



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE ZOOTECNIA

Projeto de pesquisa

Integração multiômica dos mecanismos da resistência e tolerância ao carrapato
Rhipicephalus microplus em bovinos Canchim

Instituto de Zootecnia – Nova Odessa/SP

Agosto de 2026

Identificação da Proposta

Título: Integração multiômica dos mecanismos da resistência e tolerância ao carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos Canchim

Área de pesquisa: Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos.

Departamento a que Pertence a Pesquisa: Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Biotecnologia, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

Pesquisador Responsável e Principal: Dr. Rodrigo Giglioti – Doutor em Genética e Melhoramento Animal, Pesquisador Científico, Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Biotecnologia, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP. Docente do programa de pós-graduação em Ciência Animal, Unesp, Campus Jaboticabal, SP.

Pesquisadores Associados:

Dra. Adriana Mércia Guaratini Ibelli – Analista da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.
Dr. Alessandro Pelegrine Minho – Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Profa. Amanda Marchi Maiorano – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

Dra. Andressa Oliveira de Lima – Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (Unemat-NVM), Nova Mutum, MT.

Prof. Dr. Ana Gonçalves Domingos – Pesquisadora do Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

Dr. Aníbal Eugênio Vercesi Filho – Pesquisador da Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Biotecnologia, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

Dra. Bruna Maria Salatta – Pós-doutoranda em Ciência Animal, UNESP, campus Jaboticabal, SP.

Dra. Cintia Righetti Marcondes – Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Dr. Enrique Sánchez-Molano – Pesquisador do Roslin Institute, Universidade de Edimburgo, Reino Unido.

Prof. Dr. Francisco Ribeiro de Araujo Neto – Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde, GO.

Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira – Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNESP, campus Jaboticabal, SP.

Dra. Jessica Moraes Malheiros – Pós-doutoranda do Instituto de Zootecnia, Sertãozinho, SP.

Dra. Lenira El Faro Zadra – Pesquisadora da Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento de Bovinos de Corte, Instituto de Zootecnia, Sertãozinho, SP.

Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano – Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Dra. Luciana Morita Katiki – Pesquisadora da Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Biotecnologia, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

Dr. Marcos Jun Iti Yokoo – Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Profa. Dra. Vera Lucia Damasceno Tomazella – Departamento de Estatística, Universidade Federal de São Carlos, SP.

Prof. Dr. Wellison J. S. Diniz – Professor Assistente do Departamento de Ciências Animais, College of Agriculture, Auburn University, Auburn, Alabama, Estados Unidos.

Local de Execução: Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP; Fazenda Santo Antônio/Grupo ILMA, Angatuba-SP; e Instituto de Zootecnia, Nova Odessa-SP.

Período: Início: 03/2027 - Término: 03/2030

Sumário

Resumo.....	4
Abstract.....	5
1. Enunciado do problema.....	6
1.1. Impacto econômico e sanitário do carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	6
1.2. Resistência, Tolerância e Resiliência ao carrapato bovino.....	7
1.3. Abordagens multiômicas para avaliar a resistência e tolerância ao carrapato ...	9
1.4. Hipótese do projeto.....	10
2. Objetivos.....	11
2.1. Objetivo geral.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3. Resultados esperados.....	11
4. Desafios científicos e tecnológicos e os meios e métodos para superá-los.....	12
5. Materiais e métodos.....	14
5.1. Animais experimentais.....	14
5.2. Avaliações fenotípicas.....	15
5.2.1. Contagens de carrapatos.....	15
5.2.2. Medidas de peso e hemograma dos animais.....	16
5.2.3. Extração de DNA e quantificação de hemoparasitas por qPCR.....	16
5.3. Análises estatísticas para fenótipos de resistência e tolerância.....	17
5.3.1. Construção do índice composto de infestação e estrutura dos dados.....	17
5.3.2. Modelos para resistência e tolerância e estimação de parâmetros genéticos.....	17
5.4. Integração fenotípica e classificação dos animais.....	19
5.6. Seleção dos animais extremos para as análises multiômicas.....	21
5.7. Coleta, processamento e controle de qualidade das amostras.....	22
5.8. Análise do transcriptoma sanguíneo (RNA-seq).....	23
5.9. Análise do microbioma fecal (sequenciamento do gene 16S rRNA).....	23
5.10. Análise do microbioma cutâneo (metagenômica <i>shotgun</i>).....	24
5.11. Genotipagem.....	25
5.12. Integração multiômica.....	26
6. Disseminação e avaliação.....	27
7. Outros apoios.....	28
8. Cronograma de atividades.....	29
9. Referências bibliográficas.....	31

