

Programa de Pós Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular
Universidade Federal de São Carlos

Vitor Catoia

"Mineração de genes em regiões genômicas bovinas
associadas à resistência ao carrapato *Rhipicephalus*
(Boophilus) microplus"

São Carlos

2014

VITOR CATOIA

(Biólogo)

"Mineração de genes em regiões genômicas bovinas associadas à resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*"

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética Evolutiva e Biologia Molecular.

Orientadora: Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

Coorientadora: Dra. Daniela Dantas Moré

São Carlos

2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C366mg

Catoia, Vitor.

Mineração de genes em regiões genômicas bovinas associadas à resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* / Vitor Catoia. -- São Carlos : UFSCar, 2015.

91 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Genética. 2. Animais - melhoramento genético. 3. Infestação. I. Título.

CDD: 575 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA EVOLUTIVA E BIOLOGIA MOLECULAR

“Mineração de genes em regiões genômicas bovinas associadas à resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”

VITOR CATOIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética Evolutiva e Biologia Molecular.

Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

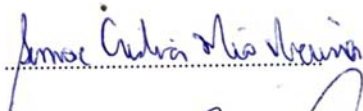
Submetido à defesa pública no dia 13/08/2014, tendo sido

aprovado.

Presidente: Dra. Daniela Dantas Moré



Membros: Dra. Simone Cristina Méo Niciura



Dra. Alessandra Mara Franzin



Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Homologado na 289 Reunião Ordinária da CPG, em 10/09/14

Presidente: 

Membros: 

A Deus,
Ao meu querido tio Adilson Pulgrossi (*in memoriam*)
Aos meus pais Idelma e Renato,
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em todo momento me iluminou, me guiou deu forças para enfrentar todas as dificuldades durante minha trajetória.

À minha orientadora Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano, pelos ensinamentos, orientação, paciência e por me conceder a oportunidade de realizar meu projeto na Embrapa Pecuária Sudeste.

À minha coorientadora Dra. Daniela Dantas Moré, pelo apoio, paciência e transmissão dos conhecimentos.

Ao Dr. Maurício de Alvarenga Mudadu, pela disponibilidade e ajuda nas análises computacionais.

Ao Dr. Adhemar Zerlotini Neto, pelo apoio na área de bioinformática.

À minha namorada Paloma, pelo amor, carinho e por estar ao meu lado durante todas as fases do meu mestrado.

A todos os alunos do Laboratório de Biotecnologia Animal, pela amizade, ajuda e companheirismo.

Aos meus pais Idelma e Renato e ao meu irmão Leandro, pelo incentivo, amor e carinho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!!!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Animal da raça Hereford.....	13
Figura 2 - Animal da raça Braford.....	13
Figura 3 - Ciclo de vida do carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	15
Figura 4 - <i>QTLs</i> para resistência a carrapato depositados na base de dados <i>QTLdb</i>	23
Figura 5 - Desequilíbrio de ligação para as raças Braford e Hereford.	31
Figura 6 - Possíveis localizações e consequências dos SNPs analisados no software Variant Effect Predictor (VEP).....	34
Figura 7 - Efeitos dos <i>SNPs</i> identificados no estudo de associação genômica.	36
Figura 8 - Via metabólica do processamento e apresentação de antígenos no MHC Classe I.	52
Figura 9 - Via de sinalização do Receptor I do Fator de Necrose Tumoral (TNFRI).	55
Figura 10 - Via metabólica JAK-STAT.	56
Figura 11 - Mecanismos de secreção salivar.	58
Figura 12 - Localização dos polimorfismos analisados com a ferramenta <i>Variant Effect Predictor (VEP)</i>	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Lista dos genes prospectados em desequilíbrio de ligação com marcadores de efeitos significativos	38
Quadro 2 - Anotação funcional dos genes localizados nos cromossomos 7, 21 e 23	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Localização e efeitos estimados dos <i>SNPs</i> mais próximos aos 11 genes candidatos.	49
Tabela 2 - Localização dos polimorfismos associados à resistência ao carrapato bovino <i>R. microplus</i>	59

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	4
LISTA DE QUADROS.....	5
LISTA DE TABELAS.....	6
SUMÁRIO.....	7
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
1.1 A bovinocultura brasileira.....	11
1.2 As raças Hereford e Braford.....	12
1.3 <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> e os impactos das infestações na produção animal.....	14
1.4 Relação entre carrapato e hospedeiro.....	16
1.5 Resistência dos bovinos e formas de controle do carrapato.....	17
1.6 Estudo de Associação Genômica Ampla - <i>Genome Wide Association Study (GWAS)</i> ..	19
1.7 Regiões do genoma bovino associadas com a resistência a carrapatos.....	22
1.8 Anotação funcional de genes candidatos e estudo das vias metabólicas.....	25
1.9 Anotação funcional de <i>SNPs</i>	25
2. JUSTIFICATIVA.....	27
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Estudo de Associação Genômica Ampla (<i>GWAS</i>).....	29
4.1.1 Animais.....	29
4.1.2 Monitoramento das infestações.....	29
4.1.3 Seleção dos <i>SNPs</i> associados à resistência.....	30
4.2 Prospecção de genes.....	30
4.2.1 Anotação funcional dos genes prospectados nos cromossomos 7, 21 e 23.....	32
4.2.2 Seleção dos genes candidatos e estudo das vias metabólicas envolvidas na resistência.....	32
4.2.3 Anotação funcional dos <i>SNPs</i> de efeitos significativos.....	33
4.2.4 Classificação funcional dos genes prospectados.....	35

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Estudo de Associação Genômica Ampla (<i>GWAS</i>)	36
5.2 Prospecção de genes em desequilíbrio de ligação (DL) com os <i>SNPs</i> significativos	37
5.2.1 Anotação funcional dos genes prospectados nos cromossomos 7, 21 e 23.....	42
5.2.2 Estudo das vias metabólicas para os genes candidatos nos cromossomos 7, 21 e 23.	49
5.2.3 Anotação funcional dos <i>SNPs</i> com efeitos significativos	59
5.2.4 Classificação funcional dos genes prospectados	65
6. CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXO 1.....	87

RESUMO

A bovinocultura brasileira apresenta-se como destaque no cenário mundial e a expressiva participação deste setor produtivo na economia faz com que haja preocupação com as perdas produtivas, dentre as quais destaca-se aquelas causadas pela infestação do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, principal ectoparasita de bovinos e vetor de diversas doenças. A variabilidade genética observada para a resistência dos bovinos ao carrapato permite que essa característica seja melhorada geneticamente, como forma alternativa de controle desses ectoparasitos. Para a execução do presente trabalho, foi utilizado um estudo de associação genômica ampla (GWAS) para a resistência ao carrapato *R. microplus*, o qual foi realizado pela equipe do Dr. Fernando Flores Cardoso (Embrapa Pecuária Sul), com 260 animais da raça Hereford e 500 animais da raça Braford. O monitoramento das infestações foi realizado por meio da contagem de fêmeas do carrapato com tamanho superior a 4,5 mm em um dos lados do corpo do animal, e o grau de infestação de cada animal foi avaliado pela média de pelo menos duas contagens consecutivas, com intervalos de aproximadamente trinta dias, conduzidas no sobreano, nos meses de maior incidência do parasito. Os animais foram genotipados com utilização de um chip de *SNPs* de 50 K e, após a realização do GWAS, verificou-se que um total de 37.346 *SNPs* passou nos teste de qualidade. Dentre esses marcadores, 178 *SNPs* apresentaram efeitos significativos e permitiram a mineração de 175 genes nessas regiões, em um intervalo de 200 Kb (100 Kb para cada lado de cada marcador). A maioria dos polimorfismos associados com a característica está localizada em regiões sem funções determinadas (intergênicas e intrônicas), apenas um deles encontra-se em região de *splicing*. Sendo assim, estes marcadores podem constituir mutações não causais que se encontram em desequilíbrio de ligação com mutações funcionais. As regiões mais significativas do GWAS foram identificadas nos cromossomos 7, 21 e 23, onde foram identificados 72 genes em desequilíbrio de ligação com os marcadores moleculares. Portanto, foi realizada uma anotação funcional dos genes localizados nesses 3 cromossomos, o que permitiu a seleção de 11 genes candidatos para um estudo mais aprofundado das vias metabólicas nas quais eles estão inseridos. Verificou-se que esses genes participam de processos importantes em vias já relacionadas com a resistência a carrapatos, tais como apresentação de antígenos, transporte e secreção intracelular e diferenciação da epiderme.

Palavras-chave: Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS). Carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Genes candidatos para resistência à infestação. Vias metabólicas relacionadas com a resistência.

ABSTRACT

The Brazilian cattle industry is presented as highlighted on the world stage and the significant participation of this productive sector in the economy means that there is concern with production losses, among which stands out those caused by infestation of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, main ectoparasite vector cattle and various diseases. The genetic variability for resistance to the cattle tick shows that this trait can be genetically improved. For the execution of this work, it was used a study of genome wide association (GWAS) for resistance to *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, performed by Dr. Fernando Flores Cardoso, with 260 Hereford and 500 Braford animals. The monitoring of the infestation was accomplished by counting tick females larger than 4.5 mm from one of the animal's body side, and the degree of infestation was evaluated for each animal by averaging at least two consecutive counts, with intervals of approximately thirty days, in the months of highest incidence of the parasite. The animals were genotyped using a 50K SNP chip, and it was found a total of 37,346 SNPs that passed in quality test. Among these markers, 178 showed significant effects and allowed the mining of 175 genes in these regions, at an interval of 200 Kb (100 Kb for each side of each marker). Most of these polymorphisms associated with the trait is located in regions without defined functions (intronic and intergenic), and only one of them is located in the splicing region. The most significant regions of the GWAS were identified on chromosomes 7, 21 and 23, which were found 72 genes in linkage disequilibrium with the molecular markers. Therefore, a functional annotation of the genes on these 3 chromosomes was performed, allowing the choice of 11 candidate genes for the study of various metabolic pathways in which they are inserted. Among these pathways, the most important are those related to immune responses, secretion and intracellular transport, calcium influx and epidermal growth and differentiation.

Keywords: Genome Wide Association Study (GWAS). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Candidate genes for tick resistance. Metabolic pathways.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A bovinocultura brasileira

A bovinocultura brasileira é um dos setores mais importantes do agronegócio e contribui significativamente para a economia nacional (BRASIL, 2014b). O rebanho bovino brasileiro possui aproximadamente 210 milhões de cabeças (BRASIL, 2014a) e é composto por cerca de 80% de animais de raças zebuínas, originárias da Ásia (*Bos indicus*), e 20% de raças de origem europeia (*Bos taurus*) (ABIEC 2014a).

O Brasil possui um dos maiores rebanhos comerciais do mundo e lidera como maior exportador de carne bovina (USDA, 2014), o que gerou faturamento de aproximadamente 6,5 bilhões de dólares em 2013 (ABIEC, 2014b).

Dois setores são representados pela bovinocultura brasileira, as cadeias produtivas de carne e de leite, o que mostra a importância desse segmento no desenvolvimento econômico e social do Brasil (BRASIL, 2014a). De acordo com Neves (2012), a cadeia produtiva da carne movimenta R\$ 167,5 bilhões por ano e gera aproximadamente 7 milhões de empregos. Devido à expressiva participação desse setor na economia nacional, existem preocupações com as perdas produtivas, causadas, por exemplo, pela infestação dos bovinos por ectoparasitas. Isto tem mobilizado pesquisadores e produtores a buscarem técnicas produtivas cada vez mais eficientes, a fim de obterem-se produtos de qualidade para atender ao exigente mercado externo (ARBOITTE et al., 2004).

Recentes avanços nas técnicas de genética molecular e de bioinformática permitem a identificação de regiões cromossômicas (ANDERSSON, 2001) relacionadas às características de interesse econômico para a pecuária (DEKKERS, 2004). Dessa maneira, o melhoramento genético surgiu como alternativa na busca por animais que apresentem melhor desempenho produtivo e que sejam mais resistentes às condições ambientais e às infestações por carrapatos. Os animais resistentes são selecionados para originarem a progênie da próxima geração, aumentando a frequência dos alelos favoráveis na população (COUTINHO; ROSÁRIO, 2010).

1.2 As raças Hereford e Braford

A raça Hereford originou-se na Inglaterra. Existem relatos de que esses animais já existiam em 1627 e de que no ano de 1917, a raça já passava pelo processo de melhoramento genético, o qual era realizado por Benjamim Tomkins e seu filho, no país de origem (BHB, 2014b). Esses bovinos caracterizam-se por apresentar alta eficiência alimentar, boa resistência às condições adversas, fertilidade e carcaça com alto rendimento de cortes comerciais, sendo destinados principalmente à produção de carne (ABHB, 2014a). Por isso, a raça Hereford é utilizada na formação de várias raças sintéticas em todo o mundo, passando à progênie essas importantes características econômicas (BHB, 2014a). O primeiro exemplar chegou ao Brasil em 1906, na cidade de Bagé (RS) e adaptou-se perfeitamente à região sul. As fêmeas adultas chegam a pesar em média 450 kg e entram no ciclo reprodutivo a partir dos 15 meses, com aproximadamente 280 Kg. Possuem boa habilidade materna, fertilidade e alta longevidade. Os novilhos são precoces (estão prontos para abate, a pasto, com 20 meses e 460 kg; e em confinamento, com 13 meses e 420 kg) e apresentam características desejáveis, como excelente marmoreio e rendimento de carcaça (BHB, 2014c). A Figura 1 exemplifica um animal da raça Hereford.

A raça Braford teve sua origem na Flórida, na década de 1960 (ABHB, 2014b), e é formada por animais que apresentam uma constituição genética de 5/8 Hereford (*Bos taurus*) e 3/8 de raça zebuína (*Bos indicus*) (ABHB, 2014d). O principal objetivo desse cruzamento é explorar a complementaridade entre as raças e a heterose, de maneira a conciliar as importantes características apresentadas pelos animais Hereford, como fertilidade, habilidade materna, precocidade, temperamento dócil, volume e qualidade da carne, com a capacidade de adaptação aos trópicos, resistência aos ectoparasitas e rusticidade dos animais zebuínos (ABHB, 2014c).

No ano de 1993, a raça Braford foi reconhecida pelo Ministério da Agricultura do Brasil e, em 2003, a Associação Brasileira de Hereford e Braford (ABHB) efetuou o registro genealógico da raça em todo território nacional (BHB, 2014d). A Figura 2 apresenta um exemplar da raça Braford.

Figura 1 - Animal da raça Hereford.



Fonte: Fotografia retirada do website:
<http://www.abccriadores.com.br/newsite/index.php/pecuarianacional/corte/26-pecuaria-nacional/corte/322>.

Figura 2 - Animal da raça Braford.



Fonte: Fotografia retirada do website:
<http://www.altagenetics.com.br/novo/Produtos/Produto.aspx?pId=6392>.

1.3 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e os impactos das infestações na produção animal

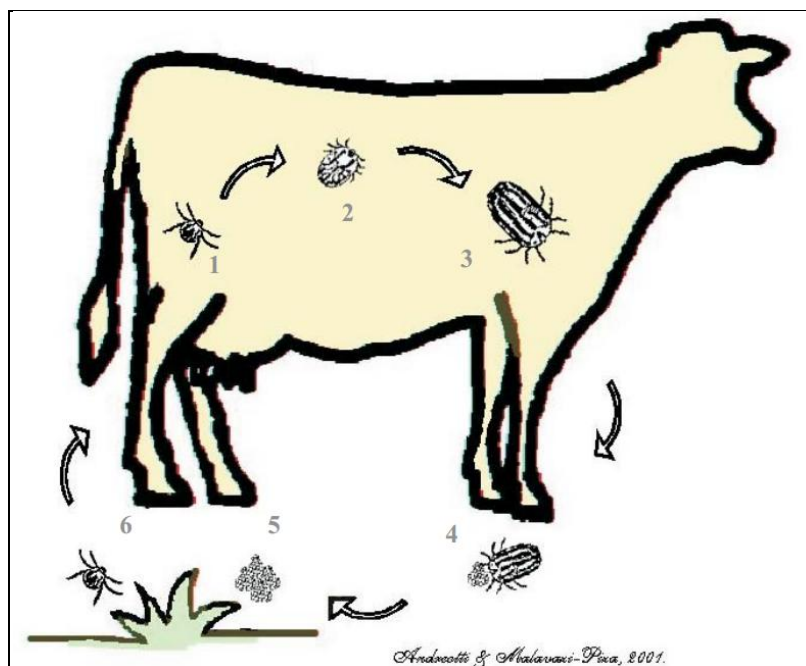
Principal ectoparasita de bovinos, o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) é uma espécie hematófaga pertencente ao filo Artropoda, classe Aracnida, ordem Acarina, subordem Metastigmata e superfamília Ixodidea (FLECHTMANN, 1990). Originou-se provavelmente na Ásia e adaptou-se perfeitamente ao clima das áreas tropicais, onde o calor e a umidade propiciaram condições favoráveis a sua manutenção (POWELL; REID, 1982).

Esse aracnídeo está amplamente distribuído em todo território nacional, sendo encontrado em pelo menos 95,6% dos municípios brasileiros e destaca-se como um dos principais ectoparasitos que afetam a pecuária nessas áreas, devido à especificidade parasitária aos bovinos (HORN, 1983). A maior parte dos rebanhos concentra-se em áreas nas quais o carrapato está presente, e o ectoparasitismo pode causar anemia, perda de peso e até mesmo a morte dos bovinos (JONSSON, 2006). De acordo com De Castro (1997), estima-se que as perdas econômicas anuais em todo o mundo, causadas pelas infestações por carrapatos, são de aproximadamente US\$ 18 bilhões e, no Brasil, a estimativa é em torno de dois bilhões de dólares (GRISI et al., 2002). Essas perdas podem ser consideradas diretas, como queda diária de peso dos animais e de produção de leite, perda de fertilidade e desvalorização do couro (JONSSON et al., 2006); ou indiretas, relacionadas aos gastos com produtos químicos, fabricação de vacinas e profissionais envolvidos no controle (GRISI et al., 2002). Jonsson et al. (1998), trabalhando com a raça holandesa, demonstraram que cada fêmea teleógina foi responsável pelo decréscimo de 8,9 mL na produção de leite e de 1 grama de peso corpóreo do animal, por dia; e Gonzales (1975) verificou que as lesões causadas durante o parasitismo inviabilizaram a utilização do couro na indústria. Além disso, esses aracnídeos são vetores de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, e *Anaplasma marginale*, causadores da tristeza parasitária bovina (TPB) (RIBEIRO, 1989; REGITANO et al., 2006). A TPB é um complexo de enfermidades que causa vários efeitos adversos nos animais, tais como anemia, hipertermia, anorexia, icterícia e, em alguns casos, a morte (LEMOS, 1998).

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* depende de apenas um hospedeiro para completar seu ciclo de vida (ARTHUR, 1960), o qual possui duas fases complementares: a de vida livre e a de vida parasitária. A primeira inicia-se com o desprendimento da teleógina do hospedeiro, a qual, sob condições climáticas adequadas (26-28°C), começa a postura dos ovos

3 dias após sua queda ao solo, por um período de aproximadamente 15 dias (GONZALES, 1974), em que cada fêmea tem capacidade de gerar mais de três mil ovos (ALVARADO; GONZALES, 1979) As larvas passam por um processo de maturação, tornam-se infestantes seis dias após o nascimento e deslocam-se até as pontas dos capins para facilitar o contato com os bovinos, reiniciando a fase parasitária. Durante a fase de vida parasitária, a larva fixa-se no hospedeiro, e inicia o processo de desenvolvimento e crescimento tegumentário. Aproximadamente 8 dias após a fixação, a larva sofre sua primeira ecdise, transformando-se em ninfa. Essa passa por uma nova muda, na qual ocorre a diferenciação e maturação sexual. Por volta do décimo sétimo dia, os machos já estão aptos à cópula, e as fêmeas, após serem fecundadas, passam à fase de partenógena (parcialmente ingurgitada) e, em mais 2 dias, à fase de teleógina (ingurgitamento máximo) (GONZALES et al.,1974), a qual pode ingerir até 3 mL de sangue diariamente dos bovinos (GONZALES, 1975). Durante o período parasitário, que dura aproximadamente três semanas, o processo de alimentação dos carrapatos é intermitente (KONGSUWAN, 2010). A Figura 3 apresenta o ciclo de vida simplificado do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Figura 3 - Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.



Legenda: **Fase parasitária** 1) Fixação da larva no bovino aproximadamente 6 dias após o nascimento; 2) Fase de ninfa após a primeira ecdise; 3) Teleógina em estágio final de ingurgitamento. **Fase de vida livre** 4) Teleógina realizando a postura no solo aproximadamente 3 dias após o desprendimento; 5) Ovos, no solo, em período de incubação; 6) Larva infestante, no solo, apta a infestar um hospedeiro. Fonte: adaptado de Andreotti e Malavazi-Piza (2001).

1.4 Relação entre carrapato e hospedeiro

A relação entre parasita e hospedeiro é determinada por um balanço entre as respostas de defesa apresentadas pelos bovinos e a capacidade dos carrapatos em modular o sistema imunológico dos hospedeiros (WIKEL et al., 1994). Essa interação depende das condições apresentadas pelos animais, fazendo com que os efeitos causados durante o processo parasitário variem desde uma simples irritação até a morte do hospedeiro (ARTHUR, 1973).

O contato dos bovinos com os carrapatos desencadeia uma resposta imune dos hospedeiros (BROSSARD et al., 1991). Inicialmente, o sistema imunológico reage à fixação do ectoparasito através da degranulação de mastócitos e infiltração de eosinófilos no local, dificultando a alimentação do carrapato e causando hipersensibilidade cutânea (HALES et al., 1981), suficiente para proporcionar uma reação de autolimpeza (*grooming*) no hospedeiro (BENNETT, 1969; PEREIRA, 1982) Esta reação pode se iniciar antes mesmo da fixação da larva, a qual se dá pela penetração do rostro do ectoparasita na epiderme do bovino (RIEK, 1965). Em resposta ao dano causado no local da fixação do ectoparasito, ocorre secreção de histamina pelos mastócitos e basófilos (KEMP; BOURNE, 1980) a qual está envolvida na resposta inflamatória, já que aumenta a permeabilidade dos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, permite maior afluxo dos fatores que serão responsáveis pela reparação das lesões causadas pelo carrapato (RIBEIRO; WALKER, 1994). Além disso, a hematofagia induz uma resposta imune mais complexa, que envolve as células apresentadoras de antígenos, linfócitos T e B, basófilos, mastócitos, eosinófilos, anticorpos e uma série de moléculas envolvidas no processo imunológico (BROSSARD; WIKEL, 1997).

Os carrapatos, em contrapartida, possuem capacidade de modular o sistema imune do hospedeiro em seu favor. A saliva dos parasitas desempenha um papel essencial, já que apresenta atividade anticoagulante (LIMO et al., 1991), antiinflamatória, imunossupressora e inibidora do sistema complemento (RIBEIRO et al., 1985). Ela promove a alteração da resposta das citocinas, supressão da proliferação de linfócitos T e da função das células apresentadoras de antígenos (CIPRANDI et al., 2006; FONTAINE et al., 2011; HORN et al., 2000; RIBEIRO; FRANCISCHETTI, 2003; RIBEIRO et al., 1985; RIBEIRO, 1989; STARK; JAMES, 1996; WIKEL, 1996). Além disso, a prostaglandina presente na saliva tem ação vasodilatadora e aumenta o afluxo de sangue para que o carrapato possa se alimentar continuamente durante todo o período parasitário (QIAN et al., 1998).

1.5 Resistência dos bovinos e formas de controle do carrapato

De acordo com De Castro (1993), a resistência do hospedeiro está relacionada com sua capacidade de responder imunologicamente aos componentes da saliva do parasita, causando a morte ou incapacidade de reprodução do mesmo. A maneira como os bovinos respondem às infestações por carrapatos é bastante complexa. Existem dois tipos de resistência: aquela que o animal já apresenta antes da primeira infestação, designada inata; e a adquirida, que só é evidenciada após a exposição do bovino aos ectoparasitas (RIEK, 1962), e torna-se cada vez mais eficiente conforme as infestações se sucedem (WAGLAND, 1975).

Apesar da importância da imunidade inata, alguns estudos mostraram que a resistência a carrapatos é dependente da imunidade adquirida (WAGLAND et al., 1978). Existe uma associação entre a resistência e a hipersensibilidade, que ocorre após a fixação do carrapato, e promove o recrutamento de eosinófilos e aumento da concentração de histamina no local (KEMP; BOURNE, 1980). Além disso, como foi observado por Kashino et al (2005), a resistência dos hospedeiros depende da presença de imunoglobulinas (Ig), anticorpos que atuam na defesa contra as infestações. Essa interação entre antígeno e anticorpo induz a liberação de substâncias bioativas envolvidas nos mecanismos responsáveis pela resistência aos parasitos (BROSSARD; FIVAZ, 1982). A eficiência da resposta dos animais é determinada pela capacidade de processar os antígenos e apresentá-los aos linfócitos T pelo Complexo principal de Histocompatibilidade (*MHC*) (conhecido como *BoLA* - *Bovine Leucocyte Antigen* - em bovinos) desde a ocorrência da primeira infestação (WIKEL et al., 1994).

Vários trabalhos demonstraram que os animais de origem asiática (*Bos indicus*) são mais resistente ao parasitismo causado pelo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, quando comparados com os de origem europeia (*Bos taurus*), e que essa variação também pode ocorrer dentro da mesma raça (ANDRADE, 1996; SEIFERT, 1971; UTECH et al., 1978; WHARTON et al., 1970). Segundo Gonzales (1975), os zebuínos apresentam maior quantidade de glândulas sebáceas na pele, as quais produzem odor desagradável, afastando o carrapato. Além disso, a resistência desses animais também foi atribuída a maior elasticidade e espessura da pele, o que dificulta a fixação dos ectoparasitas. Veríssimo (1991) demonstrou que o hematoparasitismo depende de uma reação inflamatória que se inicia no momento da fixação da larva, e que tal reação é mais intensa nos *Bos indicus*, levando-os a realizarem um processo de autolimpeza mais eficiente, causando o desprendimento das larvas. No Brasil, um

trabalho realizado por Teodoro et al (1984) mostrou que ocorre decréscimo da resistência com o aumento da proporção de genes provenientes de animais *Bos Taurus* (de origem europeia), o mesmo resultado observado por Frisch e O' Neill (1989), na Austrália.

O grau de infestação pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é também determinado por fatores como o sexo, a idade e estação do ano. Seifert (1971) e Silva et al. (2006), verificaram que as fêmeas apresentam maior resistência, em comparação aos machos. Utech et al (1978) e Teodoro et al (1994) demonstraram que animais mais velhos são mais suscetíveis às infestações. Além disso, alguns autores relacionaram um aumento das infestações na temporada chuvosa e também nos animais que apresentavam pelos mais longos e pele mais espessa, fatores relacionados com a imunidade inata (VERISSIMO et al., 2002; GASPARIN et al., 2007).

