assessment of the significance of complement fixing antibody based upon experimental infection. **Australian Veterinary Journal** 40:369-375.

Mahoney DF (1969) Bovine babesiosis: A study of factors concerned in transmission. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** 63:1-14.

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

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

Mapholi NA, Maiwashe A, Matika O, Riggio V, Bishop SC, MacNeil MD, Banga C, Taylor JF, Dzama K (2016) Genome-wide association study of tick resistance in South African Nguni cattle. **Tick and Tick-borne Diseases** 7:487-497.

Mapholi NO, Marufu MC, Maiwashe A, Banga CB, Muchenje V, MacNeil MD, Chimonyo M, Dzama K (2014) Towards a genomics approach to tick (Acari: Ixodidae) control in cattle: A review. **Ticks and Tick-borne Diseases** 5:475-483.

Mariotti M, Williams JL, Dunner S, Valentini A, Pariset L (2009) Polymorphisms within the toll-like receptor (TLR)-2, -4, and -6 Genes in Cattle. **Diversity** 1:7-18.

Martinez MM, Machado MA (2002). Programa Genoma brasileiro de bovinos e suas perspectivas de aplicações práticas. In.: IV SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL. **Anais eletrônicos...** Juiz de Fora: SBMA, 2002. Disponível em: <http://sbmaonline.org.br/anais/iv/palestras/pdfs/ivp06.pdf>. Acesso em: 03 abr. 2021.

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

McConnel CS, Crisp SA, Biggs TD, Ficklin SP, Parrish LM, Trombetta SC, Sisco WM, Adams-Progar A (2020) A fixed cohort field study of gene expression. In circulating leukocytes from dairy cows with and without mastitis. **Frontiers in Veterinary Science** 7:747.

Meuwissen TH, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics** 157:1819-1829.

Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Bruet T, Lee DH (2002) BLUPF90 and related programs (BGF90). In: 7th WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTUON. **Anais...**Montpellier: WCGALP, p. 19-23.

Mottet A, Haan C, Falcucci A, Tempio G, Opio CI, Gerber P (2017) Livestock: On our plates or eating a tour table? A new analysis of the feed/food debate. **Global Food Security** 14:1-8.

Mucha R, Bhide MR, Chakurkar EB, Novak M, Mikula Sr I (2009) Toll-like receptors TLR1, TLR2 and TLR4 gene mutations and natural resistance to *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* infection in cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 4:381-388.

Murguía CAV, Millán JVF, Ramírez EER, Aragón JAR, Alarcón GJC (1999) Insuficiente imunidade cruzada em bovinos por *Babesia bigemina* y/o *Babesia bovis* derivadas del cultivo in vitro. **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias** 37:14-22.

Nascimento CS, Machado MA, Guimarães SEF, Martins MF, Peixoto JO, Furlong J, Prata MCA, Verneque RS, Teodoro RL, Lopes PS (2011) Expressed sequence tags profiling of resistant and susceptible Gyr x Holstein cattle infested with the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Genetics and Molecular Research** 10:3803-3816.

OIE 2021: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2021. Disponível em: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>. Acesso em: 30 nov. 2021.

Okino CH, Giglioti R, Silva PC, Oliveira HN, Oliveira MCS (2018) Comparative evaluation of DNA extraction kit, matrix sample and qPCR assays for bovine babesiosis monitoring. **Molecular Biology Reports** 45:2671-2680.

Oliveira MCS, Bilhassi TB, Giglioti R, Ibelli AMG, Malagó Jr W, Oliveira HN (2014) Estudo da prevalência e do nível de infecção por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos da raça Angus, Nelore e cruzados, criados em áreas endêmicas do Estado de São Paulo. São Carlos: EMBRAPA: CPPSE, 26p. (Embrapa – CPPSE. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 37).

Oliveira MCS, Oliveira HN, Regitano LCA, Alencar MM, Néo TA, Silva AM (2007) Estudo da infecção por *Babesia bigemina* em bovinos de corte e em carrapatos. São Carlos: EMBRAPA: CPPSE, 26p. (Embrapa – CPPSE. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 12).

Oliveira MCS, Oliveira-Sequeira TCG, Araújo Júnior JP, Amarante AFT, Oliveira HN (2005) *Babesia* spp. infection in *Boophilus microplus* engorged females and eggs in São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology** 130:61-67.

Oliveira MCS, Oliveira-Sequeira TCG, Regitano LCA, Alencar MM, Néo TA, Silva AM, Oliveira HN (2008) Detection of *Babesia bigemina* in cattle of different genetic groups and in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick. **Veterinary Parasitology** 155:281-286.

Oliveira-Sequeira TCG, Oliveira MCS, Araújo Júnior JP, Amarante AFT (2005) PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. **International Journal for Parasitology** 35:105-111.

Otto PI *et al.* (2018) Genome-wide association studies for tick resistance in *Bos taurus* x *Bos indicus* crossbred cattle: A deeper look into this intricate mechanism. **Journal of Dairy Science** 101:11020-11032.

Parsons KR, Howard CJ (1999) Cloning of cattle CD80. **Immunogenetics** 49:231-234.

Pereira CD, Souza GRL de, Baffi MA (2010) Carrapatos dos bovinos: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas. Planaltina: EMBRAPA: CPAC, 30p. (Embrapa – CPAC. Documentos, 278).

Pereira JCC (Eds.) (2008) Melhoramento genético aplicado à produção animal. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 617p.

Pereira PMRC, Pinto MF, Abreu UGP de, Lara JAF de (2009) Características de carcaça e qualidade de carne de novilhos superprecoces de três grupos genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 44:1520-1527.

Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research** 29:45-51.

Pietretti D, Spaink HP, Facol A, Forlenza M, Wiegertjes G (2013) Accessory molecules for toll-like receptors in Teleost fish. Identification of TLR4 interactor with leucine-rich repeats (TRIL). **Molecular Immunology** 56:745-756.

Piper EK, Jackson LA, Bielefeldt-Ohmann H, Gondro C, Lew-Tabor AE, Jonsson NN (2010) Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. **International Journal for Parasitology** 40:431-441.

Piper EK, Jonsson NN, Gondro C, Tabor AEL, Moolhuijzen P, Vance ME, Jackson LA (2009) Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Clinical and Vaccine Immunology** 6:1074-1086.

Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K (2006) CODA: Convergence Diagnosis and Output Analysis for MCMC. **R news** 6:7-11.

Poeck H *et al.* (2010) Recognition of RNA virus by RIG-I results in activation of CARD9 and inflammasome signaling for interleukin 1 β production. **Nature Immunology** 11:63-69.

Porto Neto LR *et al.* (2014) The genetic architecture of climatic adaptation of tropical cattle. **Plos one** 9:11.

Porto Neto LR, Jonsson NN, D'Occhio MJ, Barendse W (2011) Molecular genetic approaches for identifying the basis of variation in resistance to tick infestation in cattle. **Veterinary Parasitology** 180:165-172.

Prayaga KC, Henshall JM (2005) Adaptability in tropical beef cattle: genetic parameters of growth, adaptive and temperament traits in a crossbred population. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 45:971-983.

Rauf U, Suleman M, Abid A, Jamil H, Menghwar H, Durrani AZ, Rashid MI, Akbar H (2020) Humoral and cell-mediated immune response validation in calves after a live attenuated vaccine of *Babesia bigemina*. **Pathogens** 9:936-952.

Regitano LCA (2004) Importância da genética molecular para o melhoramento de ruminantes. In.: V SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, Anais eletrônicos... Pirassununga: SBMA, 2004. Disponível em: <http://sbmaonline.org.br/anais/v/palestras/pdfs/palest05.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2021.

Regitano LCA *et al.* (2008) On the search for markers of tick resistance in bovines. In: Pinard MH, Gay C, Pastoret PP, Dobet B (Eds.) **Animal genomics for animal health**. Basel: Karger Publishers, p. 225-230.

Ristic M, Ambroise-Thomas P, Kreier J (1984) Malaria and babesiosis: research findings and control measures. Dordrecht: Springer, 320p.

Robbertse L, Richards SA, Clift SJ, Bernard AC, Leisewitz A, Crafford JE, Maritz-Olivier C (2018) Comparison of the differential regulation of T and B-lymphocyte subsets in the skin and lymph nodes amongst three cattle breeds as potential mediators of immune-resistance to *Rhipicephalus microplus*. **Tick and Tick-borne Diseases** 9:976-987.

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

Santos RL, Gaspar EB, Benavides MV, Trentin G (2019) Tristeza Parasitária Bovina- Medidas de controle atuais. In: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW (Eds.) **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: EMBRAPA, p. 87-100.

Saueressig TM (1995) O carrapato e a tristeza parasitária bovina. Planaltina: EMBRAPA: CPAC, 16p. (Embrapa – CPAC. Circular Técnica, 31).

Saueressig TM (2006) Produção de proteína animal de qualidade com sustentabilidade: controle racional de parasitoses dos bovinos. Planaltina: EMBRAPA: CPAC, 46p. (Embrapa – CPAC. Documentos, 157).

Scheleger AV, Lincoln DT, Bourne AS (1981) Arteriovenous anastomoses in the dermal vasculature of the skin of *Bos taurus* cattle, and their relationship with resistance to the tick, *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Biological Sciences** 34: 27-36.

Scholtz MM, McManus C, Leeuw KJ, Louvandini H, Seixas L, Melo CB, Theunissen A, Naser FWC (2013) The effect of global warming on beef production in developing countries of the southern hemisphere. **Natural Science** 5:106-119.