Resumo

O carrapato *Rhipicephalus microplus* constitui um dos principais entraves à pecuária tropical, por causar perdas produtivas, transmitir hemoparasitas e apresentar crescente resistência aos acaricidas. Nesse contexto, compreender os mecanismos de resistência e tolerância ao carrapato é essencial para o desenvolvimento de sistemas de produção mais sustentáveis. Este projeto dará continuidade a um estudo anterior, financiado pela FAPESP, que evidenciou a existência de variabilidade genética e fenotípica para resistência e tolerância ao carrapato em bovinos Canchim. Serão avaliados 400 bovinos Canchim (5/8 Charolês e 3/8 Zebu), distribuídos em dois sistemas de produção - extensivo e semi-intensivo - e duas safras de nascimento, correspondentes aos anos de 2025 e 2026. Os animais serão acompanhados longitudinalmente em quatro avaliações sazonais, totalizando 1.600 registros fenotípicos. A partir de modelos específicos para resistência, tolerância e desempenho produtivo, serão obtidos valores genéticos preditos para resistência ao carrapato (EBVR), tolerância ao carrapato (EBVT) e desempenho produtivo (EBVP). Esses valores serão utilizados para classificar os animais e identificar grupos extremos geneticamente e fenotipicamente contrastantes. Após essa etapa, serão selecionados 80 machos pertencentes aos grupos extremos, sendo cinco animais de cada grupo em cada combinação entre sistema de produção e safra de nascimento, para serem submetidos a uma infestação artificial padronizada com aproximadamente 10.000 larvas infestantes de *R. microplus* por animal. Aos 21 dias após o desafio, serão coletadas amostras de sangue, pele e fezes para análises multiômicas. Os mecanismos biológicos associados às diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo serão investigados por meio da integração do perfil transcriptômico sanguíneo, caracterizado por RNA-seq, do microbioma fecal, caracterizado pelo sequenciamento do gene 16S rRNA, e do microbioma cutâneo, avaliado por metagenômica *shotgun*. Adicionalmente, serão determinadas as cargas de hemoparasitas transmitidos por *R. microplus* e as variáveis hematológicas, além de serem incorporadas informações genômicas obtidas por genotipagem de SNPs. Essa abordagem possibilitará a identificação de regiões genômicas candidatas associadas aos fenótipos avaliados, bem como biomarcadores e vias biológicas relacionados à resistência e à tolerância ao parasitismo. Os resultados poderão contribuir para o aprimoramento de programas de seleção genética voltados à identificação de animais mais resistentes e tolerantes, favorecendo o desenvolvimento de sistemas de produção de bovinos mais sustentáveis em regiões tropicais.

Palavras-chave: Bovinos Canchim, carrapato bovino, tolerância, resistência, multiômica.

Title: Multi-omic integration of the mechanisms underlying resistance and tolerance to the cattle tick *Rhipicephalus microplus* in Canchim cattle