Devido aos danos causados pela infestação do carrapato bovino, cada vez mais criadores e pesquisadores buscam formas eficazes de controlar as populações desses ectoparasitas (FRISCH, 1999). Atualmente, o método mais utilizado é a aplicação de acaricidas (LABARTHE, 1994). Entretanto, o uso descontrolado e incorreto desses compostos pode deixar resíduos no leite, na carne (De CASTRO, 1993) e no meio ambiente, fator preocupante para o consumidor e para a manutenção da biodiversidade. Além disso, a aplicação repetitiva e não estratégica dessas substâncias permite o aparecimento de linhagens resistentes de ectoparasitas e, desta maneira, esta forma de controle perde sua eficácia (FRISCH, 1999; PRUETT, 1999). Atualmente, os carrapatos já são resistentes a diversos grupos de carrapaticidas, como os organoclorados, organofosfatos, carbamatos, amidinas, entre outros (WILLADSEN et al., 1995). Por conta dessas desvantagens relacionadas ao uso dos acaricidas, com o objetivo de oferecer ao consumidor um produto de boa qualidade e também conservar o meio ambiente, é necessário um método de controle que não faça uso desses produtos químicos (KONGSUWAN et al., 2010). Dentre as alternativas, pode-se destacar a utilização de vacinas, o controle biológico e a seleção de animais geneticamente resistentes (LABARTHE, 1994).

As vacinas apresentam algumas vantagens, por exemplo, por não contaminarem o meio ambiente e os hospedeiros, além do seu baixo custo de produção (WILLADSEN, 2004). O pioneiro na produção de vacinas foi WILLADSEN e colaboradores, na Austrália, que utilizaram uma forma recombinante de uma glicoproteína presente no intestino dos carrapatos, chamada de Bm86. Esta atua no organismo do bovino promovendo a ativação do sistema imunológico, com posterior produção de anticorpos específicos (WILLADSEN et al., 1995). Estes, ao serem ingeridos pelos carrapatos durante a hematofagia, provocam lesões

intestinais, levando-os à morte ou à incapacidade reprodutiva (KEMP et al., 1989). Entretanto, algumas desvantagens podem ser destacadas quanto ao uso desta vacina. Parizi et al (2009) verificaram que os parasitas apresentaram resistência à Bm86 e, além disso, pelo fato dessa glicoproteína de membrana intestinal ser considerada um antígeno oculto, ela não é apresentada ao sistema imune do hospedeiro, tornando-se necessárias várias inoculações para que haja a permanência de resposta eficaz do sistema imunológico dos bovinos (WILLADSEN; KEMP, 2003).

A herdabilidade para a resistência a carrapatos já foi estimada para várias populações e é considerada média, mostrando que esta característica apresenta um componente genético que pode ser transmitido através das gerações. Davis (1993) encontrou valor de $0,34 \pm 0,06$, trabalhando com animais *Bos taurus*. Prayaga et al (2009) estimaram o valor de 0,13; Burrow (2001), o valor de 0,42; e Cardoso et al (2006) observaram herdabilidade de 0,34. Portanto os cruzamentos entre *Bos indicus* x *Bos taurus* e a seleção dos animais superiores proporcionam um aumento da resistência nos rebanhos, como forma alternativa no controle de carrapatos em bovinos (SUTHERST; UTECH, 1981; FRISCH, 1999; 2000). A observação de que existe um componente genético influenciando na resistência dos bovinos ao carrapato, faz com que a seleção de animais resistentes, portadores de genótipos superiores, seja uma alternativa promissora na contenção desses ectoparasitos (UTECH et al., 1978). O entendimento dos mecanismos responsáveis pela resistência adquirida torna possível o desenvolvimento de marcadores moleculares relacionados a essa característica e permite a seleção precoce de animais resistentes (PIPER et al., 2009). Além disso, segundo Gavora e Spencer (1983), a prática do melhoramento genético para resistência pode ser relacionada com outras medidas, aumentando ainda mais a acurácia no controle dos ectoparasitos.

1.6 Estudo de Associação Genômica Ampla - *Genome Wide Association Study* (GWAS)

Recentemente, a informação genética baseada em marcadores moleculares tem sido utilizada nos programas de melhoramento genético animal, como forma de aumentar a acurácia da seleção tradicional, baseada apenas em observações fenotípicas, principalmente para características de baixa herdabilidade e difícil mensuração (DAVIS; DeNISE, 1998).

Os Polimorfismos de Base Única (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphisms* - *SNPs*) caracterizam-se pela substituição de apenas uma base nitrogenada por outra

(CAETANO, 2009). Por serem os mais abundantes (SHERRY et al., 2001) e apresentarem uma distribuição homogênea no genoma, são os marcadores moleculares mais utilizados nos estudos de associação genômica (CAETANO, 2009).

Recentemente, foram desenvolvidas plataformas para genotipagem de *SNPs* em larga escala (*BOVINE HAPMAP CONSORTIUM*, 2009; MATUKUMALLI et al., 2009). Para bovinos, pode-se citar as plataformas *BovineSNP50* e a *BovineHDBeadChip* (ambas da *Illumina*), as quais contêm, aproximadamente, 54.000 e 770.000 polimorfismos, respectivamente. A disponibilidade dessas plataformas e a diminuição do custo para genotipagem possibilitam a realização dos estudos de associação genômica, os quais permitem a identificação de regiões do genoma associadas a determinado fenótipo (BOLORMAA et al., 2013; GODDARD; HAYES, 2009; MANOLIO et al., 2008; TIZIOTO et al., 2013; VISSCHER et al., 2007; ZHANG et al., 2012), além do melhor entendimento da base genética envolvida nas características complexas (RAADSMA et al., 2009). Desta maneira, a identificação dos genes associados às características possibilita que os animais portadores dos alelos favoráveis sejam selecionados (MEUWISSEN; GODDARD, 1996), aumentando a acurácia do processo de melhoramento genético (MEUWISSEN et al., 2001). A presença ou ausência de uma variação no genoma de um indivíduo pode fazer com que ele seja ou não selecionado para ser o progenitor da próxima geração, em um programa de melhoramento genético (WANG et al., 2007a).

O *GWAS* baseia-se no desequilíbrio de ligação (associação não aleatória entre alelos de dois ou mais *loci*) (FARNIR et al., 2000) entre marcadores moleculares e a região do genoma que afeta a característica (BOLORMAA et al., 2011), com a premissa de que pelo menos um *SNP* esteja segregando com cada *QTL*. Portanto, quanto maior a densidade de *SNPs*, maior a acurácia para a detecção de *QTLs* em desequilíbrio de ligação com esses marcadores (GODDARD; HAYES, 2009).

O sucesso de um *GWAS* depende de alguns elementos essenciais, tais como: uma população fenotipada e suficientemente grande para fornecer informação genética em relação à característica em estudo; presença de marcadores moleculares distribuídos por todo o genoma e métodos estatísticos eficientes para determinar a associação entre esses marcadores e a característica de interesse (CANTOR et al., 2010).

As avaliações genômicas geralmente são realizadas com a utilização de métodos de múltiplas etapas (HAYES et al., 2009). Entretanto, a fim de aumentar a acurácia e rapidez dessas avaliações, Aguilar et al (2010) e Misztal et al (2009) propuseram uma metodologia de única etapa, designada *single-step GBLUP* (*ssGBLUP*), que integra informações de

genótipo, fenótipo e *pedrigree* dos animais, e as combinam com dados genômicos. A grande vantagem deste método é que ele permite analisar animais não genotipados (AGUILAR et al., 2010). Cardoso et al (2006) estimaram a herdabilidade para resistência à infestação por carrapatos, em bovinos Hereford e Braford, considerando apenas informações fenotípicas (contagens de carrapatos) e de pedigree dos animais. Eles verificaram que apenas 20% da variação fenotípica foram atribuídas à genética aditiva. Posteriormente, Cardoso et al (2011) utilizaram o método de única etapa (*ssGBLUP*) (AGUILAR et al., 2010), para combinar as informações de contagens de carrapatos e de pedigree, com as informações dos polimorfismos associados aos genes responsáveis pela resistência, e observaram que a herança genética aumentou para 42%. Desta maneira, os autores mostraram que a inclusão das informações dos marcadores permitiu explicar quase metade das diferenças fenotípicas observadas entre os animais, por meio de fatores genéticos aditivos.

Uma desvantagem do *ssGBLUP* é que ele utiliza modelo infinitesimal, ou seja, ele assume igual variância para todos os marcadores associados à *QTLs*. Isso não ocorre, por exemplo, com os métodos Bayesianos, que permitem a atribuição de pesos para os polimorfismos, tornando a situação mais realista quando se estuda características quantitativas, nas quais os efeitos estão distribuídos por todo o genoma. Com o objetivo de aumentar a precisão tanto das estimativas de valores genômicos (*GEBVs*), como de efeitos de marcadores para serem utilizados no *GWAS*, Wang et al (2012) propuseram uma metodologia que combina os pontos positivos do *ssGBLUP* com os dos métodos Bayesianos. Neste caso, os efeitos dos marcadores são computados a partir de equações de predição, ou seja, convertendo *GEBVs* para efeitos de marcadores.

Cardoso et al (2012) (dados não publicados) realizaram um estudo de associação genômica para a resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, com animais das raças Braford e Hereford, utilizando o chip *Illumina® Bovine SNP50 BeadChip* para genotipagem dos *SNPs*, que permitiu a cobertura de todo o genoma bovino com marcadores. Este estudo identificou aproximadamente 37.346 marcadores que passaram nos testes de qualidade. Os efeitos de cada polimorfismo foram estimados em desvios padrões, com utilização do método de única etapa *ssGBLUP*, em que foram atribuídos pesos às variâncias dos polimorfismos, conforme proposto por Wang et al (2012). Os dados deste estudo de associação genômica foram utilizados para o desenvolvimento deste trabalho.

1.7 Regiões do genoma bovino associadas com a resistência a carrapatos

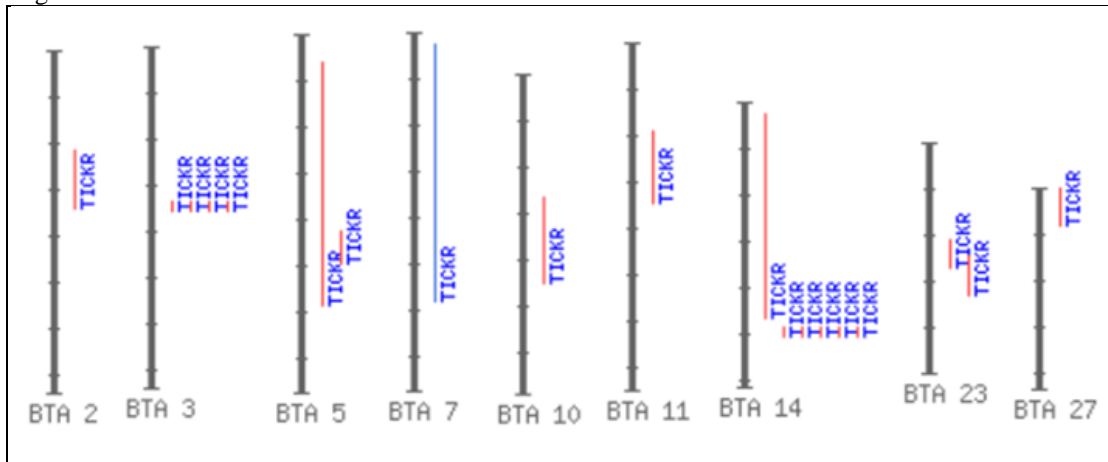
Os *Quantitative Trait Loci (QTLs)* são segmentos cromossômicos que apresentam efeito sobre uma característica de interesse (SOLLER; ANDERSSON, 1998). Estudos de análises de ligação e estudos de associação genômica ampla (*GWAS*) permitiram a identificação de *QTLs* que explicam parte da variação genética para a resistência a carrapatos (BARENDSE, 2007; GASPARIN et al., 2007; MACHADO et al., 2010; REGITANO et al., 2008; TURNER et al., 2010).

Regitano et al (2008) analisaram microssatélites próximos aos genes Interleucina 2 (IL-2), Interleucina 4 (IL-4) e Interferon Gamma (IFN γ), e verificaram associação entre variações na região do gene da Interleucina 4 (IL-4) e a contagem de carrapatos em diferentes grupo genéticos. Gasparin et al. (2007) utilizaram marcadores microssatélites distribuídos por todo o genoma, que permitiram mapear *QTLs* nos cromossomos 5, 7 e 14, variando conforme as estações seca e chuvosa, em animais provenientes do cruzamento entre Holstein (*Bos taurus*) e Gir (*Bos Indicus*). O *QTL* identificado no cromossomo 5 para a estação chuvosa mostrou que os alelos resistentes eram provenientes da raça Gir. Já os *QTLs* encontrados nos cromossomos 7 e 14, para a estação seca, indicaram que os alelos que conferiam resistência eram provenientes da raça Holstein. Machado et al. (2010), também trabalhando com microssatélites, identificaram *QTLs* nos cromossomos 2, 5, 7, 10, 11, 23 e 27. No cromossomo 2 (BTA 2), o *QTL* para a estação seca foi responsável por 4,22% da variação fenotípica e apresentou efeito de dominância, em que os animais heterozigotos apresentaram menor número de carrapatos em relação à média dos homozigotos. No BTA 5, o *QTL* para a estação chuvosa apresentou um efeito aditivo negativo, mostrando que os alelos provenientes da raça Holstein provocaram um aumento da resistência dos animais, contrastando o resultado mostrado por Gasparin et al (2007). No cromossomo 11 (BTA 11), eles verificaram que o *QTL* para estação chuvosa explicou 5,26% da variação fenotípica; e no cromossomo 23 (BTA 23), uma região de *QTL* foi identificada tanto na estação seca como na chuvosa, e explicou 5,9% e 5,7% da variação para a característica, respectivamente. As porcentagens das variações fenotípicas explicadas pelos *QTL* são consideráveis e mostram que existe forte relação entre essas regiões do genoma e a resistência dos animais ao carrapato. Ainda no cromossomo 23, Martinez et al (2006) observaram uma relação entre os alelos do gene BoLA DRB3 e a resistência dos bovinos ao carrapato. Este gene pertence ao complexo bovino de histocompatibilidade, envolvido nos processos antiinflamatórios, através da codificação de

moléculas de superfície imprescindíveis durante o processo de reconhecimento de antígenos (ACOSTA-RODRÍGUEZ et al., 2005). Esses dados estão compilados em uma base de dados conhecida como *CattleQTLdb* (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) (HU et al., 2010; 2013) e podem ser visualizados na Figura 4.

Figura 4 - QTLs para resistência a carrapato depositados na base de dados *QTLdb*.

Os cromossomos onde já foram identificados *QTL* associados à resistência a carrapatos são mostrados em preto e as linhas coloridas mostram a região de *QTL* nos respectivos cromossomos. As vermelhas representam evidência estatística significativa, enquanto a azul representa evidência estatística sugestiva.



Fonte: modificado de *CattleQTLdb*.

Wang et al (2007b) trabalharam com expressão gênica na pele de animais *Bos taurus* resistentes e sensíveis às infestações, buscando encontrar genes diferencialmente expressos nos dois extremos fenotípicos. Após o desafio com larvas do carrapato, eles verificaram que 72 genes foram super expressos e 76 genes tiveram sua expressão diminuída nos dois grupos de animais. Dentre os super expressos, está o gene responsável pela produção da proteína HFL-B5, expressa em superfície celular e presente nas células dendríticas, responsáveis pelo reconhecimento e apresentação de antígenos e envolvidas na resposta imune inata e adaptativa (SHORTMAN; LIU, 2002); além de genes relacionados com a divisão celular e metabolismo de lipídios. Entre os que tiveram sua expressão reduzida, também foram encontrados genes pertencentes ao sistema imunológico, como o receptor para citocinas e o complexo MHC classe I, e genes envolvidos na composição epidérmica (queratinas). Verificaram também que 18 genes, entre eles os colágenos dos tipos I, III e VI (*COL I, III e VI*) e as catepsinas, foram super expressos em animais resistentes e tiveram a expressão reduzida nos sensíveis, sugerindo que a estrutura da pele, a qual funciona como uma barreira, influencia na resistência. Além disso, 48 genes apresentaram expressão reduzida no grupo dos resistentes e aumentada nos sensíveis. Piper et al (2010) detectaram 22 genes diferencialmente expressos, em animais *Bos taurus* e *Bos indicus*. De maneira geral, são genes relacionados com as

respostas imunes inata e adquirida, como o C3 (componente do complemento 3) e genes pertencentes à matriz extracelular (colágenos).

Barendse (2007) verificou que um polimorfismo localizado no cromossomo 14, próximo ao gene *RIPK2* (*Receptor-interacting serine-threonine kinase 2*), apresentou associação com a resistência. Este gene está envolvido tanto na resposta imune inata, como na adquirida, participa da ativação de linfócitos T (RUEFLI-BRASSE et al., 2004) e do processo inflamatório (KOBAYASHI et al., 2005), pode estar relacionado ao tratamento de uma infecção (McCULLY et al., 2008) e no reparo tecidual após uma lesão (ADAMS et al., 2010). Wang et al (2007b) verificaram que o *RIPK2* se expressa na pele e os níveis dele caem após a infestação pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, mostrando ser sensível ao ataque provocado pelo ectoparasita. Posteriormente, Porto Neto et al (2012), trabalhando com camundongos, confirmaram que no cromossomo 14 existe uma região de *QTL* para a resistência às infestações, próxima ao gene *RIPK2*.

Kongsuwan et al (2010) estudaram a expressão gênica de uma série de moléculas presentes na epiderme, com o objetivo entender a importância da barreira epidérmica na resistência dos animais. Eles observaram que os animais resistentes apresentaram super expressão de genes que codificam queratinas basais (*KRT5 - Keratin 5 e KRT14 - Keratin 14*), da enzima transglutaminase I (TGM1) e do fator de transcrição para o linfócito B (*BLIMP1*), sugerindo que o sucesso dos bovinos em evitar a fixação das larvas pode estar associado à rápida diferenciação da epiderme.

Bagnall et al (2009) encontrou uma relação entre os genes envolvidos com canais de cálcio, como o *AHNAK* (*AHNAK nucleoprotein*), *CASQ1* (*Calsequestrin 1*), *IL2* (*Interleucin 2*), *CALM3* (*Calmodulin 3*), o *PLCG1* (*Phospholipase C*), e a resistência, já que eles foram super expressos em animais resistentes. Ibelli (2012) verificou que o gene *AQUAPORIN 5* (*AQP 5*) apresentou menores valores de expressão gênica após o desafio com o carrapato. Como este gene já foi associado ao aumento da permeabilidade passiva de água (NIELSEN et. al., 2002), acredita-se que repressão dele possa dificultar a passagem de água entre as células, o que impossibilita a alimentação do carrapato, levando-o à morte por dessecação, como possível mecanismo de defesa dos bovinos.

1.8 Anotação funcional de genes candidatos e estudo das vias metabólicas

Como já abordado anteriormente, os estudos de associação genômica permitem a identificação de regiões do genoma envolvidas em processos biológicos que estão relacionados com determinada característica (HINDORFF et al., 2011). Sabe-se que os genes não atuam isoladamente, mas estão envolvidos em uma série de processos biológicos que controlam as características poligênicas (SCHADT, 2009). Portanto, na era pós genômica, com o desenvolvimento de novas tecnologias no âmbito da biologia molecular e bioinformática, os estudos de anotação funcional passaram a ser realizados para um grande conjunto de genes simultaneamente (HUANG et al., 2007). Isto permite o entendimento da maneira como eles desempenham suas atividades em uma via metabólica, essencial para o estudo dos processos fisiológicos que influenciam o fenótipo de interesse (BALLARD et al., 2009; CONESA et al., 2005; ELEFTHEROHORINO et al., 2009; RAMANAN et al., 2012; SCHADT, 2009; ZHONG et al., 2010; WANG et al., 2007a; WANG et al., 2010). Dentre as ferramentas para anotação funcional de um conjunto de genes, podem ser citadas o *DAVID* (*Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery*), *EASE*, *GeneMerge* e *FuncAssociate*, entre outras (BERRIZ et al., 2003; CASTILLO-DAVIS; HARTL, 2003; DENNIS et al., 2003; HOSACK et al., 2003).

O estudo das funções dos genes e o entendimento dos processos metabólicos relacionados à interação parasita e hospedeiro possibilitam maior acurácia na seleção dos bovinos resistentes ao carrapato, aumentando a frequência dos alelos favoráveis nos rebanhos (FRISCH et al., 2000; PIPER et al., 2009).

1.9 Anotação funcional de SNPs

Atualmente, os *SNPs* são muito utilizados nos estudos de associação genômica (KRUGLYAK, 1999), que tem como objetivo identificar variantes presentes no genoma, relacionados com a variação de um fenótipo (SHERRY et al., 2001). Algumas bases de dados, como a *dbSNP*, podem auxiliar nos estudos de associação, já que fornecem informações importantes à respeito dos marcadores, tais como localização, função, qualidade e validação (SHERRY et al., 2001). Entretanto, apesar da quantidade de *SNPs* disponíveis nestas

plataformas, apenas pequena parcela é reguladora, ou seja, está relacionada com alterações em uma característica (YUAN et al., 2006).

Diferentes consequências podem ser atribuídas a um *SNP*, como alteração da estrutura proteica, através da modificação da composição de aminoácidos (SUNYAEV et al., 2000); regulação do processo de transcrição, através da alteração da função de um fator de transcrição ou do sítio de ligação do fator de transcrição (PROKUNINA et al., 2002); regulação do processo de *splicing* alternativo (CARTEGNI; KRAINER, 2002), entre outros.

Um *SNP* localizado em região codificadora pode promover uma terminação prematura da sequência do aminoácido, sendo considerado um polimorfismo *nonsense* (TABOR et al., 2002). Outro tipo de marcador, designado não sinônimo, pode alterar a composição de um aminoácido e, conseqüentemente, modificar a estrutura de uma proteína. Em contrapartida, os polimorfismos sinônimos não alteram a composição do aminoácido (TABOR et al., 2002). Vale ressaltar que, um *SNP* em região codificante, seja ele sinônimo ou não sinônimo, pode apresentar funções importantes, por exemplo, por alterar o sítio de ligação de um potencializador ou silenciador (YUAN et al., 2006).

A maior parte dos *SNPs* está localizada em região intergênica (não anotada) no genoma e não apresenta função conhecida (CAETANO, 2009). Entretanto, segundo Tabor et al (2002), esses polimorfismos podem atuar como acentuadores do processo de transcrição e, conseqüentemente, regular a expressão de algum gene. Em região de íntron, os polimorfismos podem ter função reguladora importante quando alteram o sítio de ligação do fator de transcrição (YUAN et al., 2006); e um *SNP* localizado em uma região de *splicing* pode apresentar alto risco, por quebrar a sequência consenso do sítio de *splicing*, alterando o padrão do processo de remoção de íntrons (TABOR et al., 2002).

Algumas ferramentas como o VEP - *Variant Effect Predictor* (<http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>) (McLAREN et al., 2010) e o *Annotator* (<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>) (WANG et al., 2010) são bastante utilizadas para a anotação funcional de *SNPs*.

2. JUSTIFICATIVA

A relevante participação da bovinocultura na economia brasileira impulsiona a busca por novas técnicas de produção, que visam minimizar perdas produtivas causadas por diversos fatores, dentre eles o parasitismo. A verificação de que existe variabilidade genética para resistência à infestação por carrapatos em bovinos Hereford e Braford, juntamente com as inovações obtidas recentemente nos campos da biologia molecular, genômica e bioinformática, permitem a identificação de genes e processos biológicos relacionados à resistência do hospedeiro aos carrapatos. O conhecimento das vias metabólicas nas quais esses genes estão inseridos e a maneira como eles agem contribuindo para a resistência ao carrapato poderá ser útil para se definirem estratégias de seleção mais acuradas no controle desse parasita.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo geral elucidar mecanismos genéticos envolvidos na resposta dos bovinos às infestações pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

3.2 Objetivos específicos

- Prospectar genes em regiões associadas à resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, obtidas por estudos de associação genômica ampla;
- Realizar anotação funcional dos genes encontrados;
- Realizar anotação funcional dos *SNPs* que apresentaram efeitos significativos;
- Estudar rotas metabólicas associadas aos genes prospectados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS)

O GWAS utilizado no presente estudo foi executado pela equipe do coordenador da rede GENETICK, Dr. Fernando Flores Cardoso, da Embrapa Pecuária Sul (Bagé), com utilização de um *chip* de *SNPs* de média densidade (que contém aproximadamente 54.000 *SNPs*) para a genotipagem dos polimorfismos.

4.1.1 Animais

No presente estudo, foram utilizados 260 animais pertencentes à raça Hereford e 500 animais da raça Braford (provenientes do cruzamento de animais com composição genética 5/8 Hereford com 3/8 Nelore), selecionados a partir de uma base de dados de mais de 2000 bovinos, avaliados para resistência ao carrapato após a infestação natural. Esses animais pertencem a rebanhos incluídos no programa de melhoramento genético da associação de criadores Conexão Delta G, criados no Rio Grande do Sul e, eventualmente, em outros estados do Brasil.

4.1.2 Monitoramento das infestações

O monitoramento das infestações foi realizado por meio da contagem de fêmeas do carrapato com tamanho superior a 4,5 mm em um dos lados do corpo do animal. O grau de infestação de cada animal foi avaliado pela média de pelo menos duas contagens consecutivas, com intervalos de aproximadamente trinta dias, conduzidas no sobreano, nos meses de maior incidência do parasito. Os animais avaliados não receberam antiparasitários com efeito acaricida prolongado durante o estudo. A avaliação foi feita dentro de grupos contemporâneos, com o registro de dados sobre manejo sanitário e regime alimentar,

informações de genealogia, controle de nascimento e produção. Este monitoramento foi executado pela equipe do Dr. Fernando Flores Cardoso, da Embrapa Pecuária Sul.

4.1.3 Seleção dos *SNPs* associados à resistência

O *GWAS* apresentou, após os testes de qualidade, um conjunto de 37.346 *SNPs* (dados não apresentados). O efeito de cada polimorfismo foi estimado com a utilização do método *ssGBLUP* (WANG et al., 2012), em desvios padrões, com relação à média da variância encontrada para o fenótipo, ou seja, corresponde à variância individual da presença do marcador (*SNP*) em relação à resistência ao carrapato (verificada através das contagens de carrapatos nos animais). Esta metodologia converte as estimativas dos valores genômicos em efeitos dos marcadores (WANG et al., 2012).