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

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

Siqueira F, Machado MA (2016) Uso de técnicas de biologia molecular em estudos de avaliação da resistência genética de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*. In: Andreotti R, Koller WW, Garcia MV (Eds.) **Carrapatos protocolos e técnicas para estudo**. Brasília: EMBRAPA, p. 99-113.

Smith RD, Molinar E, Larios F, Monroy J, Trigo F, Ristic M (1980) Bovine babesiosis: pathogenicity and heterologous species immunity of tick-borne *Babesia bovis* and *B. bigemina* infections. **American Journal of Veterinary Research** 41:1957-1965.

Soares CO, Massard CL, Hernandez CAM, Fonseca AH (2001) Imunidade contra artrópodes parasitos. In: Madrugá CR, Araújo FR, Soares CO (Eds.) **Imunodiagnóstico em medicina veterinária**. Campo Grande: EMBRAPA, p. 111-141.

Suarez CE, Alzan HF, Marta GS, Rathinasamy V, Poole WA, Cooke BM (2019) Unravelling the cellular and molecular pathogenesis of Bovine babesiosis: is the sky the limit? **International Journal for Parasitology** 49:183-197.

Tabor AE, Ali A, Rehman G, Garcia GR, Zangirolamo AF, Malardo T, Jonsson NN (2017) Cattle Tick *Rhipicephalus microplus*-Host Interface: A Review of Resistant and Susceptible Host Responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 7:1-18.

Takayanagi H (2007) Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. **Nature Reviews Immunology** 7:292-304.

Takeuchi O, Akira S (2008) MDA5/RIG-I and virus recognition. **Current Opinion in Immunology** 20:17-22.

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

Taylor MA, Coop RL, Wall RL (Eds.) (2017) *Parasitologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1052 p.

Tsukasaki M, Takayanagi H (2019) Osteoimmunology: evolving concepts in bone-immune interactions in health and disease. **Nature Reviews Immunology** 19:626-642.

Turner LB, Harrison BE, Bunch RJ, Porto Neto LR, Li Y, Barendse W (2010) A genome-wide association study of tick burden and milk composition in cattle. **Animal Production Science** 50:235-245.

Udagawa N *et al* (2020) Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways. **Journal of Bone and Mineral Metabolism** 39:19-26.

Uilenberg G, (1995) International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. **Veterinary Parasitology** 57:19-41.

Ulevitch RJ (2004) Therapeutics targeting the innate immune system. **Nature Review Immunology** 4:512-520.

Utech KBW, Wharton RH, Kerr JD (1978) Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research** 29:885-895.

Van Eenennaam AL, Thallman RM, Quaas RL, Dikeman ME, Gill CA, Franke DE, Thomas MG (2007) Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. **Journal of Animal Science** 85:891-900.

Van Tassel CP, Smith TPL, Matukumalli LK, Taylor JF, Schnabel RD, Lawley CT, Haudenschild CD, Moore SS, Warren WC, Sonstegard TS (2008) SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. **Nature Methods** 5:247-252.

Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F (2002) Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology** 3:1-12.

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

Vats D, Flegal JM, Jones GL (2015) Multivariate output analysis for Markov chain Monte Carlo. **Biometrika** 106:321-337.

Veríssimo CJ, D'Agostinho SM, Pessoa FF, Toledo LM, Miranda Santos IKF (2015) Length and density of filiform tongue papillae: differences between tick-susceptible and resistant cattle may affect tick loads. **Parasites & vectors** 8:1-5.

Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution** 34:1-31.

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

Wen T, Rothenberg ME (2016) The regulatory function of eosinophils. **Microbiology Spectrum** 4:4-5.

Wrege MS, Steinmetz S, Reisser Júnior C, Almeida IR (Eds.) (2012) Atlas climático da Região Sul do Brasil. Brasília: EMBRAPA, 335p.

Wright IG, Goodger BV, Leatch G, Aylward JH, Rode-Bramanis K, Waltisbuhl DJ (1987) Protection of *Babesia bigemina*-immune animals against subsequent challenge with virulent *Babesia bovis*. **Infection and Immunity** 55:364-368.

Yang J, Lee SH, Goddard ME, Visscher PM (2013) Genome-Wide Complex Trait Analysis (GCTA): Methods, Data Analyses, and Interpretations. In: Gondro C, Porto-Neto LR, Seung HL (Eds.) Genome-Wide Associations Studies. Totowa: Humana Press, p. 215-236.

Yu J, Canalis E (2020) Notch and the regulation of osteoclast differentiation and function. **Bone** 138:115474.

Zhao G, Yu M, Cui QW, Zhou X, Zhang JC, Li HX, Qu KX, Wang GL, Huang BZ (2013) Association of bovine Toll-like receptor 4 with tick infestation rates and blood histamine concentration. **Genetics and Molecular Research** 12:2783-2793.

APÊNDICE

Tabela Suplementar 1. Posição das 15 janelas de 10 SNPs adjacentes com maior variância genética para nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*.

Crom.	Início Janela (bp)	Fim Janela (bp)	Variância (%)	Genes
26	25308170	25488249	3,012	ADAM8; CALY; CFAP58; ECHS1; FUOM; MTG1; PAOX; PRAP1; SORCS3; SPRN; TUBGCP2; ZNF511
5	73865108	74079648	2,689	EMX2; SLC18A2; RAB11FIP2; PDZD8
4	66753486	66948425	2,338	CHN2; CPVL; CREB5; PRR15; SCRNI1; TRIL; WIPF3
19	20668398	20974009	2,329	ANKRD13B; ABHD15; CORO6; CRYBA1; EFCAB5; GIT1; MYO18A; NSRP1; NUFIP2; PIPOX; SSH2; SEZ6; SLC6A4; TAOX1; TP53I13
20	6356114	6572460	2,281	ENC1; FAM169A; GFM2; HEXB; MSX2; NSA2
16	52235631	52418303	2,275	AGMAT; CASP9; CELA2A; CTRC; DNAJC16; EFHD2; FHAD1; KAZN; PLEKHM2; TMEM51;
6	38158664	38175754	2,275	-
14	80890382	81015684	2,074	ZFAND1; CHMP4C; IMPA1; ENPP2; TAF2; DSCC1; DEPTOR; SNX16; SLC10A5;
10	32627329	32759193	2,024	CDIN1; MEIS2
17	71918141	72076929	1,833	ADORA2A; AIFM3; BCR; CCDC116; CRKL; GUCD1; GNAZ; HIC2; KLHL22; LZTR1; LRRC74B; MAPK1; MZT2B; MED15; PPM1F; PI4KA; P2RX6; PPIL2; RAB36; RSPH14; SDF2L1; SMPD4; SLC7A4; SERPIND1; SNAP29; SNRNP3; SPECC1L; TUBA3E; TUBA3C; THAP7; TOP3B; UPB1; UBE2L3; VPRED1; VPRED1; YDJC; YPEL1
15	25544846	25757737	1,686	CADM1; NXPE2
1	64142274	64330273	1,537	ARHGAP31; ADPRH; B4GALT4; CFAP91; COX17; CD80; GSK3B; IGSF11; NR1I2; POPDC2; POGLUT1; TMEM39A; TIMMDC1; UPK1B
9	101382904	101498266	1,519	CEP43; CCR6; GPR31; MPC1; RNASET2; RPS6KA2; SFT2D1; TBXT
26	37870975	38275069	1,518	EMX2; PDZD8; RAB11FIP2; SLC18A2
15	64746518	64890679	1,455	ABTB2; CD59; CAPRIN1; CAT; C15H11orf91; ELF5; EHF; FBXO3; LMO2; NAT10

Tabela Suplementar 2. Posição das 15 janelas de 10 SNPs adjacentes com maior variância genética para nível de infecção por *Babesia bigemina*.

Cro.	Início Janela (bp)	Fim Janela (bp)	Variância (%)	Genes
17	14187961	14355308	11,056	GAB1; GYPA; GYPB; SMARCA5; USP38
25	7388002	7685368	6,536	ABAT; C25H16orf72; CARHSP1; METTL22; PMM2; TMEM186; TMEM114; USP7;
11	34296011	34683480	6,493	-
19	5216630	5541937	4,070	COX11; HLF; MMD; STXBP4; TOM1L1
8	105021715	105281292	3,785	ASTN2; PAPP
19	7123833	7285297	3,479	C19H17orf67; DGKE; NOG; TRIM25
22	13501709	13818453	3,216	CTNNB1; EIF1B; ENTPD3; RPL14; ULK4; ZNF619; ZNF621
16	2486530	2565395	2,401	CNTN2; DSTYK; LRRN2; MDM4; NFASC; PIK3C2B; PLEKHA6; PPP1R15B; RBBP5; TMCC2; TMEM81
3	105495293	105687436	2,237	CAP1; CITED4; COL9A2; CTPS1; EXO5; KCNQ4; NFYC; PPT1; RIMS3; RLF; SCMH1; SLFNL1; SMAP2; TMCO2; ZFP69; ZMPSTE24; ZNF684
9	74507170	74771426	2,109	BCLAF1; IFNGR1; IL20RA; IL22RA2; MAP3K5; MAP7; MTFR2; PDE7B; PEX7; SLC35D3
18	54346690	54597600	1,888	ARHGAP35; BICRA; C5AR1; C5AR2; CABP5; CCDC9; CRX; DHX34; EHD2; ELSPBP1; INAFM1; KPTN; LIG1; MEIS3; NAPA; NOP53; NPAS1; SAE1; SLC8A2; SULT2A1; TMEM160; ZC3H4; ZNF541; ZSWIM9
1	110156312	110252742	1,834	CCNL1; PTX3; VEPH1
3	36888039	37170438	1,766	CAP1; CITED4; COL9A2; CTPS1; EXO5; KCNQ4; NFYC; PPT1; RIMS3; RLF; SCMH1; SLFNL1; SMAP2; TMCO2; ZFP69; ZMPSTE24; ZNF684
17	14634889	14755794	1,741	GAB1; SMARCA5; USP38
4	116355008	116452624	1,693	DPP6

Tabela Suplementar 3. Posição das 15 janelas de 10 SNPs adjacentes com maior variância genética para nível de infecção por *Babesia bovis*.