Abstract

The cattle tick *Rhipicephalus microplus* is one of the major constraints to tropical cattle production, causing production losses, transmitting hemoparasites, and developing increasing resistance to acaricides. Understanding the mechanisms underlying resistance and tolerance to tick infestation is therefore essential for the development of more sustainable production systems. This project will build on a previous FAPESP-funded study that demonstrated genetic and phenotypic variability for resistance and tolerance to tick infestation in Canchim cattle. A total of 400 Canchim cattle, composed of 5/8 Charolais and 3/8 Zebu, will be evaluated in two production systems—extensive and semi-intensive—and across two birth cohorts, corresponding to the years 2025 and 2026. The animals will be monitored longitudinally through four seasonal evaluations, resulting in 1,600 phenotypic records. Specific models for resistance, tolerance, and productive performance will be used to estimate breeding values for tick resistance (EBVR), tick tolerance (EBVT), and productive performance (EBVP). These values will be used to classify the animals and identify genetically and phenotypically contrasting extreme groups. Following this classification, 80 male animals will be selected, comprising five animals from each group within each production system × birth cohort combination, and subjected to standardized artificial infestation with approximately 10,000 *R. microplus* larvae per animal. Blood, skin, and fecal samples will be collected 21 days after the challenge for multi-omics analyses. The biological mechanisms associated with different adaptive strategies to parasitism will be investigated by integrating the blood transcriptomic profile, characterized by RNA sequencing (RNA-seq); the fecal microbiome, characterized by 16S rRNA gene sequencing; and the skin microbiome, assessed by shotgun metagenomic sequencing. In addition, hemoparasite burdens transmitted by *R. microplus* and hematological variables will be determined, and genomic information obtained through SNP genotyping will be incorporated into the analyses. This approach will enable the identification of candidate genomic regions associated with the evaluated phenotypes, as well as biomarkers and biological pathways related to resistance and tolerance to tick infestation. The results may contribute to improving genetic selection programs aimed at identifying more resistant and tolerant animals, thereby supporting the development of more sustainable cattle production systems in tropical regions.

Keywords: Canchim cattle, cattle tick, tolerance, resistance, multi-omics.

1. Enunciado do problema

1.1. Impacto econômico e sanitário do carrapato *Rhipicephalus microplus*

O carrapato *Rhipicephalus microplus* constitui um dos principais desafios para a bovinocultura em regiões tropicais e subtropicais, causando perdas econômicas expressivas decorrentes de efeitos diretos e indiretos sobre a produção animal. No Brasil, os prejuízos anuais associados à infestação por *R. microplus* são estimados em aproximadamente US\$ 3,24 bilhões, enquanto as perdas globais associadas aos carrapatos e às doenças por eles transmitidas foram estimadas em aproximadamente US\$ 22–30 bilhões anuais (Grisi et al., 2014; Lew-Tabor e Valle, 2016). Entre as principais consequências destacam-se a redução da produção de leite e do ganho de peso, mortalidade, aumento da morbidade, custos com controle e transmissão de hemoparasitas (Tabor et al., 2017; Rodriguez-Vivas et al., 2018). Além disso, a intensificação dos sistemas produtivos e a utilização de genótipos com maior potencial produtivo, porém mais suscetíveis ao parasitismo, têm aumentado a vulnerabilidade dos rebanhos aos impactos associados a *R. microplus* (Barros et al., 2024).

Além dos impactos produtivos, as lesões cutâneas causadas pela infestação favorecem a ocorrência de miíases e comprometem a qualidade do couro (Reck et al., 2014). A interação parasita-hospedeiro também envolve alterações na resposta imunológica, influenciando a resistência dos bovinos e a persistência do parasitismo (Tabor et al., 2017; Dehuri et al., 2025; Simões et al., 2026). Adicionalmente, a infestação por carrapatos pode provocar desconforto e estresse, com possíveis consequências para o bem-estar e o desempenho produtivo dos bovinos (Rodríguez-Vivas et al., 2017; Strydom et al., 2025).

O controle químico por meio de acaricidas permanece como a principal estratégia utilizada nos sistemas de produção bovina. Entretanto, o uso intensivo desses compostos tem favorecido a seleção de populações resistentes de *R. microplus*, reduzindo a eficácia dos tratamentos disponíveis (Rodríguez-Vivas et al., 2018, 2026). A ocorrência de resistência aos principais grupos químicos reforça a necessidade de estratégias complementares, incluindo a seleção de animais geneticamente mais resistentes ao parasitismo (Sabatini et al., 2026). Além dos danos diretos, *R. microplus* transmite *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *B. bigemina*, agentes associados à Tristeza Parasitária Bovina (Kocan et al., 2003; Bock et al., 2004). Essas enfermidades podem causar anemia, mortalidade, redução da produtividade, perdas reprodutivas e aumento dos custos de produção, tornando seu controle um importante desafio sanitário (Jonsson et al., 2008; Rodríguez-Vivas et al., 2017).