Estipulou-se um efeito mínimo de 6 desvios padrões (CARDOSO, comunicação pessoal) para a seleção dos *SNPs* que foram utilizados na prospecção de genes candidatos em regiões associadas identificadas no *GWAS*. Este valor foi escolhido após a obtenção do valor crítico, considerando α igual a 0,05 e realizando a correção de Bonferroni, através da divisão do valor de α pelo número de testes (37346), temos que $\alpha^* = 0,05/37346 = 1.338831e-06$. Assumindo um teste bicaudal (em que o efeito pode ser tanto positivo como negativo) e uma distribuição normal, temos que o valor crítico é igual a 4,83 desvios padrões. O valor 6 é ainda mais estrigente e corresponde a um p-valor de Bonferroni igual a $7.369021e-05$ ($P < 0.0001$), o qual é considerado bastante significativo. Desta maneira, foram encontrados 178 marcadores com efeitos significativos, distribuídos pelo genoma.

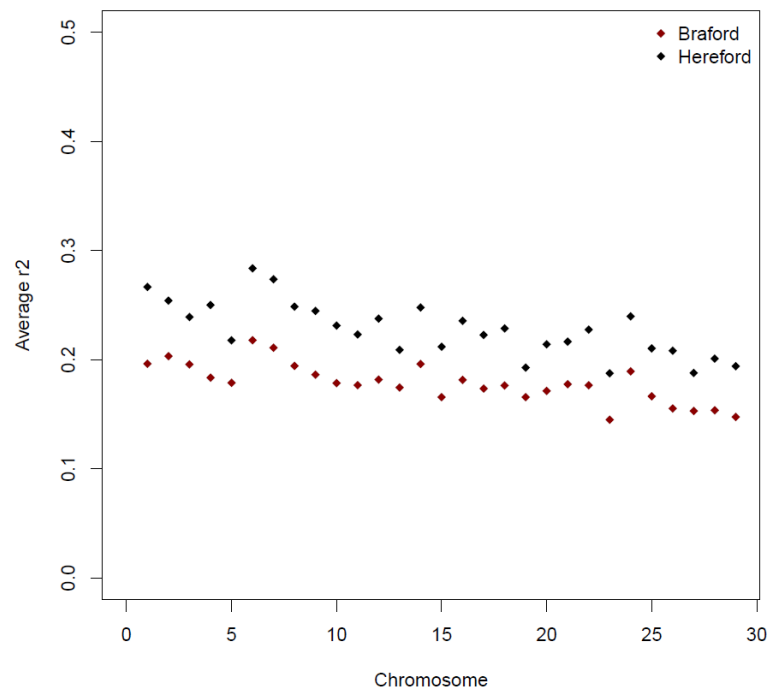
4.2 Prospecção de genes

A prospecção de genes nas regiões dos *SNPs* com efeitos significativos foi realizada com a utilização da ferramenta *BedTools Intersect* (<http://bedtools.readthedocs.org/en/latest/content/tools/intersect.html>). Este *software* permite a comparação entre elementos presentes no genoma, tais como polimorfismos (*SNPs*, *INDELS*, entre outros) ou elementos funcionais (genes), através da identificação das regiões nas quais

ocorrem sobreposições entre dois conjuntos de elementos genômicos. Essa intersecção ocorre toda vez que os elementos compartilham pelo menos uma base nucleotídica em comum.

Com base na média do desequilíbrio de ligação para as raças Hereford e Braford, que corresponde a aproximadamente 0,20, como pode ser visto na Figura 5 (CARDOSO, dados não publicados), foi estabelecido um intervalo de 200 Kb ao redor de cada polimorfismo com efeito significativo para a prospecção dos genes candidatos.

Figura 5 - Desequilíbrio de ligação para as raças Braford e Hereford. Média do desequilíbrio de ligação variando conforme a região do genoma. Os pontos vermelhos se referem à raça Braford e os pretos à raça Hereford.



Fonte: CARDOSO, dados não publicados.

Inicialmente, utilizando a ferramenta Awk, foi construído um arquivo no formato .gff (*general feature format*) no qual constavam as seguintes informações, separadas por colunas: nome dos polimorfismos, cromossomo nos quais eles estão localizados e as posições cromossômicas correspondentes ao intervalo de 200 Kb ao redor de cada *SNP*, que foi determinado pelas posições 1 (100 Kb antes do *SNP*) e posição 2 (100 Kb após o *SNP*), de forma que cada polimorfismo se localizasse exatamente na metade do intervalo. Posteriormente, a ferramenta *BedTools Intersect* confrontou as regiões de 200 Kb, estabelecidas nesse arquivo .gff, com o genoma de referência UMD 3.1 do *Ensembl*. Desta maneira, o programa fornece uma caracterização detalhada da região, como a identificação de pseudogenes, micro RNA e outras informações, entretanto, no presente trabalho, somente os genes foram prospectados.

4.2.1 Anotação funcional dos genes prospectados nos cromossomos 7, 21 e 23.

Visto que foram observados *SNPs* de maiores efeitos nos cromossomos 7, 21 e 23, foi realizada a anotação funcional dos genes prospectados nesses cromossomos, com utilização do programa *DAVID* (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*), que se sustenta em diversas bases de dados, tais como *Gene Ontology*, *UniProt*, *KEGG*, *InterPro*, e fornece um conjunto de ferramentas para mineração de dados e anotação funcional detalhada dos genes, além da visualização das vias metabólicas nas quais esses genes estão inseridos (DENNIS et al., 2003). Para a realização da análise, foi escolhida a opção "*Functional Annotation*", seguida de "*Functional Annotation Table*", e selecionada a espécie *Bos taurus*. Além disso, foi executada uma consulta manual a outras bases de dados, como o *NCBI - National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), *GeneCards* (<http://www.genecards.org/>), *RefSeq* e *Ensembl Genome Browser* (<http://www.ensembl.org/index.html>) (HUBBARD et al., 2002), que auxiliaram na anotação funcional dos genes. Em alguns casos foi realizada uma análise comparativa com a espécie humana (*Homo Sapiens*).

4.2.2 Seleção dos genes candidatos e estudo das vias metabólicas envolvidas na resistência

Após anotação funcional dos genes localizados nos cromossomos 7, 21 e 23, onze genes candidatos foram selecionados de acordo com suas funções. Foi realizado um estudo detalhado desses genes baseando-se na literatura, com o objetivo de relacioná-los, de alguma maneira, com a resistência a carrapatos. Além disso, foram consultados os mapas das vias metabólicas fornecidos pelo *KEGG*, os quais são diagramas gráficos que representam as redes de interações moleculares em diversos processos celulares e permitiram melhor entendimento dos processos biológicos envolvidos na resistência.

4.2.3 Anotação funcional dos *SNPs* de efeitos significativos

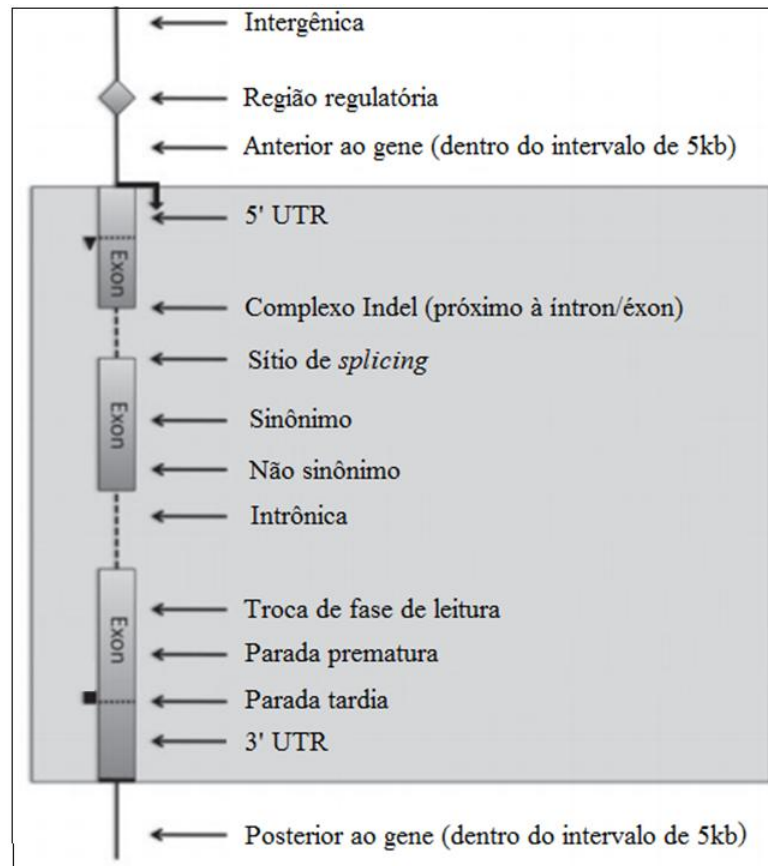
A anotação funcional dos polimorfismos foi realizada com a utilização do *Variant Effect Predictor (VEP)* (McLAREN et al., 2010), disponível na interface do *Ensembl* (HUBBARD et al., 2002). Para a realização da análise, foi construído um arquivo em formato de texto (.txt), que continha o número do cromossomo ao qual o marcador pertence, sua posição, a substituição que o caracteriza e a fita (*forward* (+) ou *reverse* (-)) em que se encontra.

Para verificar a localização da variante, o *VEP* compara as posições dos *SNPs* fornecidas no arquivo de entrada com o genoma de referência *Bos taurus* presente na interface do *Ensembl*. Esta região pode ser intergênica (entre genes), intrônica, em sítio de *splicing* ou éxon.

Além disso, quando o *SNP* está localizado dentro de um éxon, novos códons são construídos com cada alelo variante e, posteriormente, estes códons são comparados com o de referência, determinando a consequência do marcador. Desta maneira, se é uma variante sinônima, não altera a composição do aminoácido codificado; se é não sinônima, ocorre a troca de uma ou mais bases e resulta na codificação de um aminoácido diferente, mas com tamanho preservado (*missense*); se causa uma terminação prematura (*nonsense*) ou tardia na síntese de um aminoácido, se constitui uma inserção ou deleção (Indel); ou se causa a troca de fase de leitura. Quando a variante se encontra em região regulatória, o *VEP* verifica a possível consequência do *SNP* na base de dados *Functional Genomics*, presente na plataforma do *Ensembl*. Neste caso, a variante não altera a composição de aminoácido, mas pode influenciar no nível, local ou tempo da expressão gênica. Um *SNP* é considerado anterior ao gene toda vez que ele se encontra a uma distância de até 5 Kb em relação à extremidade 5' do gene; e posterior quando está localizado a uma distância de até 5 kb da extremidade 3' do gene. A Figura 6 mostra um esquema simplificado das possíveis localizações e classificações funcionais que podem ser atribuídas a um polimorfismo em análise funcional com a ferramenta *VEP*.

Figura 6 - Possíveis localizações e consequências dos SNPs analisados no software Variant Effect Predictor (VEP).

Um *SNP* pode se localizar em região intergênica, intrônica, regulatória, éxon, sítio de *splicing*, anteriormente ou posteriormente a um gene, 5' ou 3' UTRs. Variantes sinônimas não alteram a composição do aminoácido codificado, ao contrário das não sinônimas, que resultam na codificação de um aminoácido diferente, e podem causar uma terminação prematura/tardia na síntese do mesmo ou alteração da composição proteica. Além disso, os marcadores podem constituir uma inserção ou deleção (Indel); ou causar uma troca de fase de leitura durante a síntese proteica.



Fonte: modificado de McLAREN et al., 2010.

O *VEP* permite a escolha de algumas opções para a realização das análises, como a seleção da base de transcritos a ser utilizada (*Ensembl (default)* ou *Refseq*), dos identificadores desejados (*Gene symbol (default)*, *CCDS (Consensus Coding Sequence)*, *protein* e *HGVS (Human Genome Variation Society)*); possibilita a identificação e determinação da frequência de variantes localizadas em uma mesma posição; a utilização de algoritmos (*SIFT* e *PolyPhen*) para prever se a substituição caracteriza uma alteração nas funções da proteína; determina a consequência de variantes localizadas em regiões regulatórias e no sítio do fator de transcrição. Além disso, o programa permite opções de filtragem dos *SNPs* por frequência, por marcadores localizados somente em região regulatória, e pode apresentar mais de uma consequência por variante analisada. Para a

realização da análise no *VEP*, foi escolhida a espécie *Bos taurus* e nenhum dos parâmetros citados acima foi alterado, utilizando-se as opções pré-selecionadas (*default*).

4.2.4 Classificação funcional dos genes prospectados

Visando verificar como os genes prospectados se distribuíam nas diferentes vias metabólicas, foi realizada uma classificação funcional com utilização da ferramenta *KEGG* - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (OGATA et al., 1999), a qual consiste em um conjunto de bases de dados que permite a análise sistemática das funções dos genes, a partir da integração entre informações genômicas (presentes na base de dados gênica) e funcionais (presentes na base de dados das vias metabólicas). Para classificar os genes, o programa realiza uma comparação entre a lista de genes de interesse e as informações contidas em sua base de dados (KANEHISA et al., 2011).

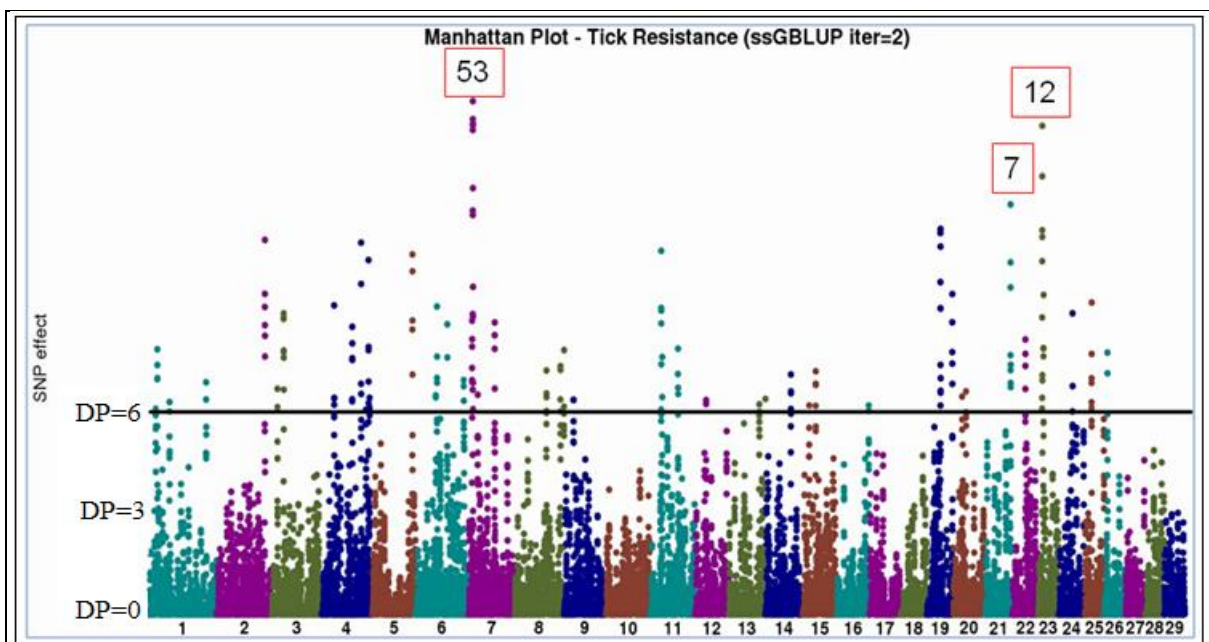
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS)

O GWAS para a resistência ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, realizado pela equipe do Dr. Fernando Flores Cardoso, da Embrapa Pecuária Sul (Bagé-RS), identificou 37.346 SNPs que passaram nos testes de qualidade. O efeito de cada polimorfismo foi estimado pelo método *ssGBLUP* (WANG et al., 2012). Após a filtragem dos marcadores, 178 deles foram considerados significativos, ou seja, apresentaram efeito igual ou maior a 6 desvios padrões em relação à média das contagens de carrapatos (Anexo 1) (CARDOSO, dados não publicados). A Figura 7 (*Manhattan Plot*) mostra o efeito de cada marcador (representado pelos pontos no gráfico) de acordo com os cromossomos nos quais esses polimorfismos se localizam.

Figura 7 - Efeitos dos SNPs identificados no estudo de associação genômica.

Os efeitos de cada marcador estimados por *ssGBLUP* estão representados no gráfico de acordo com a localização cromossômica de cada polimorfismo. Aqueles localizados em cima ou acima da linha de corte (que corresponde a 6 desvios padrões) foram considerados significativos. O número de genes prospectados nos cromossomos 7, 21 e 23, onde se encontram as regiões com os SNPs mais significativas no GWAS, está destacado.



Fonte: modificado de Cardoso, dados não publicados.

De maneira geral, a maioria dos polimorfismos apresentou baixo efeito, como pode ser observado pela concentração de pontos no intervalo entre 0 a 3 desvios padrões do gráfico. O maior efeito estimado foi de 15,0569, o menor foi igual a zero e a média foi de 7,9413 desvios padrões. Alguns cromossomos, tais como o 1, 3, 8, 14, 15, 24, 25 e 26 apresentaram poucos *SNPs* com efeito significativo, enquanto os cromossomos 4, 6, 7, 11 e 19 apresentaram maior número de polimorfismos com efeitos iguais ou maiores que os 6 desvios padrões. Pode-se notar que existem picos no gráfico, como os observados nos cromossomos 2, 4, 5, 7, 11, 19, 21 e 23, que representam os marcadores de maiores efeitos. Nos cromossomos 2, 5, 7, 11 e 23, já foram descritos *QTLs* para a resistência a carrapatos, conforme mencionado anteriormente. Apesar dos polimorfismos identificados nos cromossomos 2, 5, 11 e 23 localizarem-se em regiões distintas aos *QTLs* já descritos na literatura, este resultado reforça a importância desses cromossomos na resistência a carrapatos. Por outro lado, os polimorfismos identificados no cromossomo 7 estão na mesma região descrita por Gasparin et al (2007), corroborando a contribuição deste *QTL* para o fenótipo. No presente estudo, os maiores picos de efeitos de marcadores detectados pelo *GWAS* foram observados nos cromossomos 7, 21 e 23. Entre os 10 polimorfismos que apresentaram os maiores efeitos estimados, sete estão localizados no cromossomo 7, um deles no cromossomo 21 e dois no cromossomo 23. Para esses marcadores, o maior efeito foi de 15,0569 desvios padrões, para o *SNP* ARS-BFGL-NGS-16584 localizado no cromossomo 7 e o menor efeito foi de 12,0243, para o *SNP* ARS-BFGL-NGS-17977, localizado no cromossomo 21.

Não foi encontrado nenhum *SNP* com o efeito mínimo de 6 desvios padrões nos cromossomos 10, 17, 18, 27, 28 e 29 e, portanto, nenhum gene foi prospectado nessas regiões do genoma. Em contrapartida, Machado et al (2010) verificaram a existência de *QTLs* para resistência nos cromossomos 10 e 27. Tal fato pode estar relacionado às diferenças nas metodologias empregadas para realização dos estudos.

5.2 Prospecção de genes em desequilíbrio de ligação (DL) com os *SNPs* significativos

Foram prospectados 175 genes distribuídos pelo genoma, em desequilíbrio de ligação com os 178 marcadores que apresentaram efeitos significativos, no intervalo de 200 Kb (100 para cada lado do marcador). A lista completa dos genes pode ser visualizada no Quadro 1.

Quadro 1 - Lista dos genes prospectados em desequilíbrio de ligação com marcadores de efeitos significativos

Continua

*Crom	Símbolo do Gene	Nome do Gene
1	<i>EPHB1</i>	<i>Ephrin Receptor B1</i>
1	<i>ALCAM</i>	<i>Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule</i>
2	<i>B3GNT7</i>	<i>Beta-1,3-N-Acetylglucosaminyltransferase 7</i>
2	<i>PRMT1</i>	<i>Protein Arginine Methyltransferase 1</i>
2	<i>NCL</i>	<i>Nucleolin</i>
2	<i>NMUR1</i>	<i>Neuromedin U Receptor 1</i>
2	<i>ARMC9</i>	<i>Armadillo Repeat Containing 9</i>
2	<i>SNORA75</i>	<i>Small Nucleolar RNA box 75</i>
2	<i>SNORD20</i>	<i>Small Nucleolar RNA box 20</i>
2	<i>PTMA</i>	<i>Prothymosin Alpha</i>
2	<i>PDE6D</i>	<i>Phosphodiesterase 6D</i>
3	<i>EPS8L3</i>	<i>Epidermal Growth Factor Receptor Pathway Substrate 8-Related Protein</i>
3	<i>GSTM3</i>	<i>Glutathione S-Transferase M3</i>
3	<i>GSTM1</i>	<i>Glutathione S-Transferase M1</i>
3	<i>GSTM2</i>	<i>Glutathione S-Transferase M2</i>
3	<i>MIR2413</i>	<i>MicroRNA mir-2413</i>
3	<i>CSF1</i>	<i>Colony Stimulating Factor 1</i>
3	<i>AMPD2</i>	<i>Adenosine Monophosphate Deaminase 2</i>
3	<i>GNAT2</i>	<i>Guanine Nucleotide Binding Protein Alpha Transducing Activity Polypeptide 2</i>
3	<i>MIR197</i>	<i>MicroRNA 197</i>
3	<i>GNAI3</i>	<i>Guanine Nucleotide Binding Protein Alpha Inhibiting Activity Polypeptide 3</i>
3	<i>GPR61</i>	<i>G Protein-Coupled Receptor 61</i>
3	<i>CYB561D1</i>	<i>Cytochrome B561 Family, Member D1</i>
3	<i>PMVK</i>	<i>Phosphomevalonate Kinase</i>
3	<i>KCNN3</i>	<i>Potassium Intermediate/Small Conductance Calcium-Activated Channel, Subfamily N, Member 3</i>
3	<i>AMIGO1</i>	<i>Adhesion Molecule With Ig-Like Domain 1</i>
3	<i>ATXN7L2</i>	<i>Ataxin 7-Like 2</i>
4	<i>SND1</i>	<i>Staphylococcal Nuclease And Tudor Domain Containing 1</i>
4	<i>LRRC4</i>	<i>Leucine Rich Repeat Containing 4</i>
4	<i>CNTNAP2</i>	<i>Contactin Associated Protein-Like 2</i>
4	<i>MIR129-1</i>	<i>MicroRNA 129-1</i>
4	<i>LEP</i>	<i>Leptin</i>
4	<i>DNAH11</i>	<i>Dynein, Axonemal, Heavy Chain 11</i>
4	<i>ZNF804B</i>	<i>Zinc Finger Protein 804B</i>
4	<i>GBX1</i>	<i>Gastrulation Brain Homeobox 1</i>
4	<i>ASB10</i>	<i>Ankyrin Repeat And SOCS Box Containing 10</i>
4	<i>ABCF2</i>	<i>ATP-Binding Cassette Sub-Family F Member 2</i>
4	<i>CHPF2</i>	<i>Chondroitin Polymerizing Factor 2</i>
4	<i>MIR671</i>	<i>MicroRNA 671</i>
4	<i>SMARCD3</i>	<i>SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily D, Member 3</i>

Continuação

*Crom	Símbolo do Gene	Nome do Gene
4	<i>NUB1</i>	<i>Negative Regulator Of Ubiquitin-Like Proteins 1</i>
4	<i>WDR86</i>	<i>WD Repeat Domain 86</i>
4	<i>RAPGEF5</i>	<i>Rap Guanine Nucleotide Exchange Factor 5</i>
4	<i>CDCA7L</i>	<i>Cell Division Cycle Associated 7-Like</i>
4	<i>AGAP3</i>	<i>ArfGAP With GTPase Domain, Ankyrin Repeat And PH Domain 3</i>
4	<i>SLC37A3</i>	<i>Solute Carrier Family 37 Member 3</i>
4	<i>RAB19</i>	<i>Member RAS Oncogene Family</i>
4	<i>MKRN1</i>	<i>Makorin Ring Finger Protein 1</i>
5	<i>SGSM3</i>	<i>Small G Protein Signaling Modulator 3</i>
5	<i>MKLI</i>	<i>Megakaryoblastic Leukemia 1</i>
5	<i>MIR2439</i>	<i>MicroRNA mir-2439</i>
5	<i>MCHR1</i>	<i>Melanin Concentrating Hormone Receptor 1</i>
5	<i>SLC25A17</i>	<i>Solute Carrier Family 25 Member 17</i>
5	<i>TNRC6B</i>	<i>Trinucleotide Repeat Containing 6B</i>
5	<i>ADSL</i>	<i>Adenylosuccinate Lyase</i>
5	<i>ST13</i>	<i>Suppression Of Tumorigenicity 13</i>
6	<i>SRD5A3</i>	<i>Steroid 5 Alpha-Reductase 3</i>
6	<i>EXOC1</i>	<i>Exocyst Complex Component 1</i>
6	<i>TMEM165</i>	<i>Transmembrane Protein 165</i>
6	<i>PDCL2</i>	<i>Phosducin-Like 2</i>
6	<i>CLOCK</i>	<i>Clock Circadian Regulator</i>
6	<i>NMU</i>	<i>Neuromedin U</i>
6	<i>SLC2A9</i>	<i>Solute Carrier Family 2 Member 9</i>
6	<i>WDR1</i>	<i>WD Repeat Domain 1</i>
6	<i>ZNF518B</i>	<i>Zinc Finger Protein 518B</i>
7	<i>MAST1</i>	<i>Microtubule Associated Serine/Threonine Kinase 1</i>
7	<i>RTBDN</i>	<i>Retbindin</i>
7	<i>RNASEH2A</i>	<i>Ribonuclease H2 Subunit A</i>
7	<i>PRDX2</i>	<i>Peroxiredoxin 2</i>
7	<i>JUNB</i>	<i>Jun B Proto-Oncogene</i>
7	<i>HOOK2</i>	<i>Hook Microtubule Tethering Protein 2</i>
7	<i>BEST2</i>	<i>Bestrophin 2</i>
7	<i>ASNA1 ArsA</i>	<i>Arsenite Transporter, ATP-Binding, Homolog 1</i>
7	<i>C7H19orf43</i>	<i>Chromosome 19 Open Reading Frame 43</i>
7	<i>TNPO2</i>	<i>Transportin 2</i>
7	<i>SNORD41</i>	<i>Small Nucleolar RNA box 41</i>
7	<i>FBXW9</i>	<i>F-Box And WD Repeat Domain Containing 9</i>
7	<i>DHPS</i>	<i>Deoxyhypusine Synthase</i>
7	<i>MORG1</i>	<i>Mitogen activated protein kinase organizer 1</i>
7	<i>WDR83OS</i>	<i>WD Repeat Domain 83 Opposite Strand</i>
7	<i>MANB</i>	<i>Phosphomannomutase</i>
7	<i>ZNF791</i>	<i>Zinc Finger Protein 791</i>
7	<i>GADD45GIP1</i>	<i>Growth Arrest And DNA Damage-Inducible Gamma Interacting Protein 1</i>
7	<i>RAD23A</i>	<i>RAD23 Homolog A</i>