Cro.	Início Janela (bp)	Fim Janela (bp)	Variância (%)	Genes
11	3834575	3974364	12,041	C2orf15; CNGA3; COA5; CRACDL; INPP4A; LIPT1; MGAT4A; MITD1; MRPL30; TXNDC9; TSGA10; UNC50; VWA3B
8	108603393	109078628	5,022	BRINP1
20	42618406	42876970	4,462	CDH6; DIMT1; IPO11; KIF2A
18	14104513	14357607	3,726	ACSF3; ANKRD11; APRT; CBFA2T3; CDH15; CDK10; CDT1; CHMP1A; CPNE7; CTU2; CYBA; DEF8; DPEP1; FANCA; GALNS; MC1R; MVD; PIEZO1; RNF166; RPL13; SLC22A31; SNAI3; SPATA2L; SPATA33 SPG7; SPIRE2; TCF25; TRAPPC2L; TUBB3; VPS9D1; ZC3H18; ZFPM1; ZNF276
1	103285189	103530025	2,883	-
23	12604218	12840028	2,704	BTBD9; DNAH8; GLO1; GLP1R; KCNK16; KCNK17; KCNK5; KIF6; SAYSD1
14	69684237	69909427	2,321	CCNE2; CDH17; DPY19L4; ESRP1; FSBP; GEM; INTS8; NDUFAF6; RAD54B; TP53INP1; VIRMA
1	105542113	105689997	2,115	OTOL1; SPTSSB
1	29277151	29436734	2,095	GBE1
2	78778022	78978739	2,026	GYPC
1	104597558	104867474	1,989	-
8	5731679	5887908	1,820	BRINP1; GALNT7; HAND2; HMGB2; SAP30; SCRG1
26	20488825	20621296	1,807	ABCC2; CNM1; COX15; CPN1; CUTC; DNMBP; ENTPD7; ERLIN1; GOT1; NKX2-3; SLC25A28
5	91164171	91313211	1,358	CAPZA3; PIK3C2G; PLCZ1; PLEKHA5
25	520364	769886	1,269	ANTKMT; ARHGDIG; AXIN1; BAIAP3; C1QTNF8; C25H16orf91; CACNA1H; CAPN15; CCDC154; CCDC78; CHTF18; CIAO3; CLCN7; DECR2; FAM234A; FBXL16; GNG13; GNPTG; HAGHL; HBA; HBM; HBQ1; JMJD8; LMF1; LUC7L; MCRIP2; METRN; METTL26; MPG; MRPL28; MSLN; NHLRC4; NME4; NPRL3; PGAP6; PIGQ; PRR35; RAB11FIP3; RAB40C; RGS11; RHBDL1; RHOT2; RPUSD1; SOX8; SSTR5; STUB1; TEKT4; TPSB2; TSR3; UBE2I; UNKL; WDR24; WFIKKN1

Tabela Suplementar 4. Genes na região de 1 Mb das 15 janelas com maior variância genética para o nível de infestação por *Rhipicephalus microplus*.

Identificação do gene	Cro.	Janela		Gene		Nome do gene	Descrição do gene
		Início	Fim	Início	Fim		
ENSBTAG00000000210	1	63736274	64736274	64083127	64203306	ARHGAP31	<i>Rho GTPase activating protein 31</i>
ENSBTAG00000000213	1	63736274	64736274	64211525	64240562	TMEM39A	<i>transmembrane protein 39A</i>
ENSBTAG00000001293	1	63736274	64736274	64451181	64565304	CFAP91	<i>cilia and flagella associated protein 91</i>
ENSBTAG00000001390	1	63736274	64736274	64019141	64049977	B4GALT4	<i>beta-1</i>
ENSBTAG00000002182	1	63736274	64736274	64425088	64432940	COX17	<i>cytochrome c oxidase copper chaperone COX17</i>
ENSBTAG00000005604	1	63736274	64736274	64397770	64415902	POPDC2	<i>popeye domain containing 2</i>
ENSBTAG00000008562	1	63736274	64736274	64246626	64269696	POGLUT1	<i>protein O-glucosyltransferase 1</i>
ENSBTAG00000009014	1	63736274	64736274	63981593	64010650	UPK1B	<i>uroplakin 1B</i>
ENSBTAG00000009391	1	63736274	64736274	64334745	64377235	ADPRH	<i>ADP-ribosylarginine hydrolase</i>
ENSBTAG00000012581	1	63736274	64736274	64275417	64295231	TIMMDC1	<i>translocase of inner mitochondrial membrane domain containing 1</i>
ENSBTAG00000018059	1	63736274	64736274	64301489	64323696	CD80	<i>CD80 molecule</i>
ENSBTAG00000019557	1	63736274	64736274	64606698	64639471	NR1I2	<i>nuclear receptor subfamily 1 group I member 2</i>
ENSBTAG00000045704	1	63736274	64736274	63749635	63892877	IGSF11	<i>immunoglobulin superfamily member 11</i>
ENSBTAG00000048057	1	63736274	64736274	64646190	64861271	GSK3B	<i>glycogen synthase kinase 3 beta</i>
ENSBTAG00000007146	4	66350956	67350956	67029848	67157458	CPVL	<i>carboxypeptidase vitellogenic like</i>
ENSBTAG00000016220	4	66350956	67350956	66423128	66443623	WIPF3	<i>WAS/WASL interacting protein family member 3</i>
ENSBTAG00000016223	4	66350956	67350956	66355254	66421169	SCRN1	<i>secernin 1</i>
ENSBTAG00000018909	4	66350956	67350956	67314290	67752296	CREB5	<i>cAMP responsive element binding protein 5</i>
ENSBTAG00000020931	4	66350956	67350956	66634935	66970909	CHN2	<i>chimerin 2</i>

ENSBTAG00000024340	4	66350956	67350956	67204660	67207092	TRIL	<i>TLR4 interactor with leucine rich repeats</i>
ENSBTAG00000045567	4	66350956	67350956	66608858	66610438	PRR15	<i>proline rich 15</i>
ENSBTAG00000005333	5	73472378	74472378	73814162	73829888	MB	<i>myoglobin</i>
ENSBTAG00000010533	5	73472378	74472378	73508916	73543335	HMGXB4	<i>HMG-box containing 4</i>
ENSBTAG00000015582	5	73472378	74472378	73623293	73630548	HMOX1	<i>heme oxygenase 1</i>
ENSBTAG00000015595	5	73472378	74472378	73633313	73651860	MCM5	<i>minichromosome maintenance complex component 5</i>
ENSBTAG00000017116	5	73472378	74472378	73749045	73760542	RASD2	<i>RASD family member 2</i>
ENSBTAG00000020125	5	73472378	74472378	73899444	74189188	RBFOX2	<i>RNA binding fox-1 homolog 2</i>
ENSBTAG00000045785	5	73472378	74472378	73547847	73588700	TOM1	<i>target of myb1 membrane trafficking protein</i>
ENSBTAG00000002993	9	100940585	101940585	101304152	101319276	SFT2D1	<i>SFT2 domain containing 1</i>
ENSBTAG00000014494	9	100940585	101940585	101760237	101777925	RNASET2	<i>ribonuclease T2</i>
ENSBTAG00000014495	9	100940585	101940585	101818057	101845437	CEP43	<i>centrosomal protein 43</i>
ENSBTAG00000014496	9	100940585	101940585	101910811	101926256	CCR6	<i>C-C motif chemokine receptor 6</i>
ENSBTAG00000014497	9	100940585	101940585	101940497	101941435	GPR31	<i>G protein-coupled receptor 31</i>
ENSBTAG00000018681	9	100940585	101940585	101151142	101160469	TBXT	<i>T-box transcription factor T</i>
ENSBTAG00000021741	9	100940585	101940585	101395794	101728198	RPS6KA2	<i>ribosomal protein S6 kinase A2</i>
ENSBTAG00000027879	9	100940585	101940585	101357585	101370280	MPC1	<i>mitochondrial pyruvate carrier 1</i>
ENSBTAG00000002179	10	32193261	33193261	32243797	32473979	CDIN1	<i>CDAN1 interacting nuclease 1</i>
ENSBTAG00000003172	10	32193261	33193261	32547550	32770681	MEIS2	<i>Meis homeobox 2</i>
ENSBTAG00000003588	14	80453033	81453033	80864110	80888123	ZFAND1	<i>zinc finger AN1-type containing 1</i>
ENSBTAG00000004792	14	80453033	81453033	80824602	80853922	CHMP4C	<i>charged multivesicular body protein 4C</i>
ENSBTAG00000011709	14	80453033	81453033	80902821	80922354	IMPA1	<i>inositol monophosphatase 1</i>
ENSBTAG00000013165	14	80453033	81453033	80982673	81117148	ENPP2	<i>ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2</i>