Adicionalmente, as mudanças climáticas podem alterar a distribuição geográfica, a dinâmica populacional e a sazonalidade de *R. microplus*, aumentando a pressão parasitária e os riscos associados à transmissão de hemoparasitas (Gray et al., 2009; Estrada-Peña et al., 2013; Ogden e Lindsay, 2016). Diante desse cenário, torna-se essencial compreender os mecanismos biológicos associados à resistência e à tolerância dos bovinos ao parasitismo para desenvolver estratégias de manejo mais eficientes, sustentáveis e adaptadas aos desafios futuros da pecuária tropical.

1.2. Resistência, Tolerância e Resiliência ao carrapato bovino

A resposta dos bovinos ao desafio imposto por *R. microplus* envolve diferentes estratégias adaptativas que determinam a capacidade dos animais de controlar a infestação e manter o desempenho produtivo, destacando-se a resistência e a tolerância. Embora frequentemente confundidas, essas características representam estratégias distintas, com implicações relevantes para a compreensão da interação hospedeiro-parasito e para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético (Doeschl-Wilson; Villanueva; Kyriazakis, 2012; Doeschl-Wilson et al., 2012).

A resistência refere-se à capacidade do hospedeiro de controlar a carga parasitária, reduzindo o nível de infestação (Doeschl-Wilson; Villanueva; Kyriazakis, 2012). Na prática, essa característica é inferida pela carga parasitária, de modo que animais com menor número de carrapatos são considerados mais resistentes. Para *R. microplus*, essa característica apresenta base genética, com estimativas de herdabilidade variando de 0,13 a 0,64, dependendo do método de avaliação e da população estudada (Jonsson et al., 2014).

A tolerância, por sua vez, corresponde à capacidade do hospedeiro de limitar os efeitos prejudiciais do parasitismo sobre o desempenho produtivo, sem necessariamente reduzir a carga parasitária (Doeschl-Wilson; Villanueva; Kyriazakis, 2012; Doeschl-Wilson et al., 2012). Animais tolerantes conseguem manter características produtivas mesmo sob elevada infestação. Essa característica pode ser quantificada pela relação entre o desempenho produtivo e a carga parasitária ao longo do tempo, sendo considerados mais tolerantes os indivíduos que apresentam menor redução produtiva diante do aumento do desafio parasitário (Doeschl-Wilson et al., 2012; Mulder; Rashidi, 2017). Assim, sua avaliação requer medidas repetidas de desempenho e carga parasitária, permitindo identificar indivíduos capazes de manter a produtividade sob diferentes níveis de desafio parasitário (Doeschl-Wilson; Lough, 2014).

A resiliência representa a capacidade do animal de manter ou recuperar seu desempenho diante de um desafio parasitário, podendo ser influenciada pela resistência,

pela tolerância ou pela combinação de ambas (Doeschl-Wilson; Lough, 2014; Doeschl-Wilson et al., 2021). Animais resilientes podem apresentar menor impacto produtivo durante a infestação, seja por controlarem a carga parasitária, seja por limitarem seus efeitos, constituindo um fenótipo de interesse em sistemas de produção sob desafio parasitário. Entretanto, a resiliência apresenta uma limitação conceitual importante, pois pode integrar resistência e tolerância em um único fenótipo, dificultando a identificação do mecanismo selecionado (Mulder; Rashidi, 2017; Doeschl-Wilson; Lough, 2014). Embora a resiliência possa resultar da combinação entre resistência e tolerância, sua utilização como critério único pode dificultar a identificação do mecanismo efetivamente selecionado. Quando a carga parasitária é registrada, a estimação de valores genéticos específicos para resistência e tolerância permite maior precisão na caracterização dessas estratégias (Mulder e Rashidi, 2017).