Continuação

*Crom	Símbolo do Gene	Nome do Gene
7	<i>CALR</i>	<i>Calreticulin</i>
7	<i>FARSA</i>	<i>Phenylalanyl tRNA Synthetase Alpha Subunit</i>
7	<i>SYCE2</i>	<i>Synaptonemal Complex Central Element Protein 2</i>
7	<i>GCDH</i>	<i>Glutaryl CoA Dehydrogenase</i>
7	<i>KLF1</i>	<i>Kruppel-like factor 1</i>
7	<i>DNASE2</i>	<i>Deoxyribonuclease II</i>
7	<i>NFIX</i>	<i>Nuclear Factor I/X</i>
7	<i>MUC16</i>	<i>Mucin 16 Cell Surface Associated</i>
7	<i>TRMT1</i>	<i>tRNA Methyltransferase 1 Homolog</i>
7	<i>LYL1</i>	<i>Lymphoblastic Leukemia Associated Hematopoiesis Regulator 1</i>
7	<i>GM2A</i>	<i>GM2 ganglioside activator</i>
7	<i>SLC36A3</i>	<i>Solute Carrier Family 36 Member 3</i>
7	<i>SLC36A2</i>	<i>Solute Carrier Family 36 Member 2</i>
7	<i>SLC36A1</i>	<i>Solute Carrier Family 36 Member 1</i>
7	<i>FAT2</i>	<i>FAT atypical cadherin 2</i>
7	<i>CCDC69</i>	<i>Coiled-Coil Domain Containing 69</i>
7	<i>ZNF333</i>	<i>Zinc Finger Protein 333</i>
7	<i>EMR3</i>	<i>Egf-Like Module Containing, Mucin-Like, Hormone Receptor-Like 3</i>
7	<i>NDUFB7</i>	<i>NADH Dehydrogenase 1 Beta Subcomplex 7</i>
7	<i>TECR</i>	<i>Trans-2,3-Enoyl-CoA Reductase</i>
7	<i>BRD4</i>	<i>Bromodomain Containing 4</i>
7	<i>EPHX3</i>	<i>Epoxide Hydrolase 3</i>
7	<i>NOTCH3</i>	<i>Neurogenic locus notch homolog protein 3-like</i>
7	<i>ILVBL</i>	<i>Bacterial acetolactate synthase-like</i>
7	<i>SYDE1</i>	<i>Synapse Defective 1 Rho GTPase Homolog 1</i>
7	<i>CASP14</i>	<i>Caspase 14</i>
7	<i>CCDC105</i>	<i>Coiled-Coil Domain Containing 105</i>
7	<i>OR7C2</i>	<i>Olfactory Receptor, Family 7, Subfamily C, Member 2</i>
7	<i>AKAP8L</i>	<i>A Kinase Anchor Protein 8-Like</i>
7	<i>AKAP8</i>	<i>A Kinase Anchor Protein 8</i>
7	<i>IER2</i>	<i>Immediate Early Response 2</i>
7	<i>STX10</i>	<i>Syntaxin 10</i>
7	<i>NACCI</i>	<i>Nucleus Accumbens Associated 1</i>
7	<i>SNORD59</i>	<i>Small Nucleolar RNA box 59A</i>
8	<i>TNFSF8</i>	<i>Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily, Member 8</i>
8	<i>TNC</i>	<i>Tenascin C</i>
8	<i>DOCK5</i>	<i>Dedicator Of Cytokinesis 5</i>
8	<i>TNFSF15</i>	<i>Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily, Member 15</i>
11	<i>CDKL4</i>	<i>Cyclin-Dependent Kinase-Like 4</i>
11	<i>MAP4K3</i>	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase Kinase 3</i>
11	<i>SLC8A1</i>	<i>Solute Carrier Family 8 Member 1</i>
11	<i>SOS1</i>	<i>Son Of Sevenless Homolog 1</i>
12	<i>RXFP2</i>	<i>Relaxin/Insulin-Like Family Peptide Receptor 2</i>
15	<i>GRIK4</i>	<i>Glutamate Receptor, Ionotropic, Kainate 4</i>

Continuação

*Crom	Símbolo do Gene	Nome do Gene
15	<i>ARHGEF12</i>	<i>Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor GEF 12</i>
16	<i>PTPRT</i>	<i>Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor Type, T</i>
19	<i>DHRS7B</i>	<i>Dehydrogenase/Reductase SDR Family Member 7B</i>
19	<i>TMEM11</i>	<i>Transmembrane Protein 11</i>
19	<i>C19H17orf103</i>	<i>Chromosome 17 Open Reading Frame 103</i>
19	<i>MAP2K3</i>	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 3</i>
19	<i>KCNJ12</i>	<i>Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 12</i>
19	<i>RASD1 RAS</i>	<i>Dexamethasone-Induced 1</i>
19	<i>MED9</i>	<i>Mediator Complex Subunit 9</i>
19	<i>NT5M 5',3'</i>	<i>Nucleotidase, Mitochondrial</i>
19	<i>COPS3 COP9</i>	<i>Signalosome Subunit 3</i>
19	<i>FLCN</i>	<i>Folliculin</i>
19	<i>PLD6</i>	<i>Phospholipase D Family, Member 6</i>
19	<i>MPRIP</i>	<i>Myosin Phosphatase Rho Interacting Protein</i>
19	<i>TNFRSF13B</i>	<i>Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily, Member 13B</i>
19	<i>USP22</i>	<i>Ubiquitin Specific Peptidase 22</i>
19	<i>MAP2K6</i>	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 6</i>
19	<i>UTP18</i>	<i>Small Subunit SSU Processome Component Homolog</i>
19	<i>MBTD1</i>	<i>Mbt Domain Containing 1</i>
19	<i>ABCA5</i>	<i>ATP-Binding Cassette, Sub-Family A ABC1, Member 5</i>
20	<i>PARP8</i>	<i>Poly ADP-Ribose Polymerase Family, Member 8</i>
20	<i>NDUFAF2</i>	<i>NADH Dehydrogenase Complex I, Assembly Factor 2</i>
21	<i>SETD3</i>	<i>SET Domain Containing 3</i>
21	<i>CCNK</i>	<i>Cyclin K</i>
21	<i>CCDC85C</i>	<i>Coiled-Coil Domain Containing 85C</i>
21	<i>HHIPL1</i>	<i>Hedgehog Interacting Protein-Like 1</i>
21	<i>BCL11B</i>	<i>B-Cell CLL/Lymphoma 11B Zinc Finger Protein</i>
21	<i>CYP46A1</i>	<i>Cytochrome P450, Family 46, Subfamily A, Polypeptide 1</i>
21	<i>EMAPL</i>	<i>Echinoderm Microtubule Associated Protein Like 1</i>
22	<i>FOXP1</i>	<i>Forkhead Box P1</i>
23	<i>MDGA1</i>	<i>MAM Domain Containing Glycosylphosphatidylinositol Anchor 1</i>
23	<i>ZFAND3</i>	<i>Zinc Finger, AN1-Type Domain 3</i>
23	<i>LRFN2</i>	<i>Leucine Rich Repeat And Fibronectin Type III Domain Containing 2</i>
23	<i>U6</i>	<i>Small nuclear RNA U6</i>
23	<i>FTSJD2</i>	<i>FtsJ Methyltransferase Domain Containing 2</i>
23	<i>CCDC167</i>	<i>Coiled-Coil Domain Containing 167</i>
23	<i>TBC1D22B</i>	<i>TBC1 Domain Family, Member 22B</i>
23	<i>RNF8</i>	<i>Ring Finger Protein 8</i>
23	<i>PIM1</i>	<i>Pim-1 Oncogene</i>
23	<i>SNORD112</i>	<i>Small Nucleolar RNA box 112</i>
23	<i>TMEM217</i>	<i>Transmembrane Protein 217</i>
23	<i>7SK</i>	<i>RNA 7SK small nuclear</i>
24	<i>HRH4</i>	<i>Histamine Receptor H4</i>
24	<i>IMPACT</i>	<i>Imprinted And Ancient Gene Protein Homolog</i>

Conclusão

*Crom	Símbolo do Gene	Nome do Gene
24	<i>OSBPL1A</i>	<i>Oxysterol Binding Protein-Like 1A</i>
26	<i>ATAD1</i>	<i>ATPase Family, AAA Domain Containing 1</i>
26	<i>PTEN</i>	<i>Phosphatase And Tensin Homolog</i>

*Crom: cromossomo

5.2.1 Anotação funcional dos genes prospectados nos cromossomos 7, 21 e 23

Nas regiões mais significativas identificadas no estudo de associação, foram prospectados 53 genes no cromossomo 7, 7 no cromossomo 21 e 12 no cromossomo 23, totalizando em 72 genes. O Quadro 2 apresenta as principais funções dos genes prospectados nesses cromossomos.

Quadro 2 - Anotação funcional dos genes localizados nos cromossomos 7, 21 e 23

Continua

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
7	<i>MAST1</i>	<i>Microtubule Associated Serine/Threonine Kinase 1</i>	Montagem e organização das estruturas do citoesqueleto	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>RTBDN</i>	<i>Retbindin</i>	Ligação de retinoides e outros carotenoides na retina	<i>RefSeq, Jul 2012</i>
7	<i>RNASEH2A</i>	<i>Ribonuclease H2 subunit A</i>	Remoção dos fragmentos de Okasaki durante a replicação do DNA	<i>RefSeq, Aug 2009</i>
7	<i>PRDX2</i>	<i>Peroxiredoxin 2</i>	Regulação da ativação de leucócitos e da proliferação de células linfócitos T, e participa do processo inflamatório agudo	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>JUNB</i>	<i>jun B proto-oncogene</i>	Envolvido na via metabólica do Fator de Necrose Tumoral (TNF). Vasculogênese	<i>KEGG; Gene Ontology</i>
7	<i>HOOK2</i>	<i>Hook Microtubule Tethering Protein 2</i>	Montagem e organização do citoesqueleto	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>BEST2</i>	<i>Bestrophin 2</i>	Homeostase celular iônica	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>ASNA1</i>	<i>Arsa arsenite transporter, ATP-binding, homolog 1</i>	Transporte de arsênicos	<i>RefSeq, Oct 2011</i>
7	<i>C7H19orf43</i>	<i>Chromosome 7 open reading frame</i>	Abertura da fase de leitura no cromossomo 7	-
7	<i>TNPO2</i>	<i>Transportin 2</i>	Transporte e secreção intracelular	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>SNORD41</i>	<i>Small nucleolar RNA, C/D box 41</i>	Micro RNA nucleolar que conduz modificações químicas (como a metilação) em RNAs ribossomais	<i>KISS-LÁSZLÓ et al., 1996</i>
7	<i>FBXW9</i>	<i>F-box and WD repeat domain containing 9</i>	Catabolismo celular	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>DHPS</i>	<i>Deoxyhypusine synthase</i>	Metabolismo de aminoácidos, para formação do aminoácido hipusina	<i>RefSeq, May 2011</i>
7	<i>MORG1</i>	<i>Mitogen activated protein kinase organizer 1</i>	Associado a componentes extracelulares que regulam a sinalização da via metabólica quinásica	<i>Gene Ontology</i>

Continuação

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
7	<i>WDR83OS</i>	<i>WD repeat domain 83 opposite strand</i>	Não encontrada	-
7	<i>MANB</i>	<i>Phosphomannomutase</i>	Catalisa a transferência de um grupo químico funcional de uma posição para outra	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>ZNF791</i>	<i>Zinc finger protein 791</i>	Regulação da transcrição	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>GADD45GIP1</i>	<i>Growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma interacting protein 1</i>	Regulador negativo da passagem da fase G1 para a fase S durante o ciclo celular, em resposta ao dano do DNA	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>RAD23A</i>	<i>RAD23 homolog A</i>	Resposta celular ao estresse e ao dano no DNA	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>CALR</i>	<i>Calreticulin</i>	Armazenamento e sinalização da via de cálcio, regulação da expressão gênica, adesão celular, cicatrização de feridas e autoimunidade, além da montagem do Complexo Principal de Histocompatibilidade - MHC (<i>BoLA</i>) classe I	<i>MICHALAK et al., 2009; Gene Ontology</i>
7	<i>FARSA</i>	Phenylalanyl-tRNA synthetase, alpha subunit	Tradução	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>SYCE2</i>	<i>Synaptonemal complex central element protein 2</i>	Montagem e estabilização de complexos sinaptonêmicos durante o ciclo celular	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>GCDH</i>	<i>Glutaryl-CoA dehydrogenase</i>	Metabolismo de lipídeos	<i>KEGG</i>
7	<i>KLF1</i>	<i>Kruppel-like factor 1</i>	Desenvolvimento, diferenciação e maturação de eritrócitos	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>DNASE2</i>	<i>Deoxyribonuclease II</i>	Apoptose celular e diferenciação de eritrócitos	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>NFIX</i>	<i>Nuclear factor I/X</i>	Processamento metabólico do DNA e regulação da transcrição	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>MUC16</i>	<i>Mucin 16</i>	Barreira contra partículas e agentes infecciosos na superfície mucosa	<i>GeneCards</i>

Continuação

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
7	<i>TRMT1</i>	<i>tRNA methyltransferase 1</i>	Edição de RNA	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>LYL1</i>	<i>Lymphoblastic Leukemia Associated Hematopoiesis Regulator 1</i>	Maturação de vasos sanguíneos e do processo de hematopoiese	<i>GeneCards</i>
7	<i>GM2A</i>	<i>GM2 ganglioside activator</i>	Catalisa a degradação do gangliosídeo GM2	<i>GeneCards</i>
7	<i>SLC36A3</i>	<i>Solute carrier family 36 member 3</i>	Transporte de solutos, como íons e aminoácidos	<i>GeneCards</i>
7	<i>SLC36A2</i>	<i>Solute carrier family 36 (proton/amino acid symporter) member 2</i>		
7	<i>SLC36A1</i>	<i>Solute carrier family 36 (proton/amino acid symporter) member 1</i>		
7	<i>FAT2</i>	<i>tumor suppressor homolog 2</i>	Adesão celular, crescimento e diferenciação epidérmica	<i>Gene Ontology; GeneCards</i>
7	<i>CCDC69</i>	<i>Coiled-Coil Domain Containing 69</i>	Fator de transcrição	<i>UniProt</i>
7	<i>ZNF333</i>	<i>Zinc finger protein 333</i>	Regulação da transcrição	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>EMR3</i>	<i>Egf-like module hormone receptor-like 3</i>	Receptor envolvido nas interações mielóides durante as respostas imunes e inflamatórias. Além disso, constitui um fator de crescimento epidérmico	<i>UniProt; InterPro</i>
7	<i>NDUFB7</i>	<i>NADH dehydrogenase 1 beta subcomplex</i>	Formação de metabólitos precursores dos quais a energia é derivada	<i>Gene Ontology; RefSeq, Jan 2014</i>
7	<i>TECR</i>	<i>Trans-2,3-enoyl-CoA reductase</i>	Síntese de esteróides	<i>Gene Ontology</i>

Continuação

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
7	<i>BRD4</i>	<i>Bromodomain containing 4</i>	Segmentação da cromatina durante a mitose	<i>RefSeq, Jul 2008</i>
7	<i>EPHX3</i>	<i>Epoxide hydrolase 3</i>	Metabolismo de lipídeos	<i>NCBI</i>
7	<i>NOTCH3</i>	<i>Notch 3</i>	Desenvolvimento neural e homeostasia de cálcio intracelular (ligante de cálcio)	<i>RefSeq, Jul 2008; Gene Ontology</i>
7	<i>ILVBL</i>	<i>Bacterial acetolactate synthase like</i>	Catalisa o primeiro passo na biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada	<i>RefSeq, Jul 2008</i>
7	<i>SYDE1</i>	<i>Synapse defective 1</i>	Modula a atividade de GTPases da família Ras	<i>GeneCards</i>
7	<i>CASP14</i>	<i>Caspase 14</i>	Apoptose e diferenciação de queratinócitos	<i>Gene Ontology; GeneCards</i>
7	<i>CCDC105</i>	<i>Coiled-coil domain containing 105</i>	Formação do eixo central durante a citocinese	<i>UniProt</i>
7	<i>SLC1A6</i>	<i>Solute carrier family 1 member 6</i>	Transporte de íons e aminoácidos no controle da homeostase celular iônica	<i>GeneCards</i>
7	<i>OR7C2</i>	<i>Olfactory receptor, family 7, subfamily C, member 2</i>	Percepção de cheiro	<i>RefSeq, Jul 2008</i>
7	<i>AKAP8L</i>	<i>A kinase (PRKA) anchor protein 8-like</i>	Condensação da cromatina, segregação cromossômica e divisão nuclear durante o ciclo celular	<i>Gene Ontology</i>
7	<i>IER2</i>	<i>Immediate early response 2</i>	Resposta imediata a sinais mitogênicos e a vários sinais extracelulares	<i>InterPro</i>
7	<i>STX10</i>	<i>Syntaxin 10</i>	Transporte vesicular	<i>RefSeq, Oct 2012</i>
7	<i>NACCI</i>	<i>Nucleus accumbens associated 1</i>	Proliferação, apoptose e regulação da transcrição gênica	<i>RefSeq, Feb 2012</i>
7	<i>SNORD59</i>	<i>Small nucleolar RNA 59</i>	Micro RNA nucleolar que conduz modificações químicas (como a metilação) em RNAs ribossomais	<i>KISS-LÁSZLÓ et al., 1996</i>

Continuação

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
21	<i>SETD3</i>	<i>SET domain containing 3</i>	Atividade histona metiltransferase que funciona como coativadora da transcrição	<i>GeneCards</i>
21	<i>CCNK</i>	<i>Cyclin K</i>	Regulação da transcrição, a partir da associação com quinases dependentes de ciclinas	<i>RefSeq, Jul 2008</i>
21	<i>CCDC85C</i>	<i>Coiled-coil domain containing 85C</i>	Desenvolvimento cortical, especialmente na manutenção da glia radial	<i>GeneCards</i>
21	<i>HHIPL1</i>	<i>Hedgehog Interacting Protein-Like 1</i>	Associado com desordens como o gigantismo e doenças da artéria coronária	<i>GeneCards</i>
21	<i>BCL11B</i>	<i>B-cell CLL/lymphoma 11B</i>	Pode estar associado com defeitos nas células B	<i>RefSeq, Aug 2013</i>
21	<i>CYP46A1</i>	<i>Cytochrome P450, family 46, subfamily A, polypeptide 1</i>	Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários	<i>RefSeq, Jul 2008</i>
21	<i>EML1</i>	<i>Echinoderm microtubule associated protein like 1</i>	Montagem de microtúbulos	<i>Gene Ontology</i>
23	<i>MDGA1</i>	<i>MAM domain containing glycosylphosphatidylinositol anchor 1</i>	Codificação de imunoglobulinas	<i>InterPro</i>
23	<i>ZFAND3</i>	<i>Zinc finger, AN1-type domain 3</i>	Regulação da transcrição, tradução e organização do citoesqueleto	<i>InterPro</i>
23	<i>LRFN2</i>	<i>Leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 2</i>	Crescimento de neurites em neurônios do hipocampo	<i>UniProt</i>
23	<i>U6</i>	<i>Small nuclear RNA U6</i>	Não encontrada	-
23	<i>FTSJD2</i>	<i>FtsJ methyltransferase domain containing 2</i>	Acetilação e metilação de moléculas	<i>Gene Ontology</i>

Conclusão

Crom*	Símbolo do gene	Nome do gene	Funções desempenhadas pelos produtos proteicos	Referências/Base de dados
23	<i>CCDC167</i>	<i>Coiled-coil domain containing 167</i>	Não encontrada	-
23	<i>TBC1D22B</i>	<i>TBC1 domain family, member 22B</i>	Regula a atividade da GTPase pertencente à família Rab	<i>Gene Ontology</i>
23	<i>RNF8</i>	<i>Ring finger protein 8</i>	Regulação de muitas atividades celulares, como a divisão nuclear e o processo de reparação do DNA	<i>Gene Ontology</i>
23	<i>PIM1</i>	<i>Pim-1 proto-oncogene</i>	Envolvido na via metabólica Jak Stat e efetor de muitas vias de sinalização de citocinas, proliferação celular e apoptose	<i>BACHMANN; MOROY, 2005</i>
23	<i>SNORD112</i>	<i>Small nucleolar RNA box 112</i>	Micro RNA nucleolar envolvido no processo de metilação	<i>CAVAILLÉ et al., 2002</i>
23	<i>TMEM217</i>	<i>Transmembrane protein 217</i>	Associada à doenças como desordem bipolar e Alzheimer	<i>GeneCards</i>
23	<i>7SK</i>	<i>RNA 7SK small nuclear</i>	Micro RNA envolvido no processo de <i>splicing</i>	<i>GeneCards</i>

Crom*: cromossomo

5.2.2 Estudo das vias metabólicas para os genes candidatos nos cromossomos 7, 21 e 23.

Entre os genes anteriormente descritos, onze candidatos foram selecionados nos cromossomos 7, 21 e 23 para o estudo de vias metabólicas das quais eles participam. Foi possível observar que estes genes distribuem-se em diversas vias, que podem estar associadas com a resistência dos animais às infestações pelo carrapato *R. microplus*. As mais representativas estão relacionadas às respostas imunológicas dos hospedeiros (genes *PRDX2* - *Peroxiredoxin 2*, *JUNB* - *Jun B proto-oncogene*, *CALR* - *Calreticulin*, *FAT2* - *Tumor suppressor homolog 2*, *NOTCH3* - *Notch 3*, *MDGA1* - *MAM domain containing glycosylphosphatidylinositol anchor 1* e *PIMI* - *Pim-1 oncogene*), secreção e transporte intracelular (genes *BEST2* - *Bestrofin 2* e *TNPO2* - *Transportin 2*), influxo de cálcio (genes *CALR* e *NOTCH3* - *Notch 3*) e diferenciação e crescimento epidérmico (genes *FAT2*, *EMR3* - *Egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 3* e *CASP14* - *Caspase 14*). Pode-se notar que alguns genes estão envolvidos em mais de uma via metabólica, sugerindo que eles possam desempenhar funções diferentes, porém complementares, na resposta dos bovinos às infestações por carrapatos.

A Tabela 1 apresenta as localizações dos *SNPs* mais próximos a cada um dos 11 genes candidatos, além dos efeitos estimados de cada polimorfismo.

Tabela 1 - Localização e efeitos estimados dos *SNPs* mais próximos aos 11 genes candidatos.

Cromossomo	Gene	<i>SNP</i>	Efeito em Desvios Padrões	Localização do <i>SNP</i> em relação ao gene
7	<i>PRDX2</i>			Posterior
7	<i>JUNB</i>	ARS-BFGL-NGS-16584	15,05694485	Anterior
7	<i>BEST2</i>			Anterior
7	<i>TNPO2</i>			Íntron
7	<i>CALR</i>	ARS-BFGL-NGS-3372	14,52846469	Anterior
7	<i>FAT2</i>	ARS-BFGL-NGS-81508	8,56370013	Posterior
7	<i>EMR3</i>	ARS-BFGL-NGS-111321	8,073757374	Íntron
7	<i>NOTCH3</i>	ARS-BFGL-NGS-28362	7,226730254	Posterior
7	<i>CASP14</i>	ARS-BFGL-NGS-19382	6,869782908	Anterior
23	<i>MDGA1</i>	ARS-BFGL-NGS-36754	12,85624769	Íntron
23	<i>PIMI</i>	Hapmap58169-rs29027007	6,034834683	Anterior

Os genes *PRDX2*, *JUNB*, *BEST2* e *TNPO2* encontram-se em uma mesma região do genoma. Os 3 primeiros estão em desequilíbrio de ligação com o SNP ARS-BFGL-NGS-16584, que apresentou o maior efeito estimado no GWAS. Além disso, este polimorfismo localiza-se em região de íntron do gene *TNPO2*. O gene *PRDX2* codifica a proteína Peroxirredoxina 2, que regula a ativação de leucócitos e a proliferação de linfócitos T, que são importantes durante a resposta dos bovinos aos antígenos presentes na saliva do carrapato (BROSSARD; WIKEL, 1997). Esta proteína também participa do processo inflamatório agudo, que induz o início da reparação do tecido lesado pela fixação do carrapato (TILG et al., 1997). O processo de reparação é complexo e controlado pela interação de diversas moléculas, como fatores de crescimento, citocinas, proteínas da matriz extracelular e queratinócitos, que migram para o local da lesão e se diferenciam para que uma nova epiderme seja formada (MARTIN, 1997). Esta reação inflamatória é mediada também pelas proteínas codificadas pelos genes *JUNB* e *MDGA1* (que está em desequilíbrio de ligação com o SNP ARS-BFGL-NGS-36754, localizado no cromossomo 23, que apresentou efeito bastante significativo). Além disso, o *MDGA1* codifica imunoglobulinas, que podem participar da resposta humoral frente às infestações. Kashino et al (2005) verificaram que a resistência dos animais está associada com respostas imunes específicas que variam de acordo com os diferentes padrões de expressão de imunoglobulinas.