ENSBTAG00000015333	14	80453033	81453033	81173271	81261605	TAF2	<i>TATA-box binding protein associated factor 2</i>
ENSBTAG00000015338	14	80453033	81453033	81263986	81276602	DSCC1	<i>DNA replication and sister chromatid cohesion 1</i>
ENSBTAG00000015341	14	80453033	81453033	81286703	81439669	DEPTOR	<i>DEP domain containing MTOR interacting protein</i>
ENSBTAG00000019639	14	80453033	81453033	80762499	80798452	SNX16	<i>sorting nexin 16</i>
ENSBTAG00000020523	14	80453033	81453033	80891013	80892329	SLC10A5	<i>solute carrier family 10 member 5</i>
ENSBTAG00000000977	15	25151292	26151292	25721022	26071036	CADM1	<i>cell adhesion molecule 1</i>
ENSBTAG00000002302	15	64318599	65318599	64346582	64368108	CD59	<i>CD59 molecule</i>
ENSBTAG00000005923	15	64318599	65318599	64746521	64932891	ABTB2	<i>ankyrin repeat and BTB domain containing 2</i>
ENSBTAG00000006951	15	64318599	65318599	64472394	64485114	LMO2	<i>LIM domain only 2</i>
ENSBTAG00000010071	15	64318599	65318599	64374161	64408465	FBXO3	<i>F-box protein 3</i>
ENSBTAG00000012460	15	64318599	65318599	65019976	65067265	ELF5	<i>E74 like ETS transcription factor 5</i>
ENSBTAG00000016744	15	64318599	65318599	64661600	64697021	CAPRIN1	<i>cell cycle associated protein 1</i>
ENSBTAG00000016747	15	64318599	65318599	64702013	64740844	NAT10	<i>N-acetyltransferase 10</i>
ENSBTAG00000017150	15	64318599	65318599	65186293	65227768	EHF	<i>ETS homologous factor</i>
ENSBTAG00000020980	15	64318599	65318599	64975271	65011223	CAT	<i>catalase</i>
ENSBTAG00000027577	15	64318599	65318599	64332509	64334453	C15H11orf91	<i>chromosome 15 C11orf91 homolog</i>
ENSBTAG00000031362	15	25151292	26151292	25175647	25188639	NXPE2	<i>neurexophilin and PC-esterase domain family member 2</i>
ENSBTAG00000002408	16	51826967	52826967	52086460	52251893	FHAD1	<i>forkhead associated phosphopeptide binding domain 1</i>
ENSBTAG00000002472	16	51826967	52826967	52000725	52023460	CASP9	<i>caspase 9</i>
ENSBTAG00000002476	16	51826967	52826967	51959038	51998821	DNAJC16	<i>DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C16</i>
ENSBTAG00000002478	16	51826967	52826967	51949575	51958274	AGMAT	<i>agmatinase</i>
ENSBTAG00000005300	16	51826967	52826967	52283707	52343027	TMEM51	<i>transmembrane protein 51</i>

ENSBTAG00000009048	16	51826967	52826967	52057202	52075315	EFHD2	<i>EF-hand domain family member D2</i>
ENSBTAG00000015606	16	51826967	52826967	52389243	52403213	KAZN	<i>kazrin</i>
ENSBTAG00000018722	16	51826967	52826967	51825824	51865648	PLEKHM2	<i>pleckstrin homology and RUN domain containing M2</i>
ENSBTAG00000024496	16	51826967	52826967	52022459	52038878	CELA2A	<i>chymotrypsin-like elastase family</i>
ENSBTAG00000024497	16	51826967	52826967	52045644	52053426	CTRC	<i>chymotrypsin C</i>
ENSBTAG00000000067	17	71497535	72497535	72112056	72114638	SDF2L1	<i>stromal cell derived factor 2 like 1</i>
ENSBTAG00000001325	17	71497535	72497535	71518122	71544778	UPB1	<i>beta-ureidopropionase 1</i>
ENSBTAG00000002130	17	71497535	72497535	72403730	72419364	SMPD4	<i>sphingomyelin phosphodiesterase 4</i>
ENSBTAG00000005951	17	71497535	72497535	72191445	72195702	HIC2	<i>HIC ZBTB transcriptional repressor 2</i>
ENSBTAG00000006173	17	71497535	72497535	72117340	72121854	CCDC116	<i>coiled-coil domain containing 116</i>
ENSBTAG00000006938	17	71497535	72497535	71967760	71987213	PPM1F	<i>protein phosphatase</i>
ENSBTAG00000009145	17	71497535	72497535	72369764	72376047	SLC7A4	<i>solute carrier family 7 member 4</i>
ENSBTAG00000010312	17	71497535	72497535	71998213	72053367	MAPK1	<i>mitogen-activated protein kinase 1</i>
ENSBTAG00000011292	17	71497535	72497535	72327212	72339983	LZTR1	<i>leucine zipper like transcription regulator 1</i>
ENSBTAG00000013036	17	71497535	72497535	72124049	72126076	YDJC	<i>YdjC chitooligosaccharide deacetylase homolog</i>
ENSBTAG00000013038	17	71497535	72497535	72129021	72153652	UBE2L3	<i>ubiquitin conjugating enzyme E2 L3</i>
ENSBTAG00000013971	17	71497535	72497535	72208853	72268526	PI4KA	<i>phosphatidylinositol 4-kinase alpha</i>
ENSBTAG00000013973	17	71497535	72497535	72232163	72238762	SERPIND1	<i>serpin family D member 1</i>
ENSBTAG00000014646	17	71497535	72497535	72399346	72403587	MZT2B	<i>mitotic spindle organizing protein 2B</i>
ENSBTAG00000016944	17	71497535	72497535	71592531	71608102	ADORA2A	<i>adenosine A2a receptor</i>
ENSBTAG00000017277	17	71497535	72497535	71800734	71808096	RAB36	<i>RAB36</i>
ENSBTAG00000017867	17	71497535	72497535	72078583	72082958	YPEL1	<i>yippee like 1</i>
ENSBTAG00000018048	17	71497535	72497535	72431576	72476026	MED15	<i>mediator complex subunit 15</i>

ENSBTAG00000019244	17	71497535	72497535	72363090	72372252	P2RX6	<i>purinergic receptor P2X 6</i>
ENSBTAG00000020161	17	71497535	72497535	72491752	72505789	KLHL22	<i>kelch like family member 22</i>
ENSBTAG00000020566	17	71497535	72497535	71710952	71794863	BCR	<i>BCR activator of RhoGEF and GTPase</i>
ENSBTAG00000020760	17	71497535	72497535	72268871	72277819	SNAP29	<i>synaptosome associated protein 29</i>
ENSBTAG00000021121	17	71497535	72497535	72082606	72100535	PPIL2	<i>peptidylprolyl isomerase like 2</i>
ENSBTAG00000021262	17	71497535	72497535	71496420	71513527	SNRPD3	<i>small nuclear ribonucleoprotein D3 polypeptide</i>
ENSBTAG00000021656	17	71497535	72497535	71612407	71698165	SPECC1L	<i>sperm antigen with calponin homology and coiled-coil domains 1 like</i>
ENSBTAG00000022022	17	71497535	72497535	71503858	71515630	GUCD1	<i>guanylyl cyclase domain containing 1</i>
ENSBTAG00000030979	17	71497535	72497535	72342836	72348560	TUBA3E	<i>tubulin</i>
ENSBTAG00000036113	17	71497535	72497535	71816210	71864794	RSPH14	<i>radial spoke head 14 homolog</i>
ENSBTAG00000038132	17	71497535	72497535	72313147	72326846	AIFM3	<i>apoptosis inducing factor mitochondria associated 3</i>
ENSBTAG00000038258	17	71497535	72497535	72394831	72398818	TUBA3C	<i>tubulin alpha-3 chain</i>
ENSBTAG00000044198	17	71497535	72497535	72340278	72342373	THAP7	<i>THAP domain containing 7</i>
ENSBTAG00000045548	17	71497535	72497535	72288644	72307365	CRKL	<i>CRK like proto-oncogene</i>
ENSBTAG00000047664	17	71497535	72497535	71827754	71856313	GNAZ	<i>G protein subunit alpha z</i>
ENSBTAG00000052191	17	71497535	72497535	71948002	71948581	VPREB1	<i>V-set pre-B cell surrogate light chain 1</i>
ENSBTAG00000053023	17	71497535	72497535	72350416	72362237	LRRC74B	<i>leucine rich repeat containing 74B</i>
ENSBTAG00000053372	17	71497535	72497535	71951343	71966904	TOP3B	<i>DNA topoisomerase III beta</i>
ENSBTAG00000055118	17	71497535	72497535	71937296	71941206	VPREB1	<i>pre-B lymphocyte 1</i>
ENSBTAG00000000827	19	20321204	21321204	20700379	20801731	TAOK1	<i>TAO kinase 1</i>
ENSBTAG00000001119	19	20321204	21321204	20847902	20864213	ANKRD13B	<i>ankyrin repeat domain 13B</i>
ENSBTAG00000001120	19	20321204	21321204	20865348	20873587	CORO6	<i>coronin 6</i>
ENSBTAG00000005352	19	20321204	21321204	20576451	20591495	CRYBA1	<i>crystallin beta A1</i>