Em regiões endêmicas para *R. microplus*, caracterizadas pela exposição frequente ao parasitismo, a avaliação conjunta da resistência e da tolerância é particularmente relevante, pois permite identificar animais capazes de controlar a infestação e manter o desempenho produtivo sob elevada pressão parasitária. Dessa forma, essas características apresentam potencial para programas de melhoramento genético e importantes implicações para a sustentabilidade da pecuária em regiões tropicais. Apesar desse potencial, ainda são pouco conhecidos os mecanismos moleculares responsáveis pelas diferenças observadas entre animais resistentes e tolerantes.

No projeto anterior, financiado pela FAPESP (Processo nº 2022/16262-3), foram avaliados 383 bovinos Canchim em dois sistemas de produção contrastantes. As avaliações longitudinais da infestação por *R. microplus* e do ganho de peso permitiram estimar parâmetros genéticos para resistência e tolerância, demonstrando a viabilidade de identificar animais capazes de manter o desempenho produtivo sob diferentes níveis de desafio parasitário.

Esses achados estabeleceram a base metodológica para a presente proposta. Enquanto o estudo anterior permitiu identificar e caracterizar, fenotípica e geneticamente, animais resistentes e tolerantes, o novo projeto utilizará os mesmos locais experimentais e sistemas de produção - extensivo e semi-intensivo - para investigar os mecanismos biológicos subjacentes a esses fenótipos. Para os estudos ônicos, animais extremos, selecionados com base nas avaliações sob infestação natural, serão submetidos a uma infestação artificial padronizada, com o objetivo de uniformizar o desafio parasitário antes da coleta das amostras e das análises subsequentes. Essa estratégia permitirá relacionar

a variação genética e fenotípica observada no estudo anterior aos mecanismos moleculares associados à resistência e à tolerância ao carrapato.

1.3. Abordagens multiômicas para avaliar a resistência e tolerância ao carrapato

Embora estudos anteriores tenham identificado animais resistentes e tolerantes com base em avaliações fenotípicas e genéticas, os mecanismos biológicos responsáveis por essas estratégias adaptativas ainda permanecem pouco compreendidos. A investigação desses mecanismos requer abordagens integrativas capazes de avaliar diferentes níveis de organização do hospedeiro, incluindo os componentes genéticos, transcriptômicos e microbiológicos da resposta à infestação por *R. microplus*.

Análises transcriptômicas em bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus* infestados por *R. microplus* identificaram diferenças na expressão de genes relacionados à resposta inflamatória, à imunidade inata e à sinalização celular entre animais resistentes e suscetíveis (Piper et al., 2009). Estudos posteriores também demonstraram diferenças nas respostas imunes e bioquímicas da pele, incluindo alterações associadas à inflamação, à ativação celular e ao recrutamento de células efectoras (Franzin et al., 2017; Tabor et al., 2017). Embora a pele seja o tecido mais frequentemente analisado nesses estudos, o transcriptoma sanguíneo pode oferecer uma alternativa menos invasiva para avaliações populacionais e estudos de resposta imune em bovinos, conforme demonstrado em pesquisas conduzidas sob diferentes condições fisiológicas e imunológicas (Zhao et al., 2021, 2023; Wang et al., 2024).

O microbioma do trato gastrointestinal participa da regulação metabólica, da modulação imunológica e da manutenção da homeostase do hospedeiro. Sua composição e seu potencial funcional são influenciados por fatores como genética, dieta e ambiente, podendo estar associados a características produtivas e imunológicas em bovinos (Holman; Gzyl, 2019; Fan et al., 2021). Estudos metagenômicos e metabolômicos também relacionaram o microbioma ao metabolismo e a características de importância econômica, como eficiência alimentar, ingestão de água e emissão de metano (Auffret et al., 2020; Conteville et al., 2023; Malheiros et al., 2023). Esses resultados sustentam a aplicação dessas abordagens na investigação de fenótipos complexos, incluindo a resistência e a tolerância dos bovinos ao parasitismo por *R. microplus*.