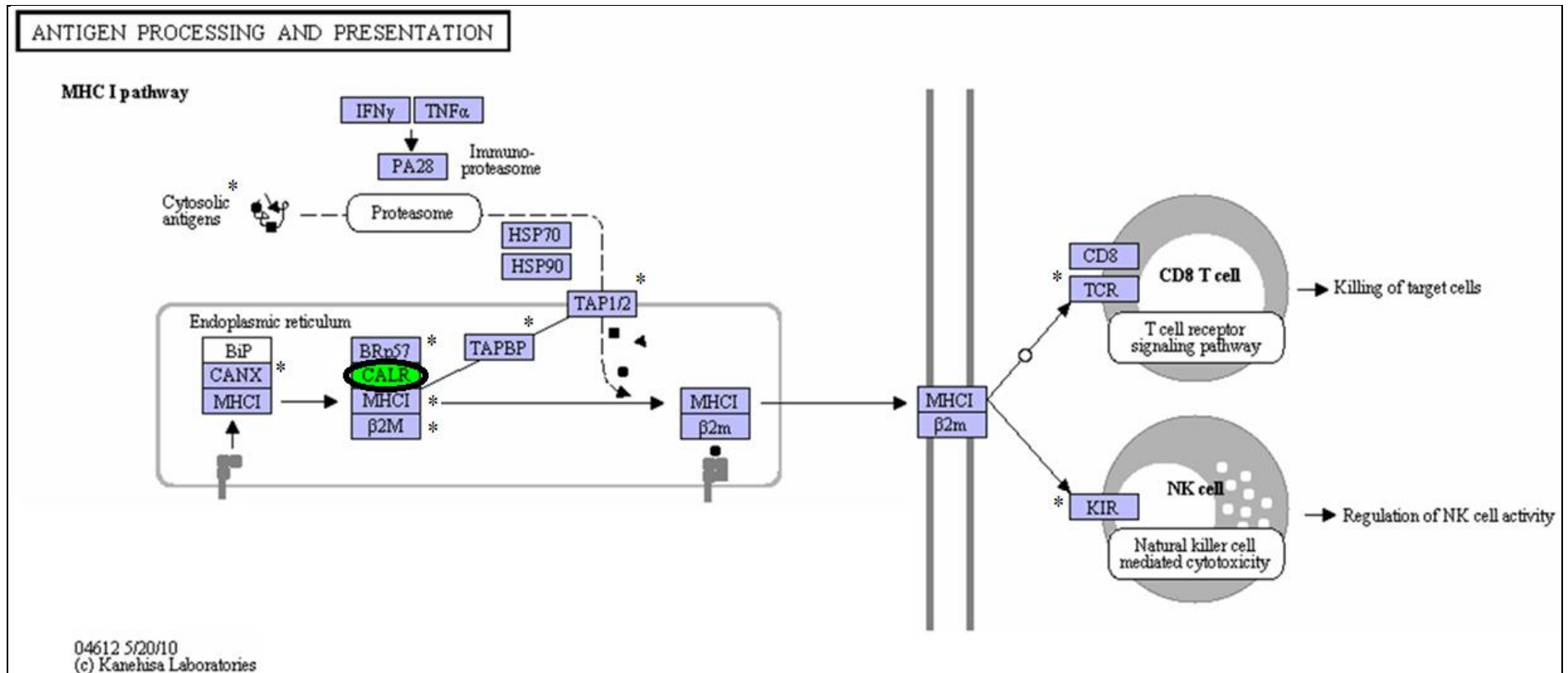
O SNP ARS-BFGL-NGS-3372, localizado no cromossomo 7, também apresentou efeito bastante significativo, e está em desequilíbrio de ligação com o gene *CALR*. Este gene codifica a calreticulina, uma proteína chaperona que desempenha várias funções celulares, como o armazenamento e sinalização da via de cálcio, regulação da expressão gênica, adesão celular, cicatrização de feridas e autoimunidade (MICHALAK et al., 2009). A homeostasia de cálcio intracelular é realizada também pela proteína codificada pelo gene *NOTCH3*. Bagnall et al (2009) e Kongsuwan et al (2008) demonstraram que alguns genes relacionados com o influxo de cálcio, como o *CALR*, *AHNAK* (*AHNAK nucleoprotein*), *CASQ1* (*Calsequestrin 1*), *IL2* (*Interleucin 2*), *CALM3* (*Calmodulin 3*) e *PLCG1* (*Phospholipase C*) podem estar associados com a resistência a carrapatos, já que eles se encontram super expressos em animais resistentes às infestações. Eles verificaram que o influxo de cálcio provoca a degranulação de mastócitos (BAGNALL et al., 2009) e, conseqüentemente, liberação de histamina, substância que promove um aumento da permeabilidade capilar dos vasos sanguíneos. A calreticulina também participa da montagem do Complexo Principal de Histocompatibilidade classe I (MHC I), conhecido como BoLA em bovinos (*Bovine Leucocyte Antigen*), que tem como principal função a apresentação de antígenos aos linfócitos

T citotóxicos CD8⁺ e às células NK (*Natural Killers*) (ABBAS; LICHTMAN, 2003). A síntese e montagem das moléculas de MHC I envolvem uma série de etapas. Os peptídeos antigênicos presentes no citosol são carregados para o retículo endoplasmático (RE) por uma molécula denominada TAP (TAP1/2) (transportador associado ao processamento de antígeno), localizada em sua membrana. No interior do RE, a TAP associa-se a uma proteína denominada tapasina (TAPBP), que também possui afinidade pelas moléculas do MHC I recém sintetizadas. Conseqüentemente, a tapasina faz com que a TAP forme um complexo com as moléculas de MHC classe I. Este complexo, do qual também fazem parte a calnexina (CANX), a calreticulina (CALR), a oxirredutase Brp57 e a β -2-microglobulina (β 2M), é responsável pelo carregamento de peptídeo antigênico no MHC I. Após a ligação com o peptídeo, as moléculas do MHC I perdem a afinidade pela tapasina, saem do RE e são transportadas até a superfície celular. Uma vez expresso na superfície celular, o complexo peptídeo-MHCI pode ser reconhecido por linfócitos T CD8⁺ ou por células NK, que reconhecem os antígenos nas próprias células infectadas, levando-as ao processo de apoptose (ABBAS; LICHTMAN, 2003). Stear et al (1990) verificaram que existe uma relação dos antígenos W6.1 e W7 do *BoLA* Classe I e a resistência ao carrapato *R. microplus*, já que os animais portadores desses antígenos apresentaram menor número de carrapatos. A Figura 8 apresenta a via metabólica do processamento e apresentação de antígenos do MHC Classe I, no qual a proteína calreticulina está inserida.

O gene *FAT2* codifica uma proteína caderina expressa em queratinócitos epidérmicos, que funciona como molécula de adesão celular e permite a migração de células epidérmicas (MATSUI et al., 2008). Além disso, este gene codifica fatores de crescimento envolvidos na diferenciação epidérmica, função mediada também pelo gene *EMR3*. Um trabalho realizado por Kongsuwan et al (2010) sugere que a habilidade do hospedeiro em evitar a fixação da larva do carrapato durante a infestação deve-se à modificações na epiderme, que estão relacionadas com a constituição de uma barreira de proteção na pele.

Figura 8 - Via metabólica do processamento e apresentação de antígenos no MHC Classe I.

Peptídeos antigênicos são transportados para o retículo endoplasmático (RE) pela TAP1/2, que se liga à tapasina (TAPBP) e, posteriormente, às moléculas de MHC classe I, formando o complexo peptídeo-MHC I, juntamente com a calnexina (CANX), a calreticulina (CALR), a β -2-microglobulina (β 2M) e a oxirredutase BRp57. Após a ligação com o peptídeo, este complexo perde a afinidade pela tapasina e é transportado até a superfície celular, onde será reconhecido pelos receptores TCR dos linfócitos T CD8⁺ ou pelos receptores KIR das células *Natural Killers* (NK) nas próprias células infectadas, levando-as ao processo de apoptose. O gene *CALR* está destacado. *Componentes da via citados na legenda.



Fonte: modificado de KEGG.

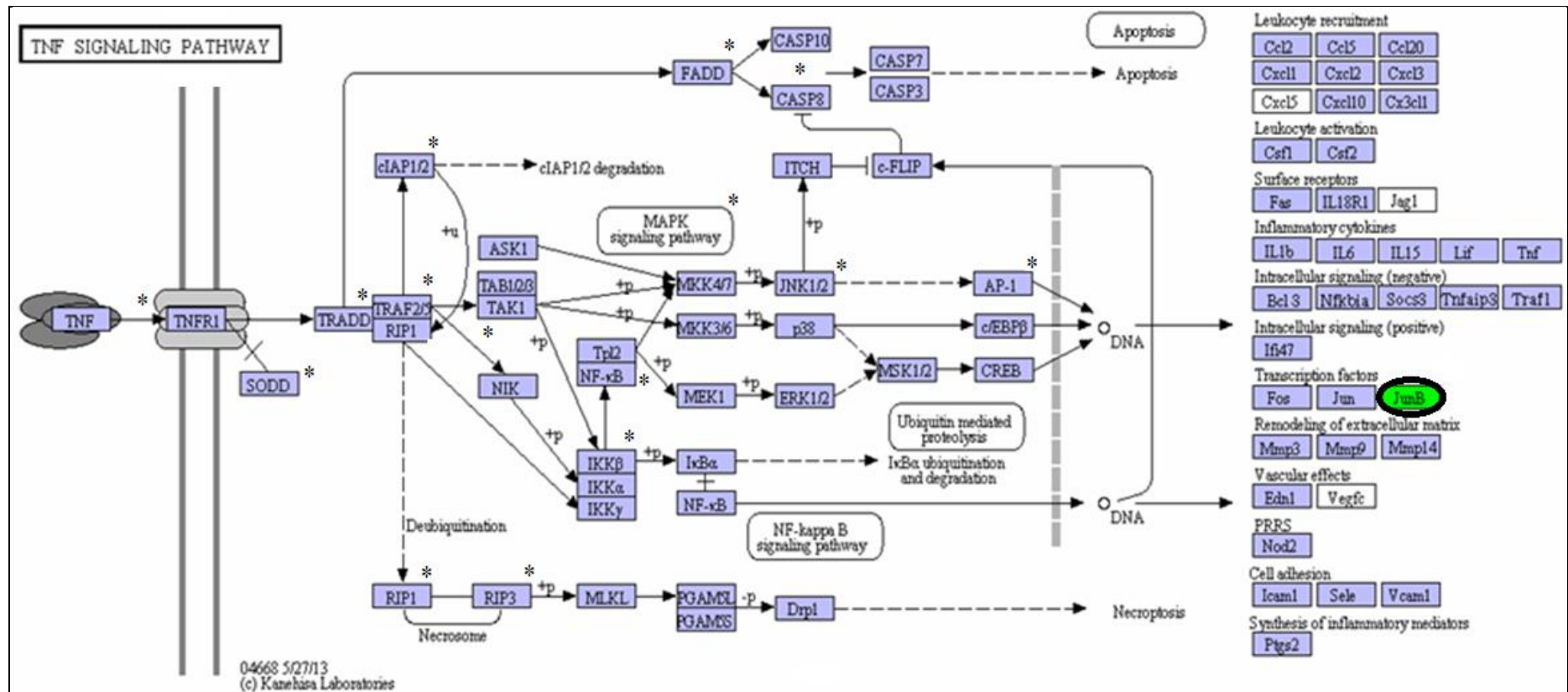
O gene JUNB codifica um fator de transcrição (*jun-B*) envolvido na via metabólica do fator de necrose tumoral (*TNF*), uma citocina proinflamatória que desencadeia importantes funções nos processos fisiológicos e patológicos, tais como proliferação e diferenciação celular, apoptose, indução da inflamação e modulação da resposta imune (BAUD; KARIN, 2001). Na via do TNF existem 2 tipos de receptores (TNF-RI e TNF-RII). A ligação do TNF ao receptor TNF-RI provoca a liberação da proteína SODD (*Silencer of Death Domains*) e induz o recrutamento da proteína adaptadora TRADD (*TNF receptor-associated death domain*). Esta interage com 3 outros tipos de proteínas, a FADD (*Fas-associated protein-containing death domain*), o TRAF2/5 (*TNF-R-associated factor 2 e 5*) e o RIP1 (*Receptor-Interacting Serine/Threonine-Protein Kinase 1*). A FADD será responsável por induzir as atividades das caspases 8 e 10, desencadeando o processo de apoptose. O TRAF2 pode ativar o inibidor de apoptose 1 e 2 (c-IAP 1/2) e também a proteína TAK1, que desencadeia a cascata de sinalização quinásica, resultando na ativação do JNK (*c-Jun quinase NH2-terminal*). Este é responsável pela fosforilação do fator de transcrição c-Jun, o que resulta na formação de AP-1 (*Activating Protein 1*) (CHU, 2013). O *jun-B* pertence à família de proteínas AP1 (*Activator protein-1*), que influencia na expressão de muitos genes, incluindo aqueles relacionados com proliferação e sobrevivência celular (SHAULIAN; KARIN, 2002) e resposta inflamatória (ZENZ et al., 2008). As atividades dessa família de proteínas são induzidas por fatores de crescimento, neurotransmissores, hormônios, processos infecciosos, citocinas, entre outros. Esses estímulos ativam a cascata de proteínas MAPK, que promovem uma fosforilação das proteínas AP1, potencializando suas atividades. A ativação de muitas células imunes é regulada pela sinalização de citocinas ativadas por fatores de transcrição, como o JUNB (SCHONTHALER et al., 2011). Zenz e Wagner (2006) mostraram que o JUNB interfere na diferenciação de células T helper, além de regular positivamente a expressão de Interleucina 4 (IL-4) durante a diferenciação celular (RINCON et al., 1997). Ainda na via do TNF, o RIP1 pode recrutar o RIP3 (*Receptor-Interacting Protein 3*) induzindo a formação do necrossomo e, conseqüentemente, desencadear o processo de necrose. Além disso, o IKK β degrada I κ B α levando translocação do NF- κ B (nuclear factor kappa B) para o núcleo, onde este iniciará a transcrição de vários genes alvo. A Figura 9 apresenta a via de sinalização do receptor I do *TNF*, destacando o gene *JUNB*. Outra função desempenhada pelo JUNB é a vasculogênese, ou seja, a formação de vasos sanguíneos (*Gene Ontology*). Apesar da relação entre esse processo e a resistência não estar descrita na literatura, acredita-se que a proliferação de vasos sanguíneos próximos ao local da lesão poderia permitir um transporte mais eficiente de moléculas responsáveis pela resposta

inflamatória e reparação da ferida. Em contrapartida, isso proporcionaria maior aporte sanguíneo ao carrapato, e esta relação poderia constituir um importante mecanismo a ser abordado em estudos posteriores.

O gene *PIM1* está inserido na via metabólica *JAK-STAT*, como pode ser visto na Figura 10. Em mamíferos, esta via é responsável pelo desenvolvimento do sistema imune e sinalização de diversas citocinas, envolvidas nos processos inflamatórios (RAWLINGS et al., 2004). Citocinas, tais como as Interleucinas 2, 3, 6 e 10 (IL-2, IL3, IL-6 e IL-10), ligam-se aos receptores específicos (*CytokineR*), e promovem a ativação de membros da família de proteínas tirosina-quinase (JAK). Estas fosforilam os transdutores de sinais STATs (*Signal Transducers and Activators of Transcription*), fazendo com que eles se dimerizem e desloquem-se para o núcleo da célula, onde ativarão ou reprimirão as atividades de vários genes alvo (RAWLINGS et al., 2004), tais como o PIM1. O gene PIM1 codifica uma proteína efetora responsável pela sinalização de citocinas e envolvida nos processos de proliferação e crescimento celular, imunidade e apoptose (BACHMANN; MOROY, 2005). O adaptador STAM (*Signal-Transducing Adapter Molecules*) facilita o processo de fosforilação dos STATs e, conseqüentemente, atua como um potencializador na via metabólica JAK/STAT, ao contrário dos reguladores negativos SOCS (*Suppressors of Cytokine Signaling*) e PIAS (*Protein Inhibitors of Activated Stats*). Os STATs ativados estimulam a transcrição dos genes SOCS e as proteínas codificadas se ligam aos receptores das proteínas JAK, inibindo as atividades das mesmas na via (RAWLINGS et al., 2004). Ibelli (2012) verificou que os genes STAT2, STAT3 e STAT5 são mais expressos após o desafio com o carrapato, sugerindo que esses transdutores de sinais sejam importantes para a ativação de genes envolvidos na resposta dos hospedeiros ao parasitismo.

Figura 9 - Via de sinalização do Receptor I do Fator de Necrose Tumoral (TNFRI).

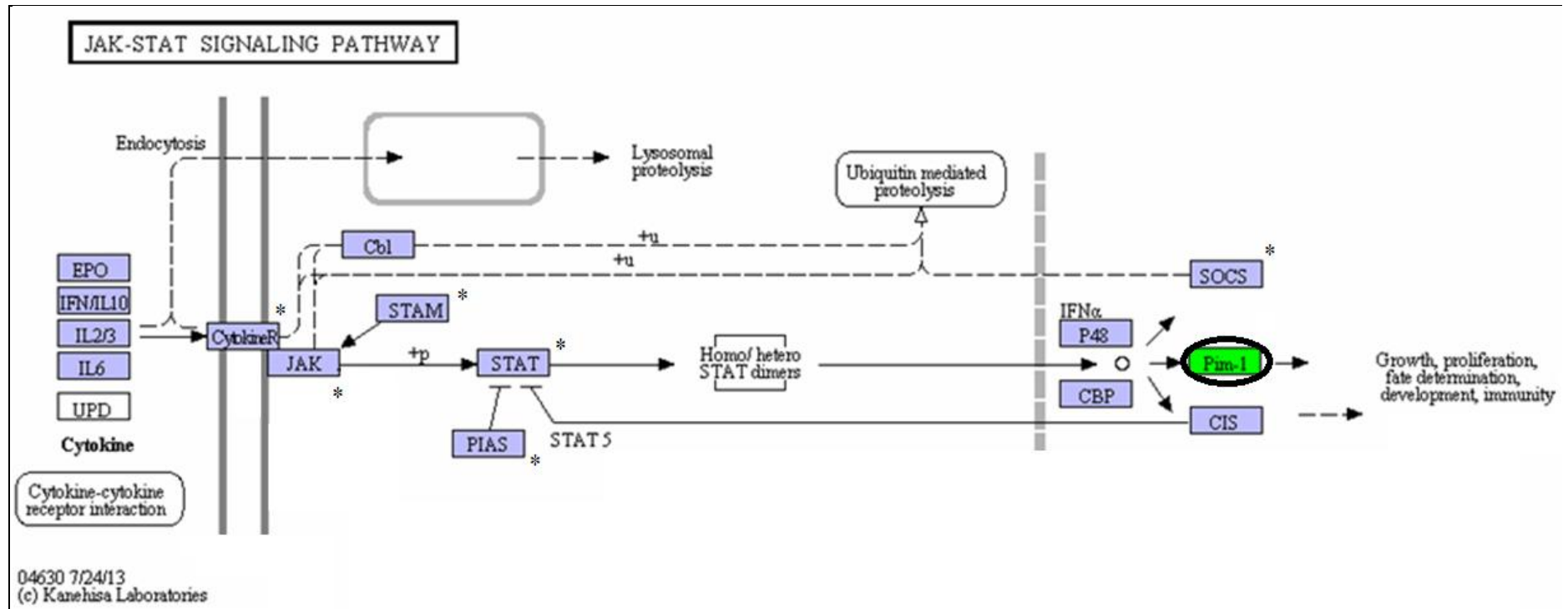
A ligação do TNF ao receptor TNF-RI causa a liberação da proteína SODD (*Silencer of Death Domains*) e induz o recrutamento da proteína adaptadora TRADD (*TNF receptor-associated death domain*). Esta pode interagir com a FADD (*Fas-associated protein-containing death domain*) e induzir a atividade das caspases (apoptose); ou com o TRAF2/5 (*TNF-R-associated factor 2 e 5*) e com o RIP1 (*Receptor-Interacting Serine/Threonine-Protein Kinase 1*). O TRAF2 interage com o inibidor de apoptose 1 e 2 (c-IAP 1/2), e também ativa a proteína TAK1, que por sua vez desencadeia a cascata quinásica, resultando na ativação de JNK (*c-Jun quinase NH2-terminal*). A JNK fosforila a proteína c-Jun formando a AP-1 (*Activating Protein 1*). O jun-B pertence a essa família de proteínas (AP1), que influencia na expressão de muitos genes, relacionados com proliferação e sobrevivência celular, e resposta inflamatória. O IKK β degrada I κ B α levando translocação do NF- κ B (*Nuclear Factor kappa B*) para o núcleo, onde ele inicia a transcrição de vários genes. O RIP1 (*Receptor-Interacting Protein 1*) recruta o RIP3 (*Receptor-Interacting Protein 3*), formando o necrossomo e desencadeando o processo de necrose. O gene JUNB está destacado. * Componentes citados na legenda.



Fonte: modificado de KEGG.

Figura 10 - Via metabólica JAK-STAT.

Após a ligação das citocinas aos receptores específicos, membros da família de tirosina-quinase (JAK) são ativados e fosforilam os transdutores de sinais STATs (Signal Transducers and Activators of Transcription). Estes se dimerizam e deslocam-se para o núcleo, onde ativam ou reprimem a expressão de genes alvo, tais como o PIM1, que está destacado na via metabólica. O gene PIM1 codifica uma proteína efetora de muitas vias de sinalização para citocinas e está envolvido nos processos de proliferação e crescimento celular, imunidade e apoptose. O adaptador STAMs facilita a ativação da via metabólica JAK/STAT, ao contrário dos reguladores negativos SOCS e PIAS, que inibem as atividades das proteínas JAK na via. * Componentes citados na legenda.

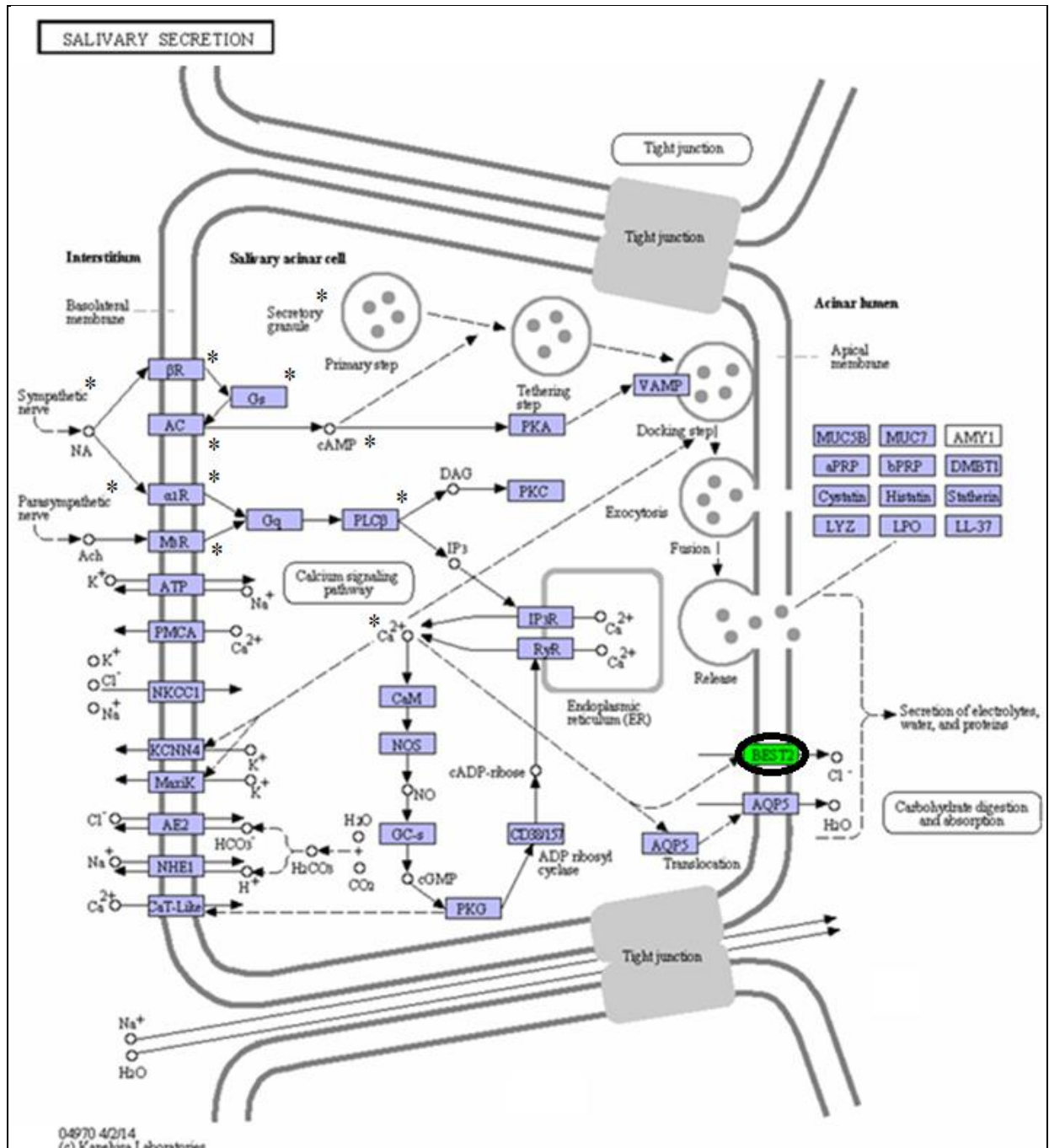


Fonte: modificado de KEGG.

Os genes BEST2 e o TNPO2 codificam as proteínas bestrofina 2 e transportina 2, respectivamente, as quais estão relacionadas com o transporte e secreção intracelulares. As bestrofinas são proteínas responsáveis pelo transporte de ânion cloro (Cl^-) (HARTZELL et al., 2008), e são ativadas pelo aumento da concentração intracelular de cálcio (QU et al., 2003). Como já foi discutido, as moléculas codificadas pelos genes NOTCH3 e o CALR estão envolvidas na regulação da homeostasia de cálcio intracelular e, conseqüentemente, podem estar relacionadas com as atividades desempenhadas pelas bestrofinas. Quando a concentração de cálcio intracelular aumenta, o Cl^- é expulso da célula, resultando em uma despolarização da membrana plasmática. Devido à osmose, esse efluxo de cloro é acompanhado por secreção aquosa (HARTZELL et al., 2005). Os canais de cloro estão presentes em diversas células epiteliais, como as glândulas salivares, o pâncreas, as vias aéreas (HARTZELL et al., 2005), e participam do transporte de fluido e eletrólitos (TSUNENARI et al., 2003). O gene BEST está inserido na via metabólica da secreção salivar, juntamente com o gene da Aquaporina 5 (AQP5), como pode ser observado na Figura 11. O estímulo gerado pelo sistema nervoso simpático (SNP) desencadeia a liberação do neurotransmissor noradrenalina (NA), que se liga aos receptores adrenérgicos βR (beta-1) e α1R (alpha-1A), ativando-os. Posteriormente, o βR ativa a proteína Gs (*Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha*), que por sua vez ativa a adenilado ciclase, fazendo com que ocorra a liberação de AMP cíclico. O aumento da concentração de AMP cíclico (cAMP) nas células acinares desencadeia a secreção de proteínas como a amilase salivar e a mucina, que serão armazenadas no grânulo secretório. O estímulo do nervo parassimpático promove a liberação de acetilcolina (Ach), que se liga ao receptor muscarínico (M3R) e ativa a fosfolipase C- β (PLC β), promovendo um aumento na concentração de cálcio intracelular (Ca^{2+}) e, conseqüentemente, a secreção de fluido, composto por água, eletrólitos e proteínas (TURNER; SUGIYA, 2002). Ibelli (2012) verificou que o gene AQP5 apresentou menores valores de expressão gênica após o desafio com o carrapato. Como este gene já foi associado ao aumento da permeabilidade passiva de água (NIELSEN et al., 2002), acredita-se que sua repressão poderia dificultar a alimentação do carrapato, como possível mecanismo de defesa dos bovinos.

Figura 11 - Mecanismos de secreção salivar.