ENSBTAG00000007946	19	20321204	21321204	20406351	20419985	PIPOX	<i>pipecolic acid and sarcosine oxidase</i>
ENSBTAG00000011011	19	20321204	21321204	20882415	21124185	SSH2	<i>slingshot protein phosphatase 2</i>
ENSBTAG00000012040	19	20321204	21321204	20829405	20843830	GIT1	<i>GIT ArfGAP 1</i>
ENSBTAG00000014687	19	20321204	21321204	20823068	20828587	TP53I13	<i>tumor protein p53 inducible protein 13</i>
ENSBTAG00000015979	19	20321204	21321204	20320602	20368883	SEZ6	<i>seizure related 6 homolog</i>
ENSBTAG00000017380	19	20321204	21321204	20436390	20467849	MYO18A	<i>myosin XVIIIa</i>
ENSBTAG00000019122	19	20321204	21321204	21175356	21193833	EFCAB5	<i>EF-hand calcium binding domain 5</i>
ENSBTAG00000019341	19	20321204	21321204	21237162	21283030	NSRP1	<i>nuclear speckle splicing regulatory protein 1</i>
ENSBTAG00000019349	19	20321204	21321204	21290410	21323440	SLC6A4	<i>solute carrier family 6 member 4</i>
ENSBTAG00000025167	19	20321204	21321204	20816663	20821639	ABHD15	<i>abhydrolase domain containing 15</i>
ENSBTAG00000033077	19	20321204	21321204	20612946	20620127	NUFIP2	<i>nuclear FMR1 interacting protein 2</i>
ENSBTAG00000003066	20	5964287	6964287	6742915	6750047	NSA2	<i>NSA2 ribosome biogenesis homolog (S. cerevisiae)</i>
ENSBTAG00000013873	20	5964287	6964287	6444184	6449312	MSX2	<i>msh homeobox 2</i>
ENSBTAG00000015512	20	5964287	6964287	6801767	6834107	HEXB	<i>hexosaminidase subunit beta</i>
ENSBTAG00000015519	20	5964287	6964287	6750176	6801800	GFM2	<i>GTP dependent ribosome recycling factor mitochondrial 2</i>
ENSBTAG00000016002	20	5964287	6964287	6676797	6738543	FAM169A	<i>family with sequence similarity 169 member A</i>
ENSBTAG00000026369	20	5964287	6964287	6918477	6930788	ENC1	<i>ectodermal-neural cortex 1</i>
ENSBTAG00000000791	26	24898210	25898210	25666273	25678297	CALY	<i>calcyon neuron specific vesicular protein</i>
ENSBTAG00000003027	26	37573022	38573022	37830786	37837033	EMX2	<i>empty spiracles homeobox 2</i>
ENSBTAG00000004612	26	24898210	25898210	25203123	26181296	SORCS3	<i>sortilin related VPS10 domain containing receptor 3</i>
ENSBTAG00000004739	26	37573022	38573022	37562768	37602774	SLC18A2	<i>solute carrier family 18 member A2</i>
ENSBTAG00000005715	26	24898210	25898210	25645862	25648860	FUOM	<i>fucose mutarotase</i>

ENSBTAG00000006395	26	24898210	25898210	25714368	25732401	TUBGCP2	<i>tubulin gamma complex associated protein 2</i>
ENSBTAG00000007243	26	24898210	25898210	24916176	25021513	CFAP58	<i>cilia and flagella associated protein 58</i>
ENSBTAG00000007460	26	37573022	38573022	38279319	38320494	RAB11FIP2	<i>RAB11 family interacting protein 2</i>
ENSBTAG00000011401	26	37573022	38573022	37606719	37687376	PDZD8	<i>PDZ domain containing 8</i>
ENSBTAG00000012416	26	24898210	25898210	25709778	25714347	ZNF511	<i>zinc finger protein 511</i>
ENSBTAG00000013717	26	24898210	25898210	25654916	25658688	PRAP1	<i>proline rich acidic protein 1</i>
ENSBTAG00000017710	26	24898210	25898210	25629515	25638721	ECHS1	<i>enoyl-CoA hydratase</i>
ENSBTAG00000018321	26	24898210	25898210	25600415	25628907	PAOX	<i>polyamine oxidase</i>
ENSBTAG00000020304	26	24898210	25898210	25587524	25599939	MTG1	<i>mitochondrial ribosome associated GTPase 1</i>
ENSBTAG00000023832	26	24898210	25898210	25733217	25745433	ADAM8	<i>ADAM metalloproteinase domain 8</i>
ENSBTAG00000047474	26	24898210	25898210	25584171	25585605	SPRN	<i>shadow of prion protein</i>

Tabela Suplementar 5. Genes na região de 1 Mb das 15 janelas com maior variância genética para o nível de infecção por *Babesia bigemina*.

ID do gene	Cro.	Janela		Gene		Nome do gene	Descrição do gene
		Início	Fim	Início	Fim		
ENSBTAG00000003851	1	109704527	110704527	110447554	110461439	CCNL1	<i>cyclin L1</i>
ENSBTAG00000009012	1	109704527	110704527	110158198	110164262	PTX3	<i>pentraxin 3</i>
ENSBTAG00000024643	1	109704527	110704527	110066582	110342096	VEPH1	<i>ventricular zone expressed PH domain containing 1</i>
ENSBTAG00000000532	3	105091365	106091365	105632530	105644310	EXO5	<i>exonuclease 5</i>
ENSBTAG00000000533	3	105091365	106091365	105615007	105622276	ZNF684	<i>zinc finger protein 684</i>
ENSBTAG00000001626	3	105091365	106091365	105201098	105280146	CTPS1	<i>CTP synthase 1</i>
ENSBTAG00000001628	3	105091365	106091365	105195223	105198693	SLFNL1	<i>schlafen like 1</i>
ENSBTAG00000001629	3	105091365	106091365	104965053	105188608	SCMH1	<i>Scm polycomb group protein homolog 1</i>
ENSBTAG00000002644	3	105091365	106091365	105375258	105433489	KCNQ4	<i>potassium voltage-gated channel subfamily Q member 4</i>
ENSBTAG00000013363	3	105091365	106091365	106037116	106066200	CAP1	<i>cyclase associated actin cytoskeleton regulatory protein 1</i>
ENSBTAG00000013367	3	105091365	106091365	106020188	106037050	PPT1	<i>palmitoyl-protein thioesterase 1</i>
ENSBTAG00000015113	3	105091365	106091365	105348797	105350137	CITED4	<i>Cbp/p300 interacting transactivator with Glu/Asp rich carboxy-terminal domain 4</i>
ENSBTAG00000018726	3	105091365	106091365	105547552	105567515	RIMS3	<i>regulating synaptic membrane exocytosis 3</i>
ENSBTAG00000019695	3	105091365	106091365	105894662	105974325	RLF	<i>RLF zinc finger</i>
ENSBTAG00000019698	3	105091365	106091365	105884724	105887360	TMCO2	<i>transmembrane and coiled-coil domains 2</i>
ENSBTAG00000020622	3	105091365	106091365	105807211	105810027	COL9A2	<i>collagen type IX alpha 2 chain</i>
ENSBTAG00000021922	3	105091365	106091365	105710017	105757346	SMAP2	<i>small ArfGAP2</i>
ENSBTAG00000021943	3	105091365	106091365	105445057	105510073	NFYC	<i>nuclear transcription factor Y subunit gamma</i>

ENSBTAG00000039287	3	105091365	106091365	105658238	105673151	ZFP69	<i>ZFP69 zinc finger protein</i>
ENSBTAG00000044178	3	105091365	106091365	105824376	105867157	ZMPSTE24	<i>zinc metalloproteinase STE24</i>
ENSBTAG00000021941	4	115903816	116903816	116115071	116898738	DPP6	<i>dipeptidyl peptidase like 6</i>
ENSBTAG00000004010	8	104651504	105651504	105351900	105612449	PAPPA	<i>pappalysin 1</i>
ENSBTAG00000025667	8	104651504	105651504	105642638	106693624	ASTN2	<i>astrotactin 2</i>
ENSBTAG00000001598	9	74139298	75139298	74359538	74536882	MAP7	<i>microtubule associated protein 7</i>
ENSBTAG00000007799	9	74139298	75139298	74232905	74250570	MTFR2	<i>mitochondrial fission regulator 2</i>
ENSBTAG00000007802	9	74139298	75139298	74258878	74287498	BCLAF1	<i>BCL2 associated transcription factor 1</i>
ENSBTAG00000009065	9	74139298	75139298	74542301	74770948	MAP3K5	<i>mitogen-activated protein kinase kinase 5</i>
ENSBTAG00000012544	9	74139298	75139298	75081985	75106375	IFNGR1	<i>interferon gamma receptor 1</i>
ENSBTAG00000015638	9	74139298	75139298	74969097	75002580	IL20RA	<i>interleukin 20 receptor subunit alpha</i>
ENSBTAG00000015888	9	74139298	75139298	73847489	74193822	PDE7B	<i>phosphodiesterase 7B</i>
ENSBTAG00000016791	9	74139298	75139298	74805000	74883599	PEX7	<i>peroxisomal biogenesis factor 7</i>
ENSBTAG00000016793	9	74139298	75139298	74889556	74892763	SLC35D3	<i>solute carrier family 35 member D3</i>
ENSBTAG00000017000	9	74139298	75139298	75054085	75074492	IL22RA2	<i>interleukin 22 receptor subunit alpha 2</i>
ENSBTAG00000002361	16	2025963	3025963	3006671	3044514	TMCC2	<i>transmembrane and coiled-coil domain family 2</i>
ENSBTAG00000004641	16	2025963	3025963	1986639	2125248	PLEKHA6	<i>pleckstrin homology domain containing A6</i>
ENSBTAG00000006255	16	2025963	3025963	2255641	2292885	MDM4	<i>MDM4 regulator of p53</i>
ENSBTAG00000009111	16	2025963	3025963	2358407	2419458	LRRN2	<i>leucine rich repeat neuronal 2</i>
ENSBTAG00000013074	16	2025963	3025963	2151478	2156646	PPP1R15B	<i>protein phosphatase 1 regulatory subunit 15B</i>
ENSBTAG00000014645	16	2025963	3025963	2825767	2858770	CNTN2	<i>contactin 2</i>
ENSBTAG00000015945	16	2025963	3025963	2861873	2864026	TMEM81	<i>transmembrane protein 81</i>
ENSBTAG00000015946	16	2025963	3025963	2866469	2905597	RBBP5	<i>RB binding protein 5</i>