O microbioma cutâneo constitui outro componente potencialmente relevante da interface hospedeiro–carrapato. A pele é o principal local de interação entre o parasita e o hospedeiro e abriga um microambiente no qual fatores imunológicos, metabólicos e microbianos podem influenciar a resposta à infestação (Wikel, 2013; Tabor et al., 2017). Em bovinos infestados por *R. microplus*, diferenças na expressão gênica e nas respostas

imunes e bioquímicas da pele foram observadas entre animais resistentes e suscetíveis (Piper et al., 2009; Franzin et al., 2017). Embora a participação específica do microbioma cutâneo bovino na resistência e na tolerância ainda não esteja esclarecida, estudos sobre a microbiota associada aos carrapatos indicam que comunidades microbianas podem participar das interações entre o vetor, o hospedeiro e os agentes transmitidos (Aguilar-Díaz et al., 2021). A caracterização taxonômica e funcional do microbioma cutâneo poderá, portanto, ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos nessa interação.

Apesar dos avanços na caracterização genética, transcriptômica e microbiológica da resposta dos bovinos ao carrapato, grande parte dos estudos ainda se concentra em fenótipos de resistência definidos pela carga parasitária. Os mecanismos biológicos associados à tolerância permanecem menos compreendidos, especialmente em bovinos de corte criados em ambientes tropicais. Também são limitados os estudos que avaliam conjuntamente resistência e tolerância, relacionando a infestação parasitária à manutenção do desempenho produtivo, aos parâmetros hematológicos, à ocorrência de hemoparasitas e aos perfis moleculares dos animais.

Até onde foi possível verificar, são ainda escassos os estudos que integram dados fenotípicos, genéticos, transcriptômicos e microbiológicos, incluindo o transcriptoma sanguíneo e os microbiomas fecal e cutâneo para elucidar os mecanismos associados às diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo por *R. microplus* em bovinos de corte. Essa integração pode favorecer a identificação de biomarcadores candidatos e o desenvolvimento de estratégias de seleção que considerem simultaneamente a capacidade de controlar a infestação e de manter o desempenho produtivo sob desafio parasitário. Para isso, a presente proposta combina modelos específicos para resistência e tolerância com abordagens multiômicas, buscando identificar genes, vias biológicas, comunidades microbianas e biomarcadores associados a essas características. A raça Canchim poderá contribuir como população de referência para o desenvolvimento e a avaliação preliminar de estratégias multiômicas aplicáveis a bovinos de corte criados em ambientes tropicais.

1.4. Hipótese do projeto

A hipótese central deste projeto é que a resistência e a tolerância ao parasitismo por *R. microplus* constituem estratégias adaptativas distintas, embora possam ocorrer simultaneamente, e estejam associadas a assinaturas transcriptômicas, microbiológicas e fisiológicas específicas. A integração de dados fenotípicos, genéticos e multiômicos permitirá identificar diferenças na expressão gênica, na composição e no potencial

funcional dos microbiomas fecal e cutâneo, na ocorrência de hemoparasitas e nos parâmetros hematológicos de animais com diferentes perfis de resistência e tolerância.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Investigar os mecanismos biológicos associados à resistência e à tolerância ao parasitismo por *Rhipicephalus microplus* em bovinos Canchim, integrando modelos genéticos, transcriptoma sanguíneo e microbiomas fecal e cutâneo para identificar biomarcadores candidatos com potencial aplicação em programas de melhoramento genético.

2.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar a resistência, a tolerância e o desempenho produtivo de bovinos Canchim submetidos à infestação natural por *R. microplus* em sistemas de produção contrastantes;
2. Estimar parâmetros genéticos e valores genéticos preditos para resistência, tolerância e desempenho produtivo, avaliando seu potencial de aplicação em programas de melhoramento genético;
3. Selecionar animais contrastantes quanto à resistência, à tolerância e à suscetibilidade ao parasitismo e caracterizar seus perfis transcriptômicos, microbiomas fecal e cutâneo, parâmetros hematológicos e perfis de infecção por hemoparasitas durante a infestação natural e após desafio experimental padronizado;
4. Identificar genes diferencialmente expressos, vias biológicas e comunidades microbianas associadas às diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo;
5. Integrar informações fenotípicas, hematológicas, genéticas e multiômicas para identificar biomarcadores candidatos e redes biológicas relacionadas à resistência e à tolerância;
6. Avaliar a concordância entre os fenótipos caracterizados sob infestação natural e as respostas dos animais ao desafio experimental padronizado.