O sistema nervoso simpático libera noradrenalina (NA), que se liga aos receptores adrenérgicos βR e $\alpha 1R$. O βR ativa a Gs (*Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha*), responsável pela ativação da adenilato ciclase 1 (AC), e isso faz com que ocorra a liberação de AMP cíclico. Esta liberação provoca a secreção de amilase e mucina, que serão armazenadas no grânulo secretório. O nervo parassimpático libera a acetilcolina (Ach), que se liga ao receptor muscarínico (M3R) e ativa a fosfolipase C- β (PLC β), desencadeando a liberação de Ca^{2+} intracelular. Esta elevação na concentração de cálcio leva à secreção de fluido (água, eletrólitos e proteínas). *Componentes citados na legenda.



Fonte: modificado de KEGG.

O CASP14 codifica a proteína caspase 14, que está envolvida no processo de apoptose (MCILWAIN et al., 2013) e na diferenciação terminal de queratinócitos na epiderme

(HVID et al., 2011). Estes são importantes para a formação de uma barreira de proteção na pele, além de liberarem citocinas e controlarem a expressão de células de adesão (KONGSUWAN et al., 2010; SALMON et al., 1994) e poderiam influenciar na resistência dos bovinos durante a fixação das larvas. Demerjian et al (2008) mostraram que a diferenciação celular induzida pela lesão do tecido epidérmico não ocorreu em camundongos deficientes em caspase 14 e a importância dessas modificações epidérmicas na resistência dos bovinos já foi demonstrada por Kongsuwan et al (2010).

5.2.3 Anotação funcional dos *SNPs* com efeitos significativos

Após a realização da anotação funcional dos 178 *SNPs* com efeitos significativos, verificou-se que os polimorfismos distribuem-se por diversas regiões do genoma. A Tabela 2 apresenta a localização de cada um dos polimorfismos analisados com o *VEP*, considerando o intervalo de 5 Kb, pré-determinado no programa. Quando o *SNP* localiza-se em região anotada, de acordo com o genoma de referência do *Ensembl*, o programa apresenta o gene que está mais próximo ao marcador e a distância entre eles, em pares de bases. Vale ressaltar que, em alguns casos, um mesmo marcador está em desequilíbrio de ligação com mais de um gene e, por isso, nota-se um maior número de possíveis localizações em relação ao número de marcadores. Além disso, na tabela abaixo são apresentados apenas 62 dos 175 genes encontrados no total, já que o *VEP* utiliza um intervalo de apenas 5 Kb, e a mineração dos genes, com utilização do *BedTools Intersect*, foi realizada em um intervalo de 200 Kb.

Tabela 2 - Localização dos polimorfismos associados à resistência ao carrapato bovino *R. microplus*.

Continua

Crom *	Substituição (Referência/ Alternativo)	<i>SNP</i>	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
1	C/T	Hapmap32384-BTA-160993	Intergênica	-	NA
1	A/G	BTB-02025707	Intergênica	-	NA
1	C/T	BTB-01437861	Intergênica	-	NA
1	A/C	BTB-01438016	Intergênica	-	NA
1	A/T	ARS-BFGL-NGS-46591	Intergênica	-	NA
1	C/T	BTB-00022097	Intrônica	-	<i>ALCAM</i>
1	C/T	ARS-BFGL-NGS-30809	Intergênica	-	NA
1	A/G	BTB-01355011	Intergênica	-	NA

Continuação

Crom *	Substituição (Referência/ Alternativo)	SNP	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
2	A/G	ARS-BFGL-NGS-118696	Intergênica	-	NA
2	G/T	BTA-20378-no-rs	Posterior	3526	<i>SNORD20</i>
2	G/T	BTA-20378-no-rs	Posterior	2003	<i>NCL</i>
2	G/T	BTA-20378-no-rs	Posterior	2866	<i>SNORA75</i>
2	C/T	ARS-BFGL-NGS-61938	Intergênica	-	NA
2	C/T	ARS-BFGL-NGS-66771	Posterior	2490	<i>C2orf57</i>
2	C/T	ARS-BFGL-NGS-27277	Intergênica	-	NA
3	C/T	ARS-BFGL-NGS-54121	Intrônica	-	<i>KCNN3</i>
3	A/G	ARS-BFGL-NGS-18525	Intrônica	-	<i>KCNN3</i>
3	C/T	ARS-BFGL-NGS-119309	Intergênica	-	NA
3	A/G	ARS-BFGL-NGS-86767	Intergênica	-	NA
3	A/C	BTA-67303-no-rs	Intrônica	-	<i>GSTM1</i>
3	C/G	ARS-BFGL-NGS-115128	Intergênica	-	NA
3	A/C	ARS-BFGL-NGS-43118	Intergênica	-	NA
3	A/G	Hapmap42629-BTA-67307	Anterior	3623	<i>AMPD2</i>
3	A/G	Hapmap42629-BTA-67307	Anterior	3548	<i>GNAT2</i>
3	A/G	BTA-67308-no-rs	Intrônica	-	<i>GNAI3</i>
4	C/T	BTB-01482585	Intrônica	-	<i>DNAH11</i>
4	C/G	ARS-BFGL-NGS-51663	Posterior	1378	<i>DNAH11</i>
4	A/G	Hapmap25788-BTA-123085	Intergênica	-	NA
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-79133	Intrônica	-	<i>RAPGEF5</i>
4	A/C	ARS-BFGL-NGS-21842	Intrônica	-	<i>ZNF804B</i>
4	A/G	BTA-71353-no-rs	Intrônica	-	<i>ZNF804B</i>
4	C/T	BTB-00196774	Intrônica	-	<i>ZNF804B</i>
4	C/T	BTB-00196827	Intrônica	-	<i>ZNF804B</i>
4	C/T	BTB-00196932	Intrônica	-	<i>ZNF804B</i>
4	C/T	Hapmap41207-BTA-22424	Intrônica	-	<i>LRRC4</i>
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-30397	Intrônica	-	<i>SND1</i>
4	C/T	BTA-22421-no-rs	Intergênica	-	NA
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-101028	Intergênica	-	NA
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-32907	Posterior	190	<i>SLC37A3</i>
4	A/G	Hapmap31474-BTA-152740	Intergênica	-	NA
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-42786	Intergênica	-	NA
4	A/G	BTB-01162852	Intergênica	-	NA
4	A/G	ARS-BFGL-NGS-24470	Anterior	1607	<i>CNTNAP2</i>
4	A/G	BTB-01755781	Intrônica	-	<i>CNTNAP2</i>
4	G/T	Hapmap38123-BTA-72477	Posterior	1196	<i>ABCF2</i>
4	C/T	ARS-BFGL-NGS-16030	Intrônica	-	<i>SMARCD3</i>
5	A/G	ARS-BFGL-NGS-105727	Intrônica	-	<i>TNRC6B</i>
5	A/G	BTA-75110-no-rs	Intrônica	-	<i>MKLI</i>
5	A/C	Hapmap23876-BTA-143610	Anterior	2090	<i>MKLI</i>
5	A/G	ARS-BFGL-NGS-21778	Intergênica	-	NA
5	C/G	ARS-BFGL-NGS-45453	Anterior	4394	<i>SNORA75</i>
6	C/T	Hapmap26267-BTC-039886	Intergênica	-	NA

Continuação

Crom *	Substituição (Referência/ Alternativo)	SNP	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
6	A/G	Hapmap32217-BTC-039812	Intergênica	-	NA
6	C/T	ARS-BFGL-NGS-41037	Intergênica	-	NA
6	G/T	Hapmap60756-rs29010402	Intergênica	-	NA
6	A/C	ARS-BFGL-NGS-78057	Intergênica	-	NA
6	C/T	BTB-01402075	Intergênica	-	NA
6	C/T	BTB-00263118	Intrônica	-	<i>CLOCK</i>
6	A/C	BTB-00263073	Intergênica	-	NA
6	C/T	BTB-00286847	Intrônica	-	<i>SLC2A9</i>
6	G/T	Hapmap60689-rs29012203	Intergênica	-	NA
6	C/T	ARS-BFGL-NGS-10777	Intergênica	-	NA
7	C/T	Hapmap50113-BTA-80661	Intergênica	-	NA
7	A/G	Hapmap50113-BTA-80661	Codificadora	-	NA
7	A/G	Hapmap50113-BTA-80661	Codificadora	-	NA
7	A/G	ARS-BFGL-NGS-19382	Codificadora	-	<i>CCDC105</i>
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-20506	Intergênica	-	NA
7	A/G	BTB-01568825	Codificadora	-	NA
7	A/G	BTB-01568825	Codificadora	-	NA
7	C/T	BTA-28930-no-rs	Intergênica	-	NA
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-111321	Intrônica	-	<i>EMR3</i>
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-119066	Intrônica	-	<i>NFIX</i>
7	A/G	ARS-BFGL-NGS-28374	Intergênica	-	NA
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-110780	Intergênica	-	NA
7	A/C	Hapmap38043-BTA-80713	Sítio de <i>Splicing</i>	-	<i>RAD23A</i>
7	A/C	Hapmap38043-BTA-80713	Anterior	1560	<i>GADD45GIP1</i>
7	A/G	ARS-BFGL-NGS-37497	Intrônica	-	<i>FARSA</i>
7	A/G	ARS-BFGL-NGS-3372	Anterior	2572	<i>RTBDN</i>
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-16584	Intrônica	-	<i>TNPO2</i>
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-16584	Anterior	2536	<i>SNORD41</i>
7	A/G	Hapmap57279-ss46526160	Posterior	244	<i>MORG1</i>
7	A/G	Hapmap57279-ss46526160	Codificadora	-	<i>DHPS</i>
7	C/T	BTA-80703-no-rs	Intergênica	-	NA
7	C/T	BTA-80694-no-rs	Intergênica	-	NA
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-54629	Intergênica	-	NA
7	C/T	UA-IFASA-8194	Anterior	3402	NA
7	C/T	UA-IFASA-8194	Anterior	3411	NA
7	A/G	Hapmap55135-rs29021864	Intrônica	-	<i>MUC16</i>
7	C/T	Hapmap48895-BTA-79049	Intergênica	-	NA
7	C/T	Hapmap59434-rs29012267	Intergênica	-	NA
7	A/G	UA-IFASA-7224	Posterior	572	<i>GM2A</i>
7	G/T	ARS-BFGL-NGS-14706	Posterior	854	<i>SLC36A2</i>
7	C/T	ARS-BFGL-NGS-81508	Intergênica	-	NA
7	C/T	Hapmap48570-BTA-104179	Intrônica	-	<i>FAT2</i>
8	C/T	BTA-81848-no-rs	Intergênica	-	NA
8	C/T	BTB-00357945	Intergênica	-	NA

Continuação

Crom *	Substituição (Referência/ Alternativo)	SNP	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
8	A/C	Hapmap38856-BTA-81842	Intrônica	-	<i>DOCK5</i>
8	C/T	ARS-BFGL-NGS-2653	Intrônica	-	<i>TNFSF8</i>
8	C/G	BTB-01953376	Intergênica	-	NA
8	C/T	BTB-01972512	Intergênica	-	NA
8	G/T	ARS-BFGL-NGS-104059	Intergênica	-	NA
8	C/T	Hapmap48909-BTA-82799	Intergênica	-	NA
9	A/G	BTB-01073083	Intergênica	-	NA
9	C/T	BTB-01716044	Intergênica	-	NA
11	C/T	ARS-BFGL-NGS-15820	Intrônica	-	<i>CDKL4</i>
11	C/T	BTB-00464022	Codificadora	-	<i>CDKL4</i>
11	C/T	BTB-00464022	Posterior	2186	<i>MAP4K3</i>
11	A/G	UA-IFASA-4213	Intrônica	-	<i>MAP4K3</i>
11	C/T	BTA-87499-no-rs	Intrônica	-	<i>MAP4K3</i>
11	C/T	ARS-BFGL-NGS-26022	Intrônica	-	<i>MAP4K3</i>
11	A/G	ARS-BFGL-BAC-11047	Intrônica	-	<i>MAP4K3</i>
11	G/T	BTB-00466422	Intergênica	-	NA
11	C/T	BTB-01903909	Intergênica	-	NA
11	C/T	ARS-BFGL-NGS-19268	Posterior	3902	NA
11	A/G	ARS-BFGL-NGS-83732	Intergênica	-	NA
11	C/T	ARS-BFGL-NGS-119320	Intergênica	-	NA
11	A/G	Hapmap31385-BTA-126644	Intergênica	-	NA
12	C/T	ARS-BFGL-NGS-42277	Intergênica	-	NA
12	A/G	ARS-BFGL-NGS-60085	Intergênica	-	NA
13	A/G	ARS-BFGL-NGS-28054	Intergênica	-	NA
13	G/T	BTB-01390173	Intergênica	-	NA
14	C/T	Hapmap42994-BTA-60216	Intrônica	-	<i>CSMD3</i>
14	A/C	BTA-90428-no-rs	Intergênica	-	NA
14	C/T	BTB-00488528	Intergênica	-	NA
14	A/G	ARS-BFGL-NGS-86714	Intergênica	-	NA
15	C/T	UA-IFASA-5855	Intergênica	-	NA
15	A/G	BTB-01640924	Intergênica	-	NA
15	A/C	ARS-BFGL-NGS-36604	Intergênica	-	NA
15	C/T	BTB-00592582	Intergênica	-	NA
16	C/T	ARS-BFGL-NGS-100673	Intergênica	-	NA
19	C/T	ARS-BFGL-NGS-105337	Intrônica	-	<i>FLCN</i>
19	C/T	ARS-BFGL-NGS-83644	Intrônica	-	<i>MPRIIP</i>
19	G/T	ARS-BFGL-NGS-86600	Intergênica	-	NA
19	C/T	UA-IFASA-8237	Intrônica	-	<i>TNFRSF13B</i>
19	C/T	ARS-BFGL-NGS-25445	Intrônica	-	<i>USP22</i>
19	A/G	ARS-BFGL-NGS-42120	Intergênica	-	NA
19	A/G	Hapmap42945-BTA-45128	Intergênica	-	NA
19	C/T	ARS-BFGL-NGS-28386	Intergênica	-	NA
19	C/T	Hapmap48343-BTA-45133	Intergênica	-	NA
19	A/G	Hapmap41268-BTA-45136	Posterior	2065	<i>KCNJ12</i>

Crom *	Substituição (Referência/ Alternativo)	SNP	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
19	C/T	BTA-121181-no-rs	Intergênica	-	NA
19	C/T	BTB-00749083	Intrônica	-	<i>UTP18</i>
19	A/G	Hapmap43271-BTA-46356	Intergênica	-	NA
19	G/T	BTB-00765879	Intergênica	-	NA
19	A/G	Hapmap40994-BTA-46361	Intergênica	-	NA
19	A/G	UA-IFASA-8183	Intrônica	-	<i>MAP2K6</i>
19	A/G	ARS-BFGL-NGS-112885	Intrônica	-	<i>MAP2K6</i>
20	C/T	BTA-49967-no-rs	Intergênica	-	NA
20	A/G	Hapmap50008-BTA-50183	Intergênica	-	NA
21	C/T	BTA-52957-no-rs	Intergênica	-	NA
21	A/G	Hapmap35472	Intrônica	-	<i>SETD3</i>
21	G/T	ARS-BFGL-NGS-17977	Intergênica	-	NA
21	C/T	ARS-BFGL-NGS-9612	Intrônica	-	<i>CCDC85C</i>
21	A/G	ARS-BFGL-NGS-13743	Anterior	4948	<i>CCDC85C</i>
21	C/T	ARS-BFGL-NGS-24407	Intrônica	-	<i>HHIPL1</i>
21	C/T	ARS-BFGL-NGS-90719	Intrônica	-	<i>CYP46A1</i>
21	A/G	ARS-BFGL-NGS-94839	Intrônica	-	<i>EMAPL</i>
22	C/T	Hapmap30347-BTA-54117	Intrônica	-	<i>FOXP1</i>
22	C/T	Hapmap46953-BTA-121345	Intrônica	-	<i>FOXP1</i>
22	C/T	Hapmap50289-BTA-24348	Intergênica	-	NA
22	G/T	ARS-BFGL-NGS-108422	Intergênica	-	NA
23	C/T	Hapmap58169-rs29027007	Intergênica	-	NA
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-118921	Intrônica	-	<i>RNF8</i>
23	A/G	ARS-BFGL-NGS-35220	Intergênica	-	NA
23	A/G	ARS-BFGL-BAC-30052	Intergênica	-	NA
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-116395	Intrônica	-	<i>MDGA1</i>
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-36754	Intrônica	-	<i>MDGA1</i>
23	A/C	Hapmap39546-BTA-121390	Intergênica	-	NA
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-18676	Intergênica	-	NA
23	A/G	ARS-BFGL-NGS-68466	Intergênica	-	NA
23	C/T	Hapmap26666-BTA-137044	Intrônica	-	<i>ZFAND3</i>
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-61941	Intergênica	-	NA
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-105087	Intergênica	-	NA
23	C/T	ARS-BFGL-NGS-118763	Intergênica	-	NA
23	G/T	ARS-BFGL-NGS-59308	Intergênica	-	NA
24	C/T	BTA-17380-no-rs	Intergênica	-	NA
24	A/G	BTB-01635208	Intrônica	-	<i>OSBPL1A</i>
25	C/T	ARS-BFGL-NGS-26313	Intergênica	-	NA
25	A/G	ARS-BFGL-NGS-41995	Intergênica	-	NA
25	A/G	ARS-BFGL-NGS-89168	Intergênica	-	NA
25	A/C	Hapmap39682-BTA-74189	Intergênica	-	NA
25	G/T	ARS-BFGL-NGS-84660	Intergênica	-	NA
25	A/G	ARS-BFGL-NGS-42918	Intergênica	-	NA

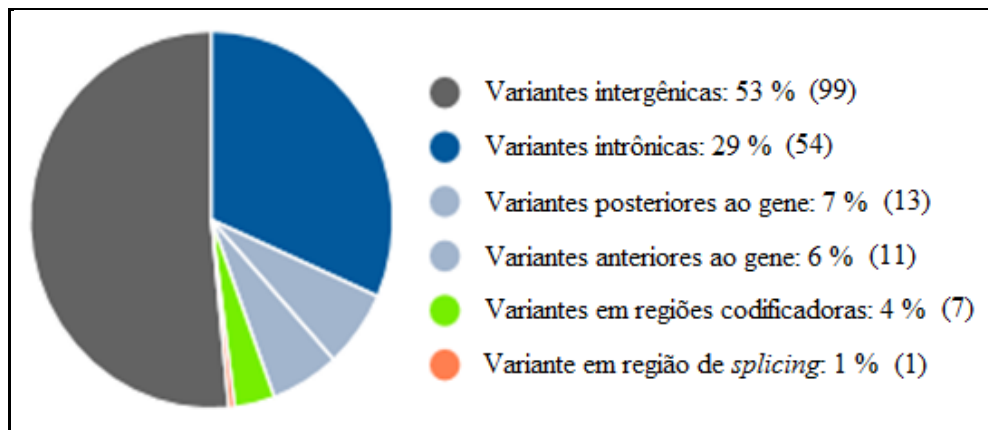
Crom*	Substituição (Referência/ Alternativo)	SNP	Localização do polimorfismo em relação ao gene mais próximo	Distância do gene (em pb)	Gene
26	A/G	ARS-BFGL-NGS-4670	Intrônica	-	<i>PTEN</i>
26	C/T	BTB-00923512	Intergênica	-	NA

Crom*: Cromossomo; NA: região não anotada

Dentre os polimorfismos analisados no presente estudo, a maioria está em regiões intergênicas (99) e intrônicas (54), poucos se localizam anteriormente (11) ou posteriormente (13) a um gene ou em regiões codificadoras (4), e um marcador se localiza em sítio de *splicing*. A distribuição dos SNPs conforme a localização pode ser visualizada na Figura 12.

Figura 12 - Localização dos polimorfismos analisados com a ferramenta *Variant Effect Predictor* (VEP).

A figura apresenta a porcentagem de marcadores distribuídos nas diferentes regiões do genoma.



Fonte: modificado de *Variant Effect Predictor*.

De acordo com a anotação mais recente do *Ensembl*, os marcadores intergênicos não apresentam função definida, por se localizarem em uma região não anotada. Entretanto, segundo Tabor et al (2002), essas variantes podem apresentar função importante quando afetam a expressão de um gene por meio de um potencializador (*enhancer*), que tem a capacidade de aumentar a taxa de transcrição de um gene alvo.

Outra grande parcela dos SNPs está localizada em íntrons. Sabe-se que a transcrição de um gene é um processo complexo e regulado pelos fatores de transcrição (ALBERTS et al., 1994). Polimorfismos em região intrônica podem exercer importante função reguladora por alterarem o sítio de ligação do fator de transcrição de um gene (YUAN et al., 2006). Para um SNP localizado em região não codificante, se ele está posicionado posteriormente a um gene, provavelmente não apresentará efeito funcional, mas pode estar relacionado com micro

RNAs e interferir em modificações pós traducionais. Já os polimorfismos localizados anteriormente a um gene podem alterar o sítio de ligação do fator de transcrição na região do promotor e, dessa maneira, regular os níveis de expressão desse gene (YUAN et al., 2006).

Sete marcadores estão em regiões codificadoras e todos são sinônimos, ou seja, não alteram a composição de aminoácido na proteína. Entretanto, esses polimorfismos podem alterar a estrutura e estabilidade do RNA mensageiro e, desta forma, influenciar na quantidade de proteína produzida por determinado gene (GUIMARÃES; COSTA, 2002).

Um *SNP* está localizado em uma região de *splicing* no gene *RAD23A* (envolvido na resposta celular ao estresse e ao dano no DNA (MASUTANI et al., 1994) e pode levar ao *splicing* alternativo, ou seja, alterações na escolha do sítio de *splicing*. Este processo determina a formação de isoformas proteicas que diferem nas sequências peptídicas e nas atividades biológicas (GRABOWSKI; BLACK, 2001). Além disso, este polimorfismo pode romper a sequência nesse sítio e causar a perda de função deste gene (KURMANGALIYEV et al., 2013). O processo de *splicing* alternativo é um importante mecanismo responsável pelo aumento da diversidade apresentada pelos animais eucarióticos (NILSEN; GRAVELEY, 2010).

5.2.4 Classificação funcional dos genes prospectados

A classificação funcional dos genes prospectados, realizada no KEGG, mostrou que eles se distribuíram em 86 vias metabólicas diferentes e, portanto, observa-se que existem poucos genes em cada via. Esta análise não considerou a posição dos genes, mas sim as funções apresentadas pelos mesmos, e alguns deles, que não estão localizados nas regiões mais significativas no *GWAS* (cromossomos 7, 21 e 23), também estão inseridos em vias que podem influenciar na resistência a carrapatos. Além disso, observou-se que alguns genes, como o *PTPRC* (*Receptor-Type Tyrosine-protein Phosphatase C*), *CSF1* (*Macrophage Colony-Stimulating Factor 1*) e *TNFRSF13B* (*Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 13B*) foram classificados em mais de uma via metabólica, mostrando que as proteínas codificadas por eles estão envolvidas em vários processos biológicos diferentes.

Os genes *ALCAM* (*Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule*) e *PTPRC*, este último também conhecido como antígeno CD45, codificam diferentes moléculas de adesão. Moléculas de adesão são glicoproteínas presentes na superfície celular que participam da

resposta imunológica e inflamatória. Essas proteínas permitem que haja uma comunicação eficiente entre as células, por exemplo, essencial durante o processo de reconhecimento de antígenos na resposta imunológica (SALMON et al., 1994). O gene *ALCAM* é expresso em diversos tecidos e células (epitélio, fibroblasto, hepatócitos e células apresentadoras de antígenos) e medeia interações heterofílicas célula-célula com o ligante CD6 presente na membrana das células T, durante processo de apresentação de antígenos (SWART, 2002), que levará a ativação dos linfócitos T (MONTROYA et al., 2002). O *PTPRC* é uma tirosina fosfatase expressa em células T, que desfosforila o resíduo de tirosina presente na proteína quinase Lck, potencializando a sinalização do receptor de antígenos das células T (TCR) (van VLIET et al., 2006). Além disso, devido processo ao de *splicing* alternativo, a CD45 pode apresentar cinco diferentes isoformas com variados graus de glicosilação (FURUKAWA et al., 1998) durante a ativação e diferenciação de células T (GARCIA et al., 2005), e pode influenciar em várias cascatas de repostas imunes, dentre elas a sinalização de citocinas (van VLIET et al., 2006).

Os genes *CSF1*, *LEP* (*Leptin*), *TNFRSF13B*, *TNFSF15* (*Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily Member 15*) e *TNFSF8* (*Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily Member 8*) codificam receptores e ligantes que estão presentes na via metabólica de interação entre receptores e citocinas. As citocinas são proteínas solúveis que regulam a resposta imune do hospedeiro, seja ela inata ou adquirida. São liberadas por vários tipos celulares, em resposta a algum estímulo, e induzem respostas através da sua ligação aos receptores específicos presentes na superfície da célula alvo (THOMSON; LOTZE, 2003). O gene *CSF1* codifica uma citocina polipeptídica pertencente à família PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*), a qual controla diversos processos, tais como crescimento, diferenciação e ativação de vários tipos celulares (DEUEL, 1987), e participa da reparação dos tecidos moles, ósseo e epitelial (PIERCE et al., 1991). A leptina é uma hematopoiética que está associada à família JAK de tirosinas quinases e ativa fatores de transcrição STAT (ABBAS; LICHTMAN, 2003), imprescindíveis para a ativação de genes presentes na via de sinalização JAK STAT, responsável pelo desenvolvimento do sistema imune e sinalização de diversas citocinas envolvidas nos processos inflamatórios (RAWLINGS et al., 2004). O gene *TNFRSF13B* codifica um receptor e os *TNFSF15* e *TNFSF8* codificam ligantes pertencentes à família da citocina *TNF*. Esta é uma das citocinas liberadas na epiderme após a lesão causada pela fixação do carrapato, que induz à resposta imunológica do hospedeiro (BAUD; KARIN, 2001), direcionando células e proteínas inflamatórias para o local da lesão, com o objetivo de recuperar o tecido lesionado (SALMON et al., 1994). De acordo com Wikel (1999), a

resistência ou suscetibilidade do hospedeiro às infestações podem ser parcialmente explicadas pela modulação da rede de interação entre as citocinas induzidas e liberadas durante a infestação por carrapatos. Além das funções descritas anteriormente, os receptores PTPRC e TNFRSF13B também estão envolvidos na via metabólica da imunodeficiência primária ou congênita. Esta deficiência influencia nas imunidades celular e humoral, provocando um aumento da susceptibilidade às doenças e infecções. Na maioria dos casos, está relacionada com defeitos genéticos que afetam o processo de maturação ou as funções celulares (ABBAS; LICHTMAN, 2003). Isso foi verificado a partir de alguns estudos em que humanos e camundongos deficientes em CD45 desenvolveram imunodeficiência severa combinada e apresentaram disfunção na sinalização dos receptores das células T (TCR), já que essas células não responderam ao estímulo antigênico (KISHIHARA et al., 1993; KUNG et al., 2000).