ENSBTAG00000016618	16	2025963	3025963	2935604	2985029	DSTYK	dual serine/threonine and tyrosine protein kinase
ENSBTAG00000024633	16	2025963	3025963	2164207	2241919	PIK3C2B	phosphatidylinositol-4-phosphate kinase catalytic subunit t 2 beta
ENSBTAG00000045895	16	2025963	3025963	2608815	2800803	NFASC	neurofascin
ENSBTAG00000001356	17	13771635	14771635	14683018	14716484	USP38	ubiquitin specific peptidase 38
ENSBTAG00000002813	17	13771635	14771635	14421800	14549193	GAB1	GRB2 associated binding protein 1
ENSBTAG00000003399	17	13771635	14771635	14342769	14380566	SMARCA5	SWI/SNF related
ENSBTAG00000039325	17	13771635	14771635	14040368	14066548	GYPA	glycophorin A (MNS blood group)
ENSBTAG00000047331	17	13771635	14771635	14115218	14143540	GYPB	glycophorin B
ENSBTAG00000002676	18	53972145	54972145	54170188	54232475	SAE1	SUMO1 activating enzyme subunit 1
ENSBTAG00000004138	18	53972145	54972145	54601126	54622191	BICRA	BRD4 interacting chromatin remodeling complex associated protein
ENSBTAG00000006848	18	53972145	54972145	54344182	54371183	DHX34	DExH-box helicase 34
ENSBTAG00000006862	18	53972145	54972145	54379821	54397189	MEIS3	Meis homeobox 3
ENSBTAG00000009286	18	53972145	54972145	54113875	54149783	ZC3H4	zinc finger CCCH-type containing 4
ENSBTAG00000010856	18	53972145	54972145	54413384	54446250	SLC8A2	solute carrier family 8 member A2
ENSBTAG00000012606	18	53972145	54972145	54494035	54508720	ZNF541	zinc finger protein 541
ENSBTAG00000013084	18	53972145	54972145	54459647	54487500	NAPA	NSF attachment protein alpha
ENSBTAG00000014117	18	53972145	54972145	54269145	54282523	CCDC9	coiled-coil domain containing 9
ENSBTAG00000014595	18	53972145	54972145	54865681	54893345	LIG1	DNA ligase 1
ENSBTAG00000014597	18	53972145	54972145	54894408	54916962	ZSWIM9	zinc finger SWIM-type containing 9
ENSBTAG00000015543	18	53972145	54972145	53947301	54062545	ARHGAP35	Rho GTPase activating protein 35
ENSBTAG00000015576	18	53972145	54972145	54078441	54094359	NPAS1	neuronal PAS domain protein 1
ENSBTAG00000015579	18	53972145	54972145	54094492	54097330	TMEM160	transmembrane protein 160
ENSBTAG00000016113	18	53972145	54972145	54837596	54846628	ELSPBP1	epididymal sperm binding protein 1

ENSBTAG00000016114	18	53972145	54972145	54852586	54861884	CABP5	<i>calcium binding protein 5</i>
ENSBTAG00000020872	18	53972145	54972145	54313941	54328002	C5AR1	<i>complement C5a receptor 1</i>
ENSBTAG00000021185	18	53972145	54972145	54704534	54716131	CRX	<i>cone-rod homeobox</i>
ENSBTAG00000021191	18	53972145	54972145	54627967	54646687	EHD2	<i>EH domain containing 2</i>
ENSBTAG00000021192	18	53972145	54972145	54647475	54657052	NOP53	<i>NOP53 ribosome biogenesis factor</i>
ENSBTAG00000023419	18	53972145	54972145	54731844	54750238	SULT2A1	<i>sulfotransferase family</i>
ENSBTAG00000030769	18	53972145	54972145	54448493	54458165	KPTN	<i>kaptin</i>
ENSBTAG00000037735	18	53972145	54972145	54337816	54342561	C5AR2	<i>complement component 5a receptor 2</i>
ENSBTAG00000053132	18	53972145	54972145	54282903	54283340	INAFM1	<i>InaF motif containing 1</i>
ENSBTAG00000000205	19	4879284	5879284	5612909	5642391	MMD	<i>monocyte to macrophage differentiation associated</i>
ENSBTAG00000004449	19	6704565	7704565	7651698	7676942	DGKE	<i>diacylglycerol kinase epsilon</i>
ENSBTAG00000006618	19	4879284	5879284	5491500	5544055	HLF	<i>HLF transcription factor</i>
ENSBTAG00000007013	19	4879284	5879284	5021192	5083084	TOM1L1	<i>target of myb1 like 1 membrane trafficking protein</i>
ENSBTAG00000007015	19	4879284	5879284	5083534	5090035	COX11	<i>cytochrome c oxidase copper chaperone COX11</i>
ENSBTAG00000009948	19	6704565	7704565	7676446	7737220	TRIM25	<i>tripartite motif containing 25</i>
ENSBTAG00000016078	19	4879284	5879284	5115956	5315869	STXBP4	<i>syntaxin binding protein 4</i>
ENSBTAG00000035147	19	6704565	7704565	7612667	7637250	C19H17orf67	<i>chromosome 19 C17orf67 homolog</i>
ENSBTAG00000040282	19	6704565	7704565	7389042	7389740	NOG	<i>noggin</i>
ENSBTAG00000047543	21	18453627	19453627	18837293	19260319	NTRK3	<i>neurotrophic receptor tyrosine kinase 3</i>
ENSBTAG00000002038	22	13160081	14160081	13292655	13296110	RPL14	<i>ribosomal protein L14</i>
ENSBTAG00000011702	22	13160081	14160081	13227438	13261914	ENTPD3	<i>ectonucleoside diphosphohydrolase 3</i> <i>triphosphate</i>
ENSBTAG00000016420	22	13160081	14160081	13798884	13845848	CTNNB1	<i>catenin beta 1</i>
ENSBTAG00000018057	22	13160081	14160081	13325988	13336394	ZNF621	<i>zinc finger protein 621</i>

ENSBTAG00000019106	22	13160081	14160081	13170136	13172696	EIF1B	<i>eukaryotic translation initiation factor 1B</i>
ENSBTAG00000051466	22	13160081	14160081	13851219	14373037	ULK4	<i>unc-51 like kinase 4</i>
ENSBTAG00000053485	22	13160081	14160081	13302897	13310529	ZNF619	<i>zinc finger protein 619</i>
ENSBTAG00000001440	25	7036685	8036685	7652895	7683013	PMM2	<i>phosphomannomutase 2</i>
ENSBTAG00000004038	25	7036685	8036685	7551536	7641455	ABAT	<i>4-aminobutyrate aminotransferase</i>
ENSBTAG00000005455	25	7036685	8036685	7721211	7774425	USP7	<i>ubiquitin specific peptidase 7</i>
ENSBTAG00000013858	25	7036685	8036685	7883250	7907314	C25H16orf72	<i>chromosome 25 C16orf72 homolog</i>
ENSBTAG00000022530	25	7036685	8036685	7650091	7652689	TMEM186	<i>transmembrane protein 186</i>
ENSBTAG00000026381	25	7036685	8036685	7467949	7484414	TMEM114	<i>transmembrane protein 114</i>
ENSBTAG00000035782	25	7036685	8036685	7517216	7536058	METTL22	<i>methyltransferase like 22</i>
ENSBTAG00000048459	25	7036685	8036685	7685014	7698309	CARHSP1	<i>calcium regulated heat stable protein 1</i>

Tabela Suplementar 6. Genes na região de 1 Mb das 15 janelas com maior variância genética para o nível de infestação por *Babesia bovis*.

Identificação do gene	Cro.	Janela		Gene		Nome do gene	Descrição do gene
		Início	Fim	Início	Fim		
ENSBTAG00000036262	1	28856943	29856943	29107326	29419066	GBE1	<i>1,4-alpha-glucan branching enzyme 1</i>
ENSBTAG00000018489	1	105042113	106189997	105877308	105908063	OTOL1	<i>otolin 1</i>
ENSBTAG00000049223	1	105042113	106189997	106028381	106057292	SPTSSB	<i>serine palmitoyltransferase small subunit B</i>
ENSBTAG00000014863	2	78378381	79378381	78885394	78934052	GYPC	<i>glycophorin C</i>
ENSBTAG00000013202	5	90738691	91738691	91335807	91384524	PLCZ1	<i>phospholipase C zeta 1</i>
ENSBTAG00000013207	5	90738691	91738691	91334674	91335759	CAPZA3	<i>capping actin protein of muscle Z-line subunit alpha 3</i>
ENSBTAG00000017571	5	90738691	91738691	90600602	90862839	PLEKHA5	<i>pleckstrin homology domain containing A5</i>
ENSBTAG00000020715	5	90738691	91738691	91399521	91842738	PIK3C2G	<i>phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 gamma</i>
ENSBTAG00000012535	8	5309794	6309794	5783455	5795853	SCRG1	<i>stimulator of chondrogenesis 1</i>
ENSBTAG00000015101	8	5309794	6309794	5735151	5737485	HMGB2	<i>high mobility group box 2</i>
ENSBTAG00000015578	8	5309794	6309794	5761207	5766834	SAP30	<i>Sin3A associated protein 30</i>
ENSBTAG00000015936	8	108341011	109341011	108636487	108834428	BRINP1	<i>BMP/retinoic acid inducible neural specific 1</i>
ENSBTAG00000016845	8	5309794	6309794	5591834	5726979	GALNT7	<i>polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 7</i>
ENSBTAG00000044123	8	5309794	6309794	5898320	5901264	HAND2	<i>heart and neural crest derivatives expressed 2</i>
ENSBTAG00000000992	11	66750308	67750308	67211523	67219184	BMP10	<i>bone morphogenetic protein 10</i>
ENSBTAG00000003965	11	3404470	4404470	4311242	4314128	LIPT1	<i>lipoyltransferase 1</i>
ENSBTAG00000004544	11	3404470	4404470	4443235	4454741	TXNDC9	<i>thioredoxin domain containing 9</i>
ENSBTAG00000003970	11	3404470	4404470	4320918	4336873	MITD1	<i>microtubule interacting and trafficking domain containing 1</i>