3. Resultados esperados

Espera-se que o projeto amplie a compreensão dos mecanismos biológicos associados à resistência e à tolerância ao parasitismo por *R. microplus*, por meio da integração de informações fenotípicas, hematológicas, genéticas, transcriptômicas e microbiológicas em bovinos Canchim.

Especificamente, espera-se:

- Estimar parâmetros genéticos e valores genéticos preditos para resistência, tolerância e desempenho produtivo em bovinos Canchim submetidos à infestação natural por *R. microplus*;
- Selecionar animais fenotípica e geneticamente contrastantes quanto à resistência, à tolerância e à suscetibilidade ao parasitismo;
- Identificar genes diferencialmente expressos, vias biológicas e comunidades microbianas associadas às diferentes estratégias adaptativas;
- Integrar dados fenotípicos, genéticos, hematológicos e multiômicos para identificar biomarcadores candidatos, assinaturas moleculares e redes biológicas relacionadas à resistência e à tolerância;
- Avaliar a consistência dos fenótipos caracterizados sob infestação natural com base nas respostas dos animais ao desafio experimental padronizado;
- Identificar assinaturas moleculares com potencial aplicação em programas de seleção genética, considerando diferentes sistemas de produção e safras de nascimento.

Produtos previstos:

- Submissão de quatro a cinco artigos científicos a periódicos internacionais;
- Formação de recursos humanos qualificados, incluindo dois mestres e dois doutores;
- Apresentação dos resultados em congressos nacionais e internacionais;
- Realização de workshop técnico para disseminação do conhecimento gerado;
- Elaboração de boletim técnico com recomendações para programas de melhoramento genético.

4. Desafios científicos e tecnológicos e os meios e métodos para superá-los

Embora exista variabilidade genética para resistência e tolerância ao carrapato *R. microplus*, a fenotipagem dessas características ainda representa um desafio para sua incorporação em programas de melhoramento genético. A dinâmica das infestações, a heterogeneidade ambiental e os efeitos do manejo podem comprometer a obtenção de fenótipos consistentes. Para reduzir esses efeitos, o projeto será desenvolvido em rebanhos experimentais da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP, e do Grupo ILMA, em Angatuba-SP, regiões com ocorrência natural e recorrente de *R. microplus*. Ambos possuem rastreabilidade, histórico de avaliações zootécnicas e sanitárias e protocolos padronizados de coleta. A presença de animais aparentados e de reprodutores

comuns entre os sistemas contribuirá para a conectividade genética, favorecendo a comparação dos fenótipos e a estimação de valores genéticos sob diferentes condições de manejo.

A integração de dados fenotípicos, parasitológicos, hematológicos, genéticos e multiômicos constitui outro desafio relevante. Essa etapa será favorecida pela articulação com projetos complementares, incluindo o projeto CNPq Universal, Processo nº 404819/2025-7, que contempla a safra de nascimento de 2025, e o projeto SEG da Embrapa nº 20.23.08.001.00.00, intitulado “Raças Canchim e Brangus: avanços de pesquisa para o melhoramento e avaliação genética”. Os resultados do projeto FAPESP nº 2022/16262-3 também forneceram uma população previamente caracterizada quanto à resistência e à tolerância ao carrapato, com informações fenotípicas, genótipos e amostras biológicas. Essas iniciativas reduzem os riscos relacionados à formação da população experimental e à geração dos dados necessários à proposta.

A distinção entre os mecanismos biológicos associados à resistência e à tolerância constitui um desafio científico central, uma vez que essas características podem ocorrer simultaneamente e são frequentemente avaliadas em conjunto. Para enfrentá-lo, serão utilizados modelos genéticos específicos e diferentes camadas de informação biológica. Os animais serão classificados com base em fenótipos longitudinais de resistência, tolerância e desempenho produtivo e, posteriormente, os grupos contrastantes serão submetidos a infestação artificial padronizada para a coleta de amostras destinadas às análises multiômicas. A carga parasitária residual observada antes do