A Imunodeficiência Comum Variável (do inglês, *Common Variable Immune Deficiency-CVID*) é um grupo de doenças que provoca deficiência de anticorpos, susceptibilidade à infecções e autoimunidade (AL-HERZ et al., 2011), e está relacionada com desordens nas células B (SANFORD et al., 1954). A proteína TACI (*Transmembrane Activator and CAML Interactor*), codificada pelo *TNFRSF13B*, está expressa em células B e se liga ao receptor dessas células (KNIGHT et al., 2007). Estudos mostraram que uma mutação nesta proteína foi encontrada em vários pacientes com *CVID* (SALZER et al., 2005). A maioria desses pacientes apresentaram baixos níveis de imunoglobulinas IgA e IgG, provavelmente devido à desordens ocorridas nas células B (SALZER et al., 2009). Portanto, mutações nos genes *PTPRC* e *TNFRSF13B* dos hospedeiros poderiam interferir na expressão das proteínas codificadas por eles e, conseqüentemente, supõe-se que poderia haver uma resposta imunológica ineficiente.

Os genes *MAP2K3* (*Mitogen Activated Protein Kinase 3*) e *MAP2K6* (*Mitogen Activated Protein Kinase 6*) pertencem às famílias das MAP quinases, proteínas que convertem estímulos extracelulares em várias respostas celulares, tais como regulação da expressão gênica, mitose, mobilidade, sobrevivência, diferenciação e apoptose (morte celular programada) (CARGNELLO; ROUX, 2011). Estas proteínas participam da via de sinalização do complexo FcεRI, o qual é um receptor de superfície celular expresso em mastócitos e basófilos, que apresenta alta afinidade para a imunoglobulina E (IgE). A imunoglobulina E regula positivamente a expressão do complexo FcεRI na superfície celular dos mastócitos e basófilos, fornecendo um mecanismo para ampliação das funções efetoras das respostas imunes e da hipersensibilidade imediata mediadas pela IgE nas infecções parasitárias e

doenças alérgicas (ABBAS; LICHTMAN, 2003). A ativação desses tipos celulares se dá pela ligação de moléculas de IgE associadas a antígenos aos receptores FcεRI (ABBAS; LICHTMAN, 2003). Esta ativação induz múltiplas vias de sinalização, tais como a secreção de mediadores alérgicos (heparina e a histamina) e a transcrição de genes de citocinas (como o *TNF-α* e algumas interleucinas)(ABBAS; LICHTMAN, 2003). A concentração de histamina aumenta no local da fixação do carrapato e provoca prurido, o que induz a ativação de mecanismos de autolimpeza (*grooming*) no hospedeiro, provocando o desprendimento das larvas (MORAES, 1992). Além disso, essa substância estimula as células endoteliais a sintetizarem relaxantes das células dos músculos lisos vasculares, tais como a prostaciclina e o óxido nítrico, que promovem vasodilatação e, conseqüentemente, aumento do fluxo sanguíneo cutâneo (ABBAS; LICHTMAN, 2003).

Interessantemente, infecções parasitárias estão associadas com aumento dos níveis séricos de IgE e, portanto, com maior expressão do complexo FcεRI em basófilos e mastócitos (GALLI, 2000). O FcεRI é, por conseguinte, essencial para a indução e manutenção de uma resposta alérgica eficiente (WILLIAMS; GALLI, 2000), fornecendo proteção fisiológica contra infecções parasitárias. Desta maneira, supõe-se que a expressão desse receptor possa influenciar nas respostas dos bovinos às infestações causadas pelo carrapato *Rhipicephalus microplus*.

O gene *CSFI* também está envolvido na via metabólica do fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) (presente na membrana de muitos tipos celulares), assim como o *PTEN* (*Phosphatase and Tensin Homolog*). Em resposta a estímulos extracelulares, o PI3K é fosforilado e os produtos dessa fosforilação, designados fosfatidilinositol monofosfato, bifosfato e trifosfato, funcionam como mensageiros secundários que regulam muitos eventos celulares fundamentais, como a transcrição, tradução, proliferação, crescimento, sobrevivência, remodelação do citoesqueleto e tráfico de organelas intracelulares (KATSO et al., 2001; WYMANN; PIROLA, 1998). O *CSFI* codifica um fator de crescimento que se liga ao receptor tirosina quinase presente na membrana celular desencadeando um processo de dimerização, que resulta na fosforilação do domínio intracelular. Essa fosforilação inicia uma cascata de reações citoplasmáticas que ocorrem através de reações enzimáticas sequenciais, constituindo a via de sinalização dos fatores de crescimento, que envolvem o PI3K, levando ao processo de proliferação celular, crescimento e reparo do tecido epitelial (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010). No sistema imunológico, membros distintos da família de PI3K são ativados dependendo do tipo celular ou do receptor (WYMANN; PIROLA, 1998). A classe I_A de PI3K é ativada, por exemplo, por interferons, moléculas de adesão e por citocinas, em

células do sistema imunológico (como as dendríticas e células T). Já a classe I_B de PI3K atua na migração de neutrófilos para locais infeccionados (SASAKI et al., 2000). Além disso, o PI3K também está envolvido na formação do fagossomo, muito importante na resposta imune inata (VIEIRA et al., 2001). Por participar de importantes processos celulares, principalmente de vários tipos respostas imunes, o PI3K pode estar relacionado com a resistência dos bovinos às infestações dos carrapatos. A proteína codificada pelo *PTEN* é importante reguladora dos níveis de fosfatidilinositol (3,4,5) trifosfato (PI(3,4,5)P₃) nas células imunes (WYMAN; PIROLA, 1998). A partir da remoção do grupo 3-fosfato do PI(3,4,5)P₃, a atividade deste gene contraria a função realizada pelo PI3K. Por isso, a deficiência na expressão do PTEN provoca uma hiperativação do PI3K, que resulta em diversas transformações celulares (CANTLEY; NEEL, 1999). Em células B e T, essa deficiência leva a hiperproliferação e hiperativação dessas células em resposta a alguns estímulos, levando à autoimunidade, indicando que um equilíbrio entre os níveis de PI3K e PTEN é essencial para a manutenção da resposta imune nas células (ANZELON et al., 2003; SUZUKI et al., 2001).

O gene *ARHGEF12* (*Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor 12*) codifica a proteína RhoGEF, que está presente nas células da musculatura lisa vascular e participa do processo de vasoconstrição, regulando o fluxo sanguíneo e a pressão arterial (OWENS et al., 2004). A vasoconstrição que ocorre onde houve lesão de vaso sanguíneo é muito importante para que haja uma eficiente hemostase (mecanismos utilizados para cessar uma hemorragia) (MACFARLANE, 1976). Além disso, a RhoGEF também participa da via metabólica responsável pela ativação plaquetária, constituída por uma sequência de alterações morfológicas e funcionais nas plaquetas, tais como a formação de pseudopode e centralização dos grânulos, que é acompanhada pela secreção de várias substâncias (MASON; SABA, 1978). Quando os vasos sanguíneos são lesionados, o sangue entra em contato com o colágeno presente na estrutura subendotelial, e as plaquetas se deslocam para formação do tampão plaquetário, com conseqüente obstrução do vaso lesionado. Além disso, o ADP induz a agregação das plaquetas, e a serotonina desencadeia a constrição do vaso sanguíneo lesionado, facilitando o processo de coagulação e, conseqüentemente, de reparação da lesão (RIBEIRO, 1987). Em contrapartida, a saliva dos carrapatos contém algumas substâncias anticoagulantes e antihemostáticas, tais como a prostaglandina, que é vasodilatadora e promove o aumento do fluxo sanguíneo no local da fixação da fixação, para que os ectoparasitas possam se alimentar continuamente durante a fase parasitária (BINNINGTON; KEMP, 1980); e a apirase, enzima que hidrolisa ATP e ADP e impede a função do ADP como mediador da agregação plaquetária (RIBEIRO, 1987). Dessa forma, existe um balanço

entre as respostas imunes impostas pelos hospedeiros e a maneira como o carrapato neutraliza os mecanismos de hemostase e inflamação.

6. CONCLUSÕES

Do presente trabalho, conclui-se que:

- As regiões do genoma mais significativas para a resistência ao carrapato *Rhipicephalus microplus* estão nos cromossomos 7, 21 e 23. Entretanto, genes localizados nos demais cromossomos também estão envolvidos em processos biológicos importantes para a resistência (trata-se de uma característica complexa);
- A anotação funcional permitiu verificar que os 11 genes candidatos participam de processos importantes em vias metabólicas já relacionadas com a resistência a carrapatos (apresentação de antígenos, transporte e secreção intracelular e diferenciação da epiderme);
- A maioria dos polimorfismos relacionados com a característica está localizada em regiões sem funções determinadas. Sendo assim, estes marcadores podem constituir mutações não causais que se encontram em DL com mutações funcionais. Portanto, os efeitos destes SNPs devem variar conforme a raça e a população, uma vez que serão dependentes da extensão do DL em cada caso (para cada população estudada);
- Devido à ineficácia dos outros métodos de controle do ectoparasito, o melhoramento genético apresenta-se como o mais promissor para aumentar a resistência dos animais e, conseqüentemente, diminuir as perdas produtivas causadas pelas infestações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Cellular and molecular immunology**. Philadelphia: W.B.Saunders, 2003, 553 p.

ABIEC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Rebanho Bovino Brasileiro**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/3_rebanho.asp>. Acesso em: 21 de janeiro de 2014a.

ABIEC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Exportações Brasileiras de Carne Bovina**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/Relatorio%20exportacao%202013_jan_dez.pdf>. Acesso em: 21 de janeiro de 2014b.

ADAMS, S. et al. RIP2: a novel player in the regulation of keratinocyte proliferation and cutaneous wound repair? **Experimental Cell Research** 316 (5), 728–736, 2010.

ACOSTA-RODRIGUEZ, R. et al. Analysis of BoLA class II microsatellites in cattle infested with *Boophilus microplus* ticks: class II is probably associated with susceptibility. **Veterinary Parasitology** 127 (3-4), 313-321, 2005.

AGUILAR, I. et al. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science** 93 (2), 743–752, 2010.

ALBERTS, B. et al. **Molecular Biology of The Cell** (3rd ed.). Garland Pub. Inc., New York, 1994, 1408p.

AL-HERZ, W. et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. **Frontiers in Immunology** 5 (162), 1-33, 2014.

ALVARADO, R.U.; GONZALES, J.C. A postura e a viabilidade do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina, Ixodidae) em condições de laboratório. **Revista Latino Americana de Microbiologia**, 21, 31-36, 1979.

ANDERSSON, L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. **Natural Review Genetics** 2 (2), 130-138, 2001.

ANDRADE, A.B.F. **Aspectos genéticos e ambientais da resistência a *Boophilus microplus* de bovinos da raça Gir, da Estação Experimental da EPAMIG, Uberaba, MG, Brasil**. 79 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 1996.

ANDREOTTI, R. et al. Serine proteinase inhibitors from eggs and larvae of tick *Boophilus microplus*: purification and biochemical characterization. **Journal of Protein Chemistry**, New York 20 (5), 337-343, 2001.

ANZELON, A.N. et al. PTEN inactivation alters peripheral B lymphocyte fate and reconstitutes CD19 function. **Nature Immunology** 4 (3), 287-294, 2003.

ARBOITTE, M.Z. et al. Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e Conteúdo de Colesterol no Músculo *Longissimus dorsi* de Novilhos 5/8 Nelore - 3/8 Charolês, Terminados em Confinamento e Abatidos em Diferentes Estádios de Maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia** 33(4), 959-968, 2004.

ARTHUR, D. R. **Ticks: A monograph of the Ixodoidea**. On the genera Dermacentor, Anocentor, Cosmiomma, Boophilus and Margaropus. London: Cambridge University Press, 1960, 374 p.

ARTHUR, D. R. Host and tick relationships: a review. **Journal of Wildlife Disease** 9 (1), 74-84, 1973.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEREFORD E BRAFORD (ABHB). **Hereford - Carne de qualidade tipo exportação**. Disponível em: <<http://www.hereford.com.br/?bW9kdWxvPTEmbWVudT01NiZhc nF1aXZvPWNvbnRldRvLnBocA==>>. Acesso em: 21/01/2014a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEREFORD E BRAFORD (ABHB). **Braford - A história da raça**. Disponível em: <<http://www.hereford.com.br/?bW9kdWxvPTImbWVudT04JmFycXVpd m89Y29udGVlZG8ucGhwICAgICAgICAgICAgICAg>>. Acesso em: 21/01/2014b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEREFORD E BRAFORD. **Braford - Carne de qualidade tipo exportação**. Disponível em: <<http://www.hereford.com.br/?bW9kdWxvPTImbWVudT01OCZhc nF1aXZvPWNvbnRldRvLnBocA==>> . Acesso em: 22/01/2014c.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEREFORD E BRAFORD. **Regulamento do registro genealógico da Raça Braford**. Disponível em: <http://www.abhb.com.br/downloads/REG_01_ANX_A_Rev_01_Reg_%20Registro_Ge neal ogico_Braford.pdf> . Acesso em: 22/01/2014d.

BACHMANN, M.; MOROY, T. The serine/threonine kinase Pim-1. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** 37 (4), 726-730, 2005.

BAGNALL, N. et al. Expression of intracellular calcium signalling genes in cattle skin during tick infestation. **Parasite Immunology** 31 (4), 177-187, 2009.

BALLARD, D.H. et al. A pathway analysis applied to Genetic Analysis Workshop 16 genome-wide rheumatoid arthritis data. **BMC Proceedings** 3 (Suppl. 7), S91, 2009.

BARENDSE, W. Assessing tick resistance in a bovine animal for selecting cattle for tick resistance by providing a nucleic acid from the bovine animal and assaying for the occurrence of a single nucleotide polymorphism (SNP), 1-146. **Patent application WO2007051248-A1**, 2007.

BAUD, V.; KARIN, M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. **Trends in Cell Biology** 11 (9), 372-377, 2001.

BENNETT, G.F. *Boophilus microplus* (acarina: ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. **Experimental Parasitology** 26 (3), 323–328, 1969.

BERRIZ, G.F. et al., 2003. Characterizing gene sets with FuncAssociate. **Bioinformatics** 19 (18), 2502-2504, 2003.

BINNINGTON, K. C.; KEMP, D. H. Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. **Advances in Parasitology**, London 18, 315-339, 1980.

BOLORMAA, S. et al. Genome wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. **Journal of Animal Science** 89 (6), 1684-1697, 2011.

BOLORMAA, S. et al. Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. **Genetics Selection Evolution**, 45 (1), 1-12, 2013.

BOVINE HAPMAP CONSORTIUM. A Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. **Science** 324 (5926), 528-532, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Bovinos e Bubalinos**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos_e_bubalinos>. Acesso em: 13/01/2014a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano mais pecuária**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf>. Acesso em: 18/01/2014b.

BRAZILIAN HEREFORD & BRAFORD - BHB. Disponível em <<http://www.bhb.org.br/herford-brasileiro/herford-brasil/>> . Acesso em: 18/01/2014a.

BRAZILIAN HEREFORD & BRAFORD - BHB. Disponível em <<http://www.bhb.org.br/herford-brasileiro/historia-raca/>> . Acesso em: 18/01/2014b.

BRAZILIAN HEREFORD & BRAFORD - BHB. Disponível em: <<http://www.bhb.org.br/herford-brasileiro/>> . Acesso em: 18/01/2014c.

BRAZILIAN HEREFORD & BRAFORD - BHB. Disponível em: <<http://www.bhb.org.br/braford-brasileiro/>>. Acesso em: 18/01/2014d.

BROSSARD, M. et al. Immunological relationship between hosts and ixodid ticks. *Parasite-Host Associations: Coexistence or Conflict?* **Oxford University Press**, New York, 177-200, 1991.

BROSSARD, M.; WIKEL, S.K. Immunology of interactions between ticks and hosts. **Medical and Veterinary Entomology** 11 (3), 270-276, 1997.

BROSSARD, M.; FIVAZ, V. *Ixodes ricinus* L.: mast cells, basophils and eosinophils in the sequence of cellular events in the skin of infested ou reinfested rabbits. **Parasitology**, London 85, 583-592, 1982.

BURROW, H. M. Variances and covariances between productive and adaptive traits and temperament in a composite breed of tropical beef cattle. **Livestock Production Science** 70 (3), 213-233, 2001.

CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38: 64-71, 2009.

CANTOR, R.M. et al. Prioritizing GWAS results: a review of statistical methods and recommendations for their application. **American Journal of Human Genetics** 86 (1), 6-22, 2010.

CANTLEY, L.C.; NEEL, B.G. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 96 (8), 4240-4245, 1999.

CARDOSO, F.F. et al. Predição da resistência genética ao carrapato de bovinos Braford e Hereford a partir de um painel denso de marcadores moleculares. Bage-RS: Embrapa Pecuária Sul. **Circular Técnica**, 41, 6 p. Dezembro, 2011.

CARDOSO, F.F. et al. Estimates of heritability for resistance to *Boophilus microplus* tick evaluated by na alternative method in a commercial Polled Hereford x Nelore population in Brazil. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 8. **Proceedings**, Belo Horizonte, MG. 2006.

CARDOSO, V. **Avaliação de diferentes métodos de determinação da resistência genética ao carrapato *Boophilus microplus*, em bovinos de corte**, 2000. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Jaboticabal, Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

CARGNELLO, M.; ROUX P.P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 75 (1), 50-83, 2011.

CARTEGNI, L.; KRAINER, A.R. Disruption of a SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN1. **Nature Genetics** 30 (4), 377-384, 2002.

CASTILLO-DAVIS, C.I.; HARTL, D.L. GeneMerge - post genomic analysis, data mining, and hypothesis testing. **Bioinformatics** 19 (7), 891-892, 2003.

CIPRANDI, A. et al. *Boophilus microplus*: Its saliva contains microphilin, a small thrombin inhibitor. **Experimental Parasitology** 114 (1), 40-46, 2006.

CHU, W.M. Tumor necrosis factor. **Cancer Letters** 328 (2), 222-225, 2013.

CONESA, A. et al. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. **Bioinformatics** 21(18), 3674-3676, 2005.

COUTINHO, L.L.; ROSÁRIO, M.F. Biotecnologia Animal. **Estudos Avançados**, 24 (70), 123-147, 2010.

DAVIS, G.P. Genetic parameters for tropical beef cattle in Northern Australia: A review. **Australian Journal of Agricultural Research**, 44 (2), 179-198, 1993.

DAVIS, G.P.; DeNISE, S.K. The impact of molecular markers on selection. **Journal of Animal Science**, 76 (9), 2331-2339, 1998.

De CASTRO, J.J.; Newson, R.M. Host-resistance in cattle tick control. **Parasitology Today**, 9 (1), 13-17, 1993.

De CASTRO, J.J. Sustainable tick and tick-borne disease control in livestock improvement in developing countries. **Veterinary Parasitology** 71 (2-3), 77-97, 1997.

DEKKERS, J. C. M. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. **Journal of Animal Science** 82 (E supp.), 313-328, 2004.

DENNIS, G. et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. **Genome Biology**, 4 (5), P3, 2003.

DEMERJIAN, M. et al. Acute modulations in permeability barrier function regulate epidermal cornification: role of caspase-14 and the protease-activated receptor type 2. **American Journal of Pathology**, 172 (1), 86-97, 2008.

DEUEL, T. F. Polypeptide growth factors: roles in normal and abnormal cell growth. **Annual Review of Cell Biology**, 3, 443-492, 1987.

ELEFTHEROHORINOU, H. et al. Pathway analysis of GWAS provides new insights into genetic susceptibility to 3 inflammatory diseases. **PLoS One**, 4 (11): e8068, 1-11, 2009.

FARNIR, F. et al. Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. **Genome Research** 10 (2), 220-227, 2000.

FLECHTMANN, C.A.W. **Ácaros de importância médico-veterinária**. 3.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 192p.

FONTAINE, A. et al. Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. **Parasites & Vectors**, 4 (187), 1-17, 2011.

FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for Parasitology**, 29 (1), 57-71, 1999.

FRISCH, J.E.; O'NEILL, C.J. Comparative evaluation of beef cattle breeds of African, European and Indian origins (ii) Resistance to cattle ticks and gastrointestinal nematodes. **Animal Science**, 67 (1), 39-48, 1989.

FRISCH, J.E. et al. Using genetics to control cattle parasites-the Rockhampton experience. **International Journal for Parasitology**, 30 (3), 253-264, 2000.

FURUKAWA, K. et al. Structural study of the O-linked sugar chains of human leukocyte tyrosine phosphatase CD45. **European Journal of Biochemistry** 251 (1-2), 288-294, 1998.

GALLI, S.J. Mast cells and basophils. **Current Opinion in Hematology**, 7 (1), 32-39, 2000.

GARCIA, G.G. et al. Age-associated changes in glycosylation of CD43 and CD45 on mouse CD4 T cells. **European Journal of Immunology**, 35 (2), 622-631, 2005.

GASPARIN, G. et al. Mapping of quantitative trait loci controlling tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistance on bovine chromosomes 5, 7 and 14. **Animal Genetics**, 38 (5), 453-459, 2007.

GAVORA, J.S.; SPENCER, J.L. Breeding for immune responsiveness and disease resistance. **Animal Blood Groups Biochemical Genetics**, 14 (3), 159-180, 1983.

GODDARD, M. E.; HAYES, B. J. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Nature Reviews Genetics**, 10 (6), 381-391, 2009.

GONZALES, J.C. **O controle do carrapato dos bovinos**. Porto Alegre-RS: Sulina, 1975, 104p.

GONZALES, J.C. et al. A vida livre do *Boophilus microplus*. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**. UFRGS, 3 (1), 21-28, 1974.

GRABOWSKI, P.L.; BLACK, D.L. Alternative RNA splicing in the nervous system. **Progress in Neurobiology**, 65 (3), 289-308, 2001.

GRISI, L. et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, 21: 8-10, 2002.

GUIMARÃES, P.E.M.; COSTA, M.C.R. SNPs: Sutis diferenças de um código. **Biotecnologia, Ciência e desenvolvimento**, 26: 24-27, 2002.

HALES, J.R. et al. Cutaneous hyperaemia elicited by larvae of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Biological Sciences** 34 (1), 37-46, 1981.

HARTZELL, H.C. et al. Calcium-activated chloride channels. **Annual Review Physiology** 67:719-758, 2005.

HARTZELL, H.C. et al. Molecular physiology of bestrophins: multifunctional membrane proteins linked to best disease and other retinopathies. **Physiology Review** 88 (2), 639-672, 2008.

HAYES, B. J. et al. Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. **Journal of Dairy Science** 92 (2) 433-443, 2009.

HINDORFF, L.A. et al. **A Catalog of Published Genome-wide Association Studies**. National Human Genome Research Institute, 2011.

HORN, F. et al. *Boophilus microplus* anticoagulant protein: an antithrombin inhibitor isolated from the cattle tick saliva. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 384 (1), 68-73, 2000.

HORN, S.C. **Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos no Brasil**. 2. ed. Brasília: Ministério da Agricultura, 1983, 79p.

HOSACK, D.A. et al. Identifying biological themes within lists of genes with EASE, **Genome Biology**, 4 (10) R70, 2003.

HUBBARD, T. et al. The Ensembl genome database project. **Nucleic Acids Research** 30 (1), 38-41, 2002

HU, Z.L. et al. **QTLdb: a comprehensive database tool building bridges between genotypes and phenotypes**. Invited Lecture with full paper published electronically on The 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. August 1-6, Leipzig, Germany, 2010.

HU, Z.L. et al. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. **Nucleic Acids Research**, 41: 871-879, 2013.

HUANG, J. et al. Agricultural trade liberalization and poverty in China. **China Economic Review**, 18 (3), 244-265, 2007.

HVID, M. et al. Regulation of caspase 14 expression in keratinocytes by inflammatory cytokines-a possible link between reduced skin barrier function and inflammation? **Experimental Dermatology** 20 (8), 633-636, 2011.

IBELLI, A.M.G. **Avaliação da resposta de bovinos nelore e cruzados, senepol x nelore e angus x nelore, infestados com carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. 2012. 126p. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) - Universidade Federal de São Carlos - Ufscar.

JONSSON, N.N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology**, 137 (1-2), 1-10, 2006.

JONSSON, N.N. et al. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. **Veterinary Parasitology**, 78 (1), 65-77, 1998.

KANEHISA, M. et al. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. **Nucleic Acids Research** 40, 109-14, 2011.

KASHINO, S.S. et al. *Boophilus microplus*: the pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. **Experimental Parasitology**, 110 (1), 12-21, 2005.

- KATSO, R. et al. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis and cancer. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 17, 615-675, 2001.
- KEMP, D.H. et al. Vaccination against *Boophilus microplus*: localization of antigens on tick gut cells and their interaction with the host immune system. **Experimental Applied Acarology**, 7 (1), 43-58, 1989.
- KEMP, D.H.; BOURNE, A. *Boophilus microplus* - the effect of histamine on the attachment of cattle-tick larvae - studies in vivo and in vitro. **Parasitology**, 80 (3), 487-496, 1980.
- KISHIHARA, K. et al. Normal B lymphocyte development but impaired T cell maturation in CD45-exon6 protein tyrosine phosphatase-deficient mice. **Cell**, 74 (1), 143-156, 1993.
- KISS-LASZLO, Z. et al. Site-specific ribose methylation of preribosomal RNA: a novel function for small nucleolar RNAs. **Cell**, 85 (7), 1077-1088, 1996.
- KNIGHT, A.K. et al. High serum levels of BAFF, APRIL, and TACI in common variable immunodeficiency. **Clinical Immunology**, 124 (2), 182-189, 2007.
- KOBAYASHI, K.S. et al. Nod2 - dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. **Science**, 307 (5710), 731-734, 2005.
- KONGSUWAN, K. et al. Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **International Journal of Parasitology**, 40 (4), 499-507, 2010.
- KONGSUWAN, K. et al. Identification of genes involved with tick infestation in *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Developmental Biology**, 132, 77-88, 2008.
- KRUGLYAK, L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. **Nature Genetics**, 22 (2), 139-144, 1999.
- KUNG, C. et al. Mutations in the tyrosine phosphatase CD45 gene in a child with severe combined immunodeficiency disease. **Nature Medicine**, 6 (3), 343-345, 2000.
- KURMANGALIYEV, Y.Z. et al. Functional implications of splicing polymorphisms in the human genome. **Human Molecular Genetics**, 22 (17), 3449-3459, 2013.
- LABARTHE, N.V. Biological control of tick populations: review and reflections. **Cadernos de Saúde Pública**, 10 (1), 47-52, 1994.
- LEMMON, M.A.; SCHLESSINGER, J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. **Cell**, 141 (7), 1117-1134, 2010.
- LEMOS, A.A. **Principais enfermidades de bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul. Reconhecimento e diagnóstico**. Campo Grande, MS, 358-365, 1998.