ENSBTAG00000004814	11	3404470	4404470	3650777	3769745	INPP4A	<i>inositol polyphosphate-4-phosphatase type I A</i>
ENSBTAG00000007808	11	66750308	67750308	67359790	67615063	ANTXR1	<i>ANTXR cell adhesion molecule 1</i>
ENSBTAG00000009658	11	66750308	67750308	66786975	66814889	PLEK	<i>pleckstrin</i>
ENSBTAG00000010388	11	3404470	4404470	3840888	3956079	MGAT4A	<i>alpha-1</i>
ENSBTAG00000012949	11	66750308	67750308	67308836	67314682	GKN1	<i>gastrokine 1</i>
ENSBTAG00000014873	11	3404470	4404470	3790084	3824582	COA5	<i>cytochrome c oxidase assembly factor 5</i>
ENSBTAG00000014877	11	3404470	4404470	3824075	3834738	UNC50	<i>unc-50 inner nuclear membrane RNA binding protein</i>
ENSBTAG00000017199	11	66750308	67750308	67286584	67291599	GKN2	<i>gastrokine 2</i>
ENSBTAG00000017626	11	66750308	67750308	67708302	67766635	GFPT1	<i>glutamine--fructose-6-phosphate transaminase 1</i>
ENSBTAG00000018401	11	66750308	67750308	66865277	66958571	APLF	<i>aprataxin and PNKP like factor</i>
ENSBTAG00000018991	11	3404470	4404470	4203832	4296700	TSGA10	<i>testis specific 10</i>
ENSBTAG00000023976	11	66750308	67750308	67091343	67183466	ARHGAP25	<i>Rho GTPase activating protein 25</i>
ENSBTAG00000034384	11	3404470	4404470	3393891	3560303	VWA3B	<i>von Willebrand factor A domain containing 3B</i>
ENSBTAG00000038835	11	66750308	67750308	67271674	67278790	GKN3P	<i>gastrokine-3</i>
ENSBTAG00000038949	11	3404470	4404470	4336948	4351724	MRPL30	<i>mitochondrial ribosomal protein L30</i>
ENSBTAG00000047772	11	66750308	67750308	66861857	66865204	FBXO48	<i>F-box protein 48</i>
ENSBTAG00000048207	11	3404470	4404470	4304516	4304941	C2orf15	<i>chromosome 11 C2orf15 homolog</i>
ENSBTAG00000050333	11	66750308	67750308	67001028	67025387	PROKR1	<i>prokineticin receptor 1</i>
ENSBTAG00000054062	11	3404470	4404470	3599748	3620746	CNGA3	<i>cyclic nucleotide gated channel subunit alpha 3</i>
ENSBTAG00000054686	11	3404470	4404470	4040004	4171264	CRACDL	<i>CRACD like</i>
ENSBTAG00000000632	14	69296832	70296832	69858330	69976418	RAD54B	<i>RAD54 homolog B</i>
ENSBTAG000000003789	14	69296832	70296832	69781691	69846027	VIRMA	<i>vir like m6A methyltransferase associated</i>
ENSBTAG000000004902	14	69296832	70296832	69460845	69505807	INTS8	<i>integrator complex subunit 8</i>
ENSBTAG000000004906	14	69296832	70296832	69448183	69460811	CCNE2	<i>cyclin E2</i>

ENSBTAG00000007570	14	69296832	70296832	69265371	69301594	NDUFAF6	<i>NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 6</i>
ENSBTAG00000007596	14	69296832	70296832	70066731	70080523	GEM	<i>GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle</i>
ENSBTAG00000013621	14	69296832	70296832	69526133	69588076	DPY19L4	<i>dpy-19 like 4</i>
ENSBTAG00000021838	14	69296832	70296832	69602149	69660461	ESRP1	<i>epithelial splicing regulatory protein 1</i>
ENSBTAG00000021964	14	69296832	70296832	70104355	70207101	CDH17	<i>cadherin 17</i>
ENSBTAG00000024984	14	69296832	70296832	69906195	69910872	FSBP	<i>fibrinogen silencer binding protein</i>
ENSBTAG00000055158	14	69296832	70296832	69402340	69412215	TP53INP1	<i>tumor protein p53 inducible nuclear protein 1</i>
ENSBTAG00000000638	18	13731060	14731060	14008412	14012515	CDT1	<i>chromatin licensing and DNA replication factor 1</i>
ENSBTAG00000000639	18	13731060	14731060	14013051	14015824	APRT	<i>adenine phosphoribosyltransferase</i>
ENSBTAG00000001904	18	13731060	14731060	14593024	14607123	ZNF276	<i>zinc finger protein 276</i>
ENSBTAG00000001906	18	13731060	14731060	14606881	14644928	FANCA	<i>FA complementation group A</i>
ENSBTAG00000004568	18	13731060	14731060	14016352	14032348	GALNS	<i>galactosamine (N-acetyl)-6-sulfatase</i>
ENSBTAG00000010927	18	13731060	14731060	14051588	14127897	CBFA2T3	<i>CBFA2/RUNX1 partner transcriptional co-repressor 3</i>
ENSBTAG00000011530	18	13731060	14731060	14257853	14277025	CDH15	<i>cadherin 15</i>
ENSBTAG00000011533	18	13731060	14731060	14277507	14282248	SLC22A31	<i>solute carrier family 22 member 31</i>
ENSBTAG00000012041	18	13731060	14731060	14463306	14484611	SPG7	<i>SPG7 matrix AAA peptidase subunit</i>
ENSBTAG00000012044	18	13731060	14731060	14490263	14492655	RPL13	<i>ribosomal protein L13</i>
ENSBTAG00000012059	18	13731060	14731060	13893902	13900564	MVD	<i>mevalonate diphosphate decarboxylase</i>
ENSBTAG00000012102	18	13731060	14731060	14681557	14704281	TCF25	<i>transcription factor 25</i>
ENSBTAG00000012215	18	13731060	14731060	14500473	14512698	CPNE7	<i>copine 7</i>
ENSBTAG00000015766	18	13731060	14731060	13720107	13781533	ZFPM1	<i>zinc finger protein</i>
ENSBTAG00000015968	18	13731060	14731060	14203972	14248441	ACSF3	<i>acyl-CoA synthetase family member 3</i>
ENSBTAG00000016006	18	13731060	14731060	14327315	14446553	ANKRD11	<i>ankyrin repeat domain 11</i>

ENSBTAG00000017528	18	13731060	14731060	13911498	13919763	SNAI3	<i>snail family transcriptional repressor 3</i>
ENSBTAG00000019184	18	13731060	14731060	14032588	14038555	TRAPPC2L	<i>trafficking protein particle complex 2 like</i>
ENSBTAG00000019520	18	13731060	14731060	13834154	13877327	ZC3H18	<i>zinc finger CCCH-type containing 18</i>
ENSBTAG00000020942	18	13731060	14731060	13924376	13932707	RNF166	<i>ring finger protein 166</i>
ENSBTAG00000020943	18	13731060	14731060	13919854	13939801	CTU2	<i>cytosolic thiouridylase subunit 2</i>
ENSBTAG00000020944	18	13731060	14731060	13938926	13995874	PIEZO1	<i>piezo type mechanosensitive ion channel component 1</i>
ENSBTAG00000021165	18	13731060	14731060	14582685	14592543	VPS9D1	<i>VPS9 domain containing 1</i>
ENSBTAG00000023730	18	13731060	14731060	14708940	14717352	TUBB3	<i>tubulin beta 3 class III</i>
ENSBTAG00000023731	18	13731060	14731060	14705093	14706843	MC1R	<i>melanocortin 1 receptor</i>
ENSBTAG00000033326	18	13731060	14731060	14525082	14541878	DPEP1	<i>dipeptidase 1</i>
ENSBTAG00000033331	18	13731060	14731060	14550491	14557240	CHMP1A	<i>charged multivesicular body protein 1A</i>
ENSBTAG00000033333	18	13731060	14731060	14568489	14576084	CDK10	<i>cyclin dependent kinase 10</i>
ENSBTAG00000033334	18	13731060	14731060	14575038	14579286	SPATA2L	<i>spermatogenesis associated 2 like</i>
ENSBTAG00000039014	18	13731060	14731060	14722687	14736830	DEF8	<i>differentially expressed in FDCP 8 homolog</i>
ENSBTAG00000040356	18	13731060	14731060	14652352	14679143	SPIRE2	<i>spire type actin nucleation factor 2</i>
ENSBTAG00000051907	18	13731060	14731060	13883779	13893147	CYBA	<i>cytochrome b-245 alpha chain</i>
ENSBTAG00000052192	18	13731060	14731060	14557133	14566670	SPATA33	<i>spermatosis associated 33</i>
ENSBTAG00000011812	20	16699054	17699054	17003461	17018595	DIMT1	<i>DIMT1 rRNA methyltransferase and ribosome maturation factor</i>
ENSBTAG00000012992	20	42247688	43247688	42209780	42354761	CDH6	<i>cadherin 6</i>
ENSBTAG00000015022	20	16699054	17699054	17021529	17087796	KIF2A	<i>kinesin family member 2A</i>
ENSBTAG00000018616	20	16699054	17699054	16842419	16995968	IPO11	<i>importin 11</i>
ENSBTAG00000000529	23	12222123	13222123	12062334	12436221	BTBD9	<i>BTB domain containing 9</i>
ENSBTAG00000001074	23	12222123	13222123	12969790	12976488	SAYS1D1	<i>SAYS1D1 motif domain containing 1</i>
ENSBTAG00000010328	23	12222123	13222123	13166550	13179213	KCNK17	<i>potassium two pore domain channel subfamily K member 17</i>