- LIMO, M.K. et al. Purification and characterization of an anticoagulant from the salivary glands of the ixodid tick *Rhipicephalus appendiculatus*. **Experimental Parasitology**, New York 72 (4), 418-429, 1991.
- LOSMAN, J.A. et al. SOCS-1 is a potent inhibitor of IL-4 signal transduction. **Journal of Immunology**, 162 (7), 3770-3774, 1999.
- MACFARLANE, R.G. Haemostasis - Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis. **Oxford, Blackwell Scientific Publications Ltd.** 608-654, 1976.
- MACHADO, M.A. et al. Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (*Bos taurus* x *Bos indicus*). **BMC Genomics**, 11 (280), 1-11, 2010.
- MANOLIO, T.A. et al. A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. **Journal of Clinical Investigation**, 118 (5), 1590-1605, 2008.
- MARTIN, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. **Science**, 276 (5309), 75-81, 1997.
- MARTINEZ, M.L. et al. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. **Genetics and Molecular Research**, 5 (3), 513-524, 2006.
- MASON, R.G.; SABA, H.I. Normal and abnormal hemostasis-an integrated view - A review. **American Journal of Pathology**, 92 (3), 775-812, 1978.
- MASUTANI, C. et al. Purification and cloning of a nucleotide excision repair complex involving the xeroderma pigmentosum group C protein and a human homologue of yeast RAD23. **EMBO Journal**, 13 (8), 1831-1843, 1994.
- MATSUI, S. et al. 2008. Knockdown of Fat2 by siRNA inhibits the migration of human squamous carcinoma cells. **Journal of Dermatological Science**, 51 (3), 207-210, 2008.
- MATUKUMALLI, L.K. et al. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoSOne**, 4(4):e5350, 1-13, 2009.
- McCULLY, M.L. et al. Receptor-interacting protein-2 deficiency delays macrophage migration and increases intracellular infection during peritoneal dialysis-associated peritonitis. **American Journal of Nephrology**, 28 (6), 879-889, 2008.
- McLAREN, W. et al. Deriving the consequences of genomic variants with the Ensembl API and SNP Effect Predictor. **Bioinformatics**, 26 (16), 2069-2070, 2010.
- McILWAIN, D.R. et al. Caspase functions in cell death and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology** 5, a008656, 2013.
- MEUWISSEN, T.H.E.; GODDARD, M. E. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. **Genetics Selection Evolution**, 28 (2), 161-176, 1996.
- MEUWISSEN, T.H.E. et al. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, 157 (4), 1819-1829, 2001.

- MICHALAK, M. et al. Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. **Biochemical Journal**, 417 (3), 651-666, 2009.
- MISZTAL, I. et al. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **Journal of Dairy Science**, 92 (9), 4648-4655, 2009.
- MONTOYA, M. et al. Type I interferons produced by dendritic cells promote their phenotypic and functional activation. **Blood**, 99 (9), 3263-3327, 2002.
- MORAES, F.R. et al. A comparative study of lesions caused by different parasitic stages of *Boophilus microplus* (Canestrini) in the skins of naturally infested taurine and zebuine hosts. The correlation of tick resistance with mast cell counts in the host's skin. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 29 (suplemento), 378-383, 1992.
- NEVES, M. **Estratégias para a carne bovina no Brasil**. São Paulo: Ed. Atlas, 2012, 272p.
- NIELSEN, S. et al. Aquaporins in the Kidney: From Molecules to Medicine. **Physiological Reviews**, 82 (1), 205-244, 2002.
- NILSEN, T.W.; GRAVELEY, B.R. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing. **Nature**, 463 (7280), 457-463, 2010.
- OGATA, H. et al. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Research**, 27 (1), 29-34, 1999.
- OWENS, G.K. et al. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. **Physiological Reviews**, 84 (3), 767-801, 2004.
- PARIZI, L.F. et al. New approaches toward anti-*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick vaccine. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 18 (1), 1-7, 2009.
- PEREIRA, M. C. ***Boophilus microplus*: revisão taxonômica e morfológica**. Rio de Janeiro: Químico Divisão Veterinária, 1982, 167p.
- PIERCE, G. F. et al. Role of platelet derived growth factor in wound healing. **Journal of Cellular Biochemistry**, 45 (4), 319-326, 1991.
- PIPER, E.K. et al. Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Clinical and Vaccine Immunology**. 16 (7), 1074-1086, 2009.
- PIPER, E.K. et al. 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 (4), 431-441, 2010.
- PORTO NETO, L.R. et al. The RIPK2 gene: a positional candidate for tick burden supported by genetic associations in cattle and immunological response of knockout mouse. **Immunogenetics**, 64 (5), 379-388, 2012.

POWELL, R.T.; REID, T.J. Project tick control. **Queensland Agricultural Journal**, 108 (6), 279-300, 1982.

PRAYAGA, K.C. et al. Genetics of adaptive traits in heifers and their relationship to growth, pubertal and carcass traits in two tropical beef cattle genotypes. **Animal Production Science**, 49 (6), 413-425, 2009.

PROKUNINA, L. et al. A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. **Nature Genetics**, 32 (4), 666-669, 2002.

PRUETT, J. H. Immunological control of arthropods ectoparasites - A review. **International Journal for Parasitology**, 29 (1), 25-32, 1999.

QIAN, Y. et al. Prostaglandin E2 in the salivary glands of the female tick *Amblyomma americanum*: calcium mobilization and exocytosis. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 28 (4), 221-228, 1998.

QU, Z. et al. Two bestrophins cloned from *Xenopus laevis* oocytes express Ca-activated Cl currents. **Journal of Biological Chemistry**, 278 (49), 49563-49572, 2003.

RAADSMA, H.W. et al. Genome wide association studies in dairy cattle using high density SNP scans. **Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet**, 18, 151-154, 2009.

RAMANAN, V.K. et al. Pathway analysis of genomic data: concepts, methods, and prospects for future development. **Trends in Genetics**, 28 (7), 323-332, 2012.

RAWLINGS, J.S. et al. The JAK/STAT signaling pathway. **Journal of Cell Science**, 117, 1281-1283, 2004.

REGITANO, L.C.A. et al. On the search for markers of tick resistance in bovines. In: **Animal Genomics for Animal Health**, 132, 225-230. Karger Basel, 2008.

REGITANO, L.C.A. et al. **Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Pecuária Sudeste, n.9, 2006.

RIBEIRO, J.M.C.; WALKER, F. A. High affinity histamine-binding and anti-histaminic activity of the salivary NO-carrying heme protein (Nitrophorin) of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Experimental Medicine**, 180 (6), 2251-2257, 1994.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in blood feeding by arthropods. **Annual Review of Entomology**, 32, 463-478, 1987.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in tick/host interactions. **Experimental and Applied Acarology**, 7 (1), 15-20, 1989.

RIBEIRO, J.M.C. et al. Antihemostatic, antiinflammatory and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. **Journal of Experimental Medicine** 161 (2), 332-344, 1985.

RIBEIRO, J.M.C.; FRANCISCHETTI, I.M. Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. **Annual Review of Entomology**, 48, 73-88, 2003.

RIEK, R.F. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks - Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, 13, 532-550, 1962.

RIEK, R.F. The cattle tick and tick fever. **Australian Veterinary Journal**, 41, 211-216, 1965.

RINCON, M. et al. Reprogramming the signalling requirement for AP-1 (activator protein-1) activation during differentiation of precursor CD4⁺ T-cells into effector Th1 and Th2 cells. **Genes Functions**, 1 (1), 51-68, 1997.

RUEFLI-BRASSE, A.A. et al. RIP2 participates in BCL10 signaling and T-cell receptor-mediated NF-kappa B activation. **Journal of Biological Chemistry**, 279 (2), 1570-1574, 2004.

SALMON, J. K. et al. The skin as an immune organ. **Western Journal of Medicine** 160 (2), 146-152, 1994.

SALZER, U. et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. **Nature Genetics**, 37 (8), 820-828, 2005.

SALZER, U. et al. Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes. **Blood**, 113 (9), 1967-1976, 2009.

SANFORD, J.P. et al. Absence of serum gamma globulins in an adult. **New England Journal of Medicine**, 250 (24), 1027-1029, 1954.

SASAKI, T. et al. Function of PI3K γ in thymocyte development, T cell activation, and neutrophil migration. **Science**, 287 (5455), 1040-1046, 2000.

SCHADT, E.E. Molecular networks as sensors and drivers of common human diseases. **Nature**, 461 (7261), 218-223, 2009.

SEIFERT, G.W. Variation between and within breeds of cattle in resistance to field infestations of the cattle tick (*Boophilus microplus*). **Australian Journal of Agricultural Research**, 22 (1), 159-168, 1971.

SHAULIAN, E.; M, KARIN. AP-1 as a regulator of cell life and death. **Nature Cell Biology**, 4 (5), 131-136, 2002.

SHERRY, S.T. et al. dbSNP-Database for Single Nucleotide Polymorphisms and Other Classes of Minor Genetic. **Variation Genome Research**, 9 (8), 677-679, 1999.

SHERRY, S.T. et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. **Nucleic Acids Research**, 29 (1), 308-311, 2001.

SCHONTHALER, H.B. et al. Targeting inflammation by modulating the Jun/AP-1 pathway. **Annals of the Rheumatic Diseases** 70 (suppl.1), 109-112, 2011.

SHORTMAN, K.; LIU, Y.J. Mouse and human dendritic cell subtypes. **Nature Reviews Immunology**, 2 (3), 151-161, 2002.

SILVA, A.M. et al. Natural infestations of beef cattle females by external parasites in southern Brazil. **World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, 8. Belo Horizonte, MG, 2006.

SOLLER, M.; ANDERSSON, L. Genomic approaches to improvement of disease resistance in farm animals. **OIE Scientific and Technical Review**, 17 (1), 329-345, 1998.

STARK, K.R.; JAMES, A.A. Anticoagulants in vector arthropods. **Parasitology Today** 12 (11), 430-437, 1996.

STEAR, M.J. et al. The relationships among ecto and endoparasite levels, class I antigens of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin E levels and weight gain. **Veterinary Parasitology**, 34 (4), 303-321, 1990.

SUNYAEV, S. et al. Towards a structural basis of human non-synonymous single nucleotide polymorphisms. **Trends in Genetics**, 16 (5), 198-200, 2000.

SUTHERST, R.W.; UTECH, K.B.W. **Controlling parasites with host resistance**. CRC Handbook of Pest Management in Agriculture, Volume II, CRC Press, Florida, 385-407, 1981.

SUZUKI, A. et al. T cell-specific loss of PTEN leads to defects in central and peripheral tolerance. **Immunity**, 14 (5), 523-534, 2001.

SWART, G.W. Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166/ALCAM): developmental and mechanistic aspects of cell clustering and cell migration. **European Journal of Cell Biology**, 81 (6), 313-321, 2002.

TABOR, H.K. et al. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. **Nature Reviews Genetics**, 3 (5), 391-397, 2002.

TEODORO, R.L. et al. Resistência genética dos bovinos ao carrapato (*Boophilus microplus*). VII. Resistência de touros mestiços sob infestação artificial. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 21, **Anais**, Belo Horizonte, 1984.

THOMSON, A.W.; LOTZE, M.T. **The Cytokine Handbook**. 4th.ed., Academic Press, 2003.

TILG, H. et al. IL-6 and APPs: Anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. **Immunology Today**, 18 (9), 428-432, 1997.

TIZIOTO, P.C. et al. A genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological Genomics**, 45 (21), 1012-1020, 2013.

TSUNENARI, T. et al. Structure-function analysis of the bestrophin family of anion channels. **Journal of Biological Chemistry** 278 (42), 41114-41125, 2003.

TURNER, R.J.; SUGIYA, H. Understanding salivary fluid and protein secretion. **Oral Disease**, 8 (1), 3-11, 2002.

TURNER, L.B. et al. A genome wide association study of tick burden and milk composition in cattle. **Animal Production Science**, 50, 235-245, 2010.

USDA-United States Department of Agriculture. **USDA Foreign Agricultural Service**. Disponivel em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>> .Acesso em: 12/01/2014.

UTECH, K.B.W. et al. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, 29 (4), 885-895, 1978.

van VLIET, S.J. et al. Regulation of effector T cells by antigen-presenting cells via interaction of the C-type lectin MGL with CD45. **Nature Immunology**, 7 (11), 1200-1208, 2006.

VERÍSSIMO, C.J. **Resistência e suscetibilidade de bovinos leiteiros mestiços ao carrapato *Boophilus microplus***. 1991. 169p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

VIEIRA, O.V. et al. Distinct roles of class I and class III phosphatidylinositol 3-kinases in phagosome formation and maturation. **The Journal of Cell Biology**, 155 (1), 19-25, 2001.

VISSCHER, P.M. et al. Genome partitioning of genetic variation for height from 11,214 sibling pairs. **American Journal of Human Genetics**, 81 (5), 1104-1110, 2007.

WAGLAND, B.M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. I. Responses of previously unexposed cattle to four infestations with 20.000 larvae. **Australian Journal of Agricultural Research**, 26 (6), 1073-1080, 1975.

WAGLAND B.M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. II. The dynamic of resistance in previously unexposed and exposed cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, 29 (2), 395-400, 1978.

WANG, K. et al. Analysing biological pathways in genome-wide association studies. **Nature Reviews Genetics**, 11 (12), 843-854, 2010.

WANG, K. et al. Pathway-based approaches for analysis of genome wide association studies. **The American Journal of Human Genetics**, 81 (6), 1278-1283, 2007a.

WANG, Y.H. et al. Gene expression profiling of Hereford Shorthorn cattle following challenge with *Boophilus microplus* tick larvae. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 47 (12), 1397-1407, 2007b.

WANG, H. et al. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research**, 94 (2), 73-83, 2012.

WHARTON, R.H. et al. Resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* in a herd of Australian Illawarra Shorthorn cattle: Its assessment and heritability. **Australian Journal of Agricultural Research** 21 (1), 163-181, 1970.

WILLIAMS, C.M.; GALLI, S.J. The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** 105 (5), 847-859, 2000.

WIKEL, S.K. Host immunity to ticks. **Annual Review of Entomology**, 41, 1-22, 1996.

WIKEL, S.K. Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. **International Journal for Parasitology**, 29 (6), 851-859, 1999.

WIKEL, S.K. et al. Tick-induced modulation of the host immune response. **International Journal for Parasitology**, 24 (1), 59-66, 1994.

WILLADSEN, P. Anti-tick vaccines. **Parasitology**, 129, 367-387, 2004.

WILLADSEN, P.; JONGEJAN, F. Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. **Parasitology** 110 (suppl.) 43-50, 1995.

WILLADSEN, P.; KEMP, D.H. Challenges and opportunities in the integrated control of parasites: The example of ticks and tick-borne diseases. **Journal of Parasitology** 89 (Suppl.), 245-249, 2003.

WYMAN, M.P.; PIROLA, L. Structure and function of phosphoinositide 3-kinases. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1436 (1-2), 127-150, 1998.

YUAN, H.Y. et al. FASTSNP: An always up-to-date and extendable service for SNP function analysis and prioritization. **Nucleic Acids Research**, 34, 635-641, 2006.

ZENZ, R. et al. Activator protein 1 (Fos/Jun) functions in inflammatory bone and skin disease. **Arthritis Research & Therapy**, 10 (1), 201, 2008.

ZENZ, R.; WAGNER, E.F. Jun signalling in the epidermis: From developmental defects to psoriasis and skin tumors. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 38 (7), 1043-1049, 2006.

ZHANG, H. et al. Progress of genome wide association study in domestic animals. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 3 (26), 1-10, 2012.

ZHONG, H. et al. Integrating pathway analysis and genetics of gene expression for genome-wide association studies. **American Journal of Human Genetics**, 86 (4), 581-591, 2010.

ANEXO 1

Anexo 1 - Posição, nome e efeito dos SNPs considerados significativos. Foram considerados significativos todos os polimorfismos que apresentaram efeitos iguais ou maiores do que 6 desvios padrões em relação à variância apresentada pela característica.

Continua

Cromossomo	Posição	SNP	Efeito estimado
1	22662759	BTB-01437861	7,7735
1	22823600	BTB-01438016	7,3152
1	22863734	ARS-BFGL-NGS-46591	6,9259
1	22630942	BTB-02025707	6,8972
1	135580651	ARS-BFGL-NGS-30809	6,8083
1	135660399	BTB-01355011	6,3027
1	50410352	BTB-00022097	6,2273
1	18437724	Hapmap32384-BTA-160993	6,0286
2	120073875	ARS-BFGL-NGS-101306	10,9842
2	120037582	BTA-20378	9,4022
2	120008794	ARS-BFGL-NGS-118696	9,0167
2	120111418	ARS-BFGL-NGS-61938	8,4837
2	120174934	ARS-BFGL-NGS-27277	8,1702
2	120148776	ARS-BFGL-NGS-66771	7,5645
3	33813669	BTA-67303	8,8271
3	33741850	ARS-BFGL-NGS-86767	8,6940
3	33691011	ARS-BFGL-NGS-119309	8,6688
3	33926048	ARS-BFGL-NGS-43118	7,7398
3	33895762	ARS-BFGL-NGS-115128	7,6990
3	33948546	Hapmap42629-BTA-67307	7,5330
3	15818013	ARS-BFGL-NGS-54121	6,6160
3	33975389	BTA-67308	6,5892
3	15904420	ARS-BFGL-NGS-18525	6,0765
4	93058106	ARS-BFGL-NGS-30397	10,9069
4	112164314	Hapmap31474-BTA-152740	10,3942
4	93164307	BTA-22421	9,6934
4	30688131	BTB-01482585	9,0629
4	73597885	BTA-71361	8,4365
4	73669041	BTB-00196827	7,9498
4	112257305	ARS-BFGL-NGS-24470	7,8447
4	112231752	BTB-01162852	7,7488
4	73635712	BTB-00196774	7,5162
4	73699663	BTB-00196932	7,4610
4	112206671	ARS-BFGL-NGS-42786	6,8275
4	93016725	Hapmap41207-BTA-22424	6,7636
4	93211337	ARS-BFGL-NGS-101028	6,4638
4	114640077	ARS-BFGL-NGS-16030	6,3507
4	31051832	ARS-BFGL-NGS-79133	6,3484
4	30890614	Hapmap25788-BTA-123085	6,3299
4	73531264	ARS-BFGL-NGS-21842	6,3080

Continuação

Cromossomo	Posição	SNP	Efeito estimado
4	73564171	BTA-71353	6,2492
4	112317788	BTB-01755781	6,1967
4	30801053	ARS-BFGL-NGS-51663	6,1459
4	114603252	Hapmap38123-BTA-72477	6,0670
4	104577143	ARS-BFGL-NGS-32907	6,0021
5	112328104	BTA-75110	10,5611
5	112374372	Hapmap23876-BTA-143610	10,0646
5	112472630	ARS-BFGL-NGS-21778	8,6206
5	112119760	ARS-BFGL-NGS-105727	8,3555
5	112521878	ARS-BFGL-NGS-45453	7,0328
6	48776662	ARS-BFGL-NGS-41037	9,0318
6	72603637	BTB-00263118	8,5077
6	48913327	ARS-BFGL-NGS-78057	7,5607
6	72678030	BTB-00263073	7,5372
6	48815917	Hapmap60756-rs29010402	6,9311
6	110080591	Hapmap60689-rs29012203	6,8731
6	48925313	BTB-01402075	6,7966
6	110037191	BTB-00286847	6,6934
6	45300844	Hapmap32217-BTC-039812	6,4215
6	45253378	Hapmap26267-BTC-039886	6,3643
6	110265558	ARS-BFGL-NGS-10777	6,2640
7	13912342	ARS-BFGL-NGS-16584	15,0569
7	13823591	ARS-BFGL-NGS-3372	14,5285
7	14039322	BTA-80703	14,3877
7	13934893	Hapmap57279-ss46526160	14,3599
7	13745889	ARS-BFGL-NGS-37497	14,2146
7	14060098	BTA-80694	12,5065
7	13686977	ARS-BFGL-NGS-110780	11,8454
7	13725243	Hapmap38043-BTA-80713	11,7187
7	14304280	UA-IFASA-8194	9,6081
7	13663743	ARS-BFGL-NGS-28374	8,8070
7	14142752	ARS-BFGL-NGS-54629	8,7424
7	11486814	BTA-28930	8,6150
7	64605680	ARS-BFGL-NGS-81508	8,5637
7	64560605	ARS-BFGL-NGS-14706	8,1890
7	12234576	ARS-BFGL-NGS-111321	8,0738
7	10835967	ARS-BFGL-NGS-20506	7,8550
7	64512119	UA-IFASA-7224	7,7872
7	8999721	ARS-BFGL-NGS-28362	7,2267
7	9170772	ARS-BFGL-NGS-19382	6,8698
7	10907840	BTB-01568825	6,8461
7	8860921	Hapmap50113-BTA-80661	6,8196
7	14372254	Hapmap55135-rs29021864	6,7926
7	64728155	Hapmap48570-BTA-104179	6,6216
7	13632174	ARS-BFGL-NGS-119066	6,5890

Continuação

Cromossomo	Posição	SNP	Efeito estimado
7	25987797	Hapmap59434-rs29012267	6,4434
7	14402009	Hapmap48895-BTA-79049	6,0174
8	114063990	Hapmap48909-BTA-82799	7,7515
8	105937356	BTB-01953376	7,2798
8	105946838	BTB-01972512	7,1721
8	73482124	BTB-00357945	7,1537
8	73435613	BTA-81848	6,4794
8	73522112	Hapmap38856-BTA-81842	6,3696
8	105846031	ARS-BFGL-NGS-2653	6,3029
8	113301368	ARS-BFGL-NGS-104059	6,0890
9	24782825	BTB-01073083	6,2943
9	24875114	BTB-01716044	6,2857
11	21581503	UA-IFASA-4213	10,6655
11	21556940	BTB-00464022	8,9881
11	21652185	ARS-BFGL-NGS-26022	8,9122
11	21622629	BTA-87499	8,5350
11	64223964	ARS-BFGL-NGS-83732	7,7916
11	23051506	BTB-01903909	7,5485
11	21681893	ARS-BFGL-BAC-11047	7,3358
11	63939950	ARS-BFGL-NGS-19268	7,0491
11	64269224	ARS-BFGL-NGS-119320	6,6464
11	64392003	Hapmap31385-BTA-126644	6,4638
11	22936341	BTB-00466422	6,3709
11	21535801	ARS-BFGL-NGS-15820	6,0083
12	29422204	ARS-BFGL-NGS-60085	6,2853
12	29372191	ARS-BFGL-NGS-42277	6,1679
13	84147825	BTB-01390173	6,3196
13	72120569	ARS-BFGL-NGS-28054	6,1589
14	54501131	BTA-90428	7,0356
14	54586619	BTB-00488528	6,5382
14	54707270	ARS-BFGL-NGS-86714	6,4850
14	54428180	Hapmap42994-BTA-60216	6,0209
15	31873933	ARS-BFGL-NGS-36604	7,1304
15	31908207	BTB-00592582	6,7635
15	31742880	ARS-BFGL-NGS-119665	6,7265
15	19117037	UA-IFASA-5855	6,1262
15	31714380	BTB-01640924	6,1151
16	79484939	ARS-BFGL-NGS-100673	6,1246
19	35886262	Hapmap42945-BTA-45128	11,3064
19	35920605	ARS-BFGL-NGS-28386	11,2819
19	35528889	ARS-BFGL-NGS-105337	11,1894
19	35755815	ARS-BFGL-NGS-42120	10,7899
19	35585081	ARS-BFGL-NGS-83644	9,7467
19	61630610	Hapmap40994-BTA-46361	9,3978
19	35685507	ARS-BFGL-NGS-86600	8,9798

Continuação

Cromossomo	Posição	SNP	Efeito estimado
19	36058250	BTA-121181	8,9722
19	61585054	BTB-00765879	8,5679
19	61503930	Hapmap43271-BTA-46356	7,6947
19	61709390	UA-IFASA-8183	7,3564
19	35735450	ARS-BFGL-NGS-25445	7,3171
19	36089458	BTB-00749083	6,9258
19	61806709	ARS-BFGL-NGS-112885	6,7607
19	36030793	Hapmap41268-BTA-45136	6,5559
19	36004097	Hapmap48343-BTA-45133	6,5009
19	35714202	UA-IFASA-8237	6,1229
20	28299434	Hapmap50008-BTA-50183	6,5384
20	18099389	BTA-49967	6,3879
21	66148635	ARS-BFGL-NGS-17977	12,0243
21	66220013	ARS-BFGL-NGS-9612	10,3269
21	66107076	Hapmap35472	9,5922
21	65970967	BTA-52957	7,6020
21	66380363	ARS-BFGL-NGS-94839	7,3214
21	66258467	ARS-BFGL-NGS-13743	7,1654
21	66287283	ARS-BFGL-NGS-24407	6,7852
21	66344554	ARS-BFGL-NGS-90719	6,6659
22	30769143	Hapmap46953-BTA-121345	8,0644
22	30894155	ARS-BFGL-NGS-108422	7,6402
22	30863595	Hapmap50289-BTA-24348	7,2864
22	30518549	Hapmap30347-BTA-54117	6,6125
23	11599932	Hapmap39546-BTA-121390	14,3326
23	11589692	ARS-BFGL-NGS-36754	12,8562
23	11543048	ARS-BFGL-NGS-116395	11,2718
23	11631005	ARS-BFGL-NGS-18676	11,0771
23	11477969	ARS-BFGL-BAC-30052	10,3630
23	14394214	ARS-BFGL-NGS-59308	9,3716
23	11438802	ARS-BFGL-NGS-35220	8,7107
23	14101481	ARS-BFGL-NGS-61941	7,8084
23	14123921	ARS-BFGL-NGS-105087	7,7991
23	14170863	ARS-BFGL-NGS-118763	7,5704
23	11692615	ARS-BFGL-NGS-68466	7,0160
23	11818761	Hapmap26666-BTA-137044	6,8615
23	11251946	ARS-BFGL-NGS-118921	6,3480
23	11067172	Hapmap58169-rs29027007	6,0348
24	32593321	BTA-17380	8,8298
24	32778094	BTB-01635208	6,6961
25	15423763	ARS-BFGL-NGS-42918	9,1481
25	15365566	ARS-BFGL-NGS-84660	7,6371
25	15098389	ARS-BFGL-NGS-89168	6,9222
25	15006757	ARS-BFGL-NGS-26313	6,7911
25	15035075	ARS-BFGL-NGS-41995	6,2188

			Conclusão
Cromossomo	Posição	SNP	Efeito estimado
25	15151658	Hapmap39682-BTA-74189	6,0549
26	9550462	ARS-BFGL-NGS-4670	7,6791
26	9753195	BTB-00923512	7,0699