ENSBTAG00000010352	23	12222123	13222123	13180877	13187815	KCNK16	<i>potassium two pore domain channel subfamily K member 16</i>
ENSBTAG00000011112	23	12222123	13222123	13060754	13101280	KCNK5	<i>potassium two pore domain channel subfamily K member 5</i>
ENSBTAG00000012703	23	12222123	13222123	12494154	12519916	GLO1	<i>glyoxalase I</i>
ENSBTAG00000014063	23	12222123	13222123	12560570	12888737	DNAH8	<i>dynein axonemal heavy chain 8</i>
ENSBTAG00000018224	23	12222123	13222123	12914475	12946096	GLP1R	<i>glucagon like peptide 1 receptor</i>
ENSBTAG00000027197	23	12222123	13222123	13196359	13617580	KIF6	<i>kinesin family member 6</i>
ENSBTAG00000000177	25	145125	1145125	650311	653932	MSLN	<i>mesothelin</i>
ENSBTAG00000000179	25	145125	1145125	666146	669347	RPUSD1	<i>RNA pseudouridine synthase domain containing 1</i>
ENSBTAG00000000568	25	145125	1145125	1129364	1137303	CCDC154	<i>coiled-coil domain containing 154</i>
ENSBTAG00000002470	25	145125	1145125	621018	625700	CCDC78	<i>coiled-coil domain containing 78</i>
ENSBTAG00000002481	25	145125	1145125	625848	628530	HAGHL	<i>hydroxyacylglutathione hydrolase like</i>
ENSBTAG00000002484	25	145125	1145125	628093	635930	CIAO3	<i>cytosolic iron-sulfur assembly component 3</i>
ENSBTAG00000002735	25	145125	1145125	544098	546240	METTL26	<i>methyltransferase like 26</i>
ENSBTAG00000002737	25	145125	1145125	541147	543770	WFIKKN1	<i>WAP</i>
ENSBTAG00000004551	25	145125	1145125	573401	578970	RHOT2	<i>ras homolog family member T2</i>
ENSBTAG00000007325	25	145125	1145125	996893	1000217	TPSB2	<i>tryptase beta 2</i>
ENSBTAG00000007880	25	145125	1145125	517353	539807	RAB40C	<i>RAB40C</i>
ENSBTAG00000012601	25	145125	1145125	872390	878381	TEKT4	<i>tektin 4</i>
ENSBTAG00000014100	25	145125	1145125	1056554	1070398	BAIAP3	<i>BAI1 associated protein 3</i>
ENSBTAG00000014101	25	145125	1145125	1070341	1072788	TSR3	<i>TSR3 ribosome maturation factor</i>
ENSBTAG00000014118	25	145125	1145125	1072873	1083886	GNPTG	<i>N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase subunit gamma</i>
ENSBTAG00000014126	25	145125	1145125	1084235	1115788	UNKL	<i>unk like zinc finger</i>
ENSBTAG00000015889	25	145125	1145125	1138152	1158761	CLCN7	<i>chloride voltage-gated channel 7</i>
ENSBTAG00000016564	25	145125	1145125	152493	185694	NPRL3	<i>NPR3 like</i>

ENSBTAG00000016567	25	145125	1145125	222415	223194	HBQ1	<i>hemoglobin</i>
ENSBTAG00000016568	25	145125	1145125	231277	263800	LUC7L	<i>LUC7 like</i>
ENSBTAG00000016571	25	145125	1145125	276353	299484	FAM234A	<i>family with sequence similarity 234 member A</i>
ENSBTAG00000016574	25	145125	1145125	299628	304824	RGS11	<i>regulator of G protein signaling 11</i>
ENSBTAG00000016577	25	145125	1145125	313101	347292	AXIN1	<i>axin 1</i>
ENSBTAG00000016581	25	145125	1145125	361870	364453	MRPL28	<i>mitochondrial ribosomal protein L28</i>
ENSBTAG00000016588	25	145125	1145125	365762	375066	PGAP6	<i>post-glycosylphosphatidylinositol attachment to proteins 6</i>
ENSBTAG00000016590	25	145125	1145125	383715	386873	NME4	<i>NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 4</i>
ENSBTAG00000016591	25	145125	1145125	404523	464177	RAB11FIP3	<i>RAB11 family interacting protein 3</i>
ENSBTAG00000016592	25	145125	1145125	474248	485664	CAPN15	<i>calpain 15</i>
ENSBTAG00000016594	25	145125	1145125	499022	512246	PIGQ	<i>phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class Q</i>
ENSBTAG00000017284	25	145125	1145125	580180	582397	RHBDL1	<i>rhomboid like 1</i>
ENSBTAG00000019006	25	145125	1145125	588604	593763	WDR24	<i>WD repeat domain 24</i>
ENSBTAG00000019008	25	145125	1145125	595099	606604	FBXL16	<i>F-box and leucine rich repeat protein 16</i>
ENSBTAG00000019136	25	145125	1145125	583662	586777	STUB1	<i>STIP1 homology and U-box containing protein 1</i>
ENSBTAG00000019743	25	145125	1145125	669580	678220	CHTF18	<i>chromosome transmission fidelity factor 18</i>
ENSBTAG00000019745	25	145125	1145125	714685	777085	LMF1	<i>lipase maturation factor 1</i>
ENSBTAG00000020198	25	145125	1145125	606827	617065	METR1	<i>meteorin</i>
ENSBTAG00000020737	25	145125	1145125	788526	793121	SOX8	<i>SRY-box transcription factor 8</i>
ENSBTAG00000026422	25	145125	1145125	145229	152472	MPG	<i>N-methylpurine DNA glycosylase</i>
ENSBTAG00000026429	25	145125	1145125	385890	396054	DECR2	
ENSBTAG00000026461	25	145125	1145125	930615	988927	CACNA1H	<i>calcium voltage-gated channel subunit alpha1 H</i>
ENSBTAG00000027854	25	145125	1145125	307142	312768	ARHGDIG	<i>Rho GDP dissociation inhibitor gamma</i>

ENSBTAG00000033395	25	145125	1145125	1119267	1120754	C25H16orf91	<i>chromosome 25 C16orf91 homolog</i>
ENSBTAG00000033481	25	145125	1145125	866917	868276	C1QTNF8	<i>C1q and TNF related 8</i>
ENSBTAG00000033526	25	145125	1145125	677753	678135	GNG13	<i>G protein subunit gamma 13</i>
ENSBTAG00000033672	25	145125	1145125	586824	592182	JMJD8	<i>jumonji domain containing 8</i>
ENSBTAG00000033739	25	145125	1145125	493606	495785	PRR35	<i>proline rich 35</i>
ENSBTAG000000338757	25	145125	1145125	213430	215062	HBM	<i>hemoglobin subunit mu</i>
ENSBTAG000000338866	25	145125	1145125	1039180	1050840	UBE2I	<i>ubiquitin conjugating enzyme E2 I</i>
ENSBTAG000000339974	25	145125	1145125	858332	859438	SSTR5	<i>somatostatin receptor 5</i>
ENSBTAG00000045857	25	145125	1145125	546281	558068	MCRIP2	<i>MAPK regulated corepressor interacting protein 2</i>
ENSBTAG00000048251	25	145125	1145125	498198	498569	NHLRC4	<i>NHL repeat containing 4</i>
ENSBTAG00000049482	25	145125	1145125	619682	622358	ANTKMT	<i>adenine nucleotide translocase lysine methyltransferase</i>
ENSBTAG00000051412	25	145125	1145125	216448	217264	HBA	<i>hemoglobin</i>
ENSBTAG00000002971	26	20055061	21055061	20681351	20714718	CUTC	<i>cutC copper transporter</i>
ENSBTAG00000007588	26	20055061	21055061	21052721	21094527	ERLIN1	<i>ER lipid raft associated 1</i>
ENSBTAG00000008936	26	20055061	21055061	20744151	20815377	ABCC2	<i>ATP binding cassette subfamily C member 2</i>
ENSBTAG00000008939	26	20055061	21055061	20825047	20942446	DNMBP	<i>dynamin binding protein</i>
ENSBTAG00000011956	26	20055061	21055061	20337662	20409706	CNNM1	<i>cyclin and CBS domain divalent metal cation transport mediator 1</i>
ENSBTAG00000011960	26	20055061	21055061	20416120	20440477	GOT1	<i>glutamic-oxaloacetic transaminase 1</i>
ENSBTAG00000012107	26	20055061	21055061	20596417	20607094	SLC25A28	<i>solute carrier family 25 member 28</i>
ENSBTAG00000021397	26	20055061	21055061	20530796	20534368	NKX2-3	<i>NK2 homeobox 3</i>
ENSBTAG00000023941	26	20055061	21055061	20959602	20993598	CPN1	<i>carboxypeptidase N subunit 1</i>
ENSBTAG00000045703	26	20055061	21055061	20640572	20681513	COX15	<i>cytochrome c oxidase assembly homolog COX15</i>
ENSBTAG00000047077	26	20055061	21055061	20622608	20655036	ENTPD7	<i>ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 7</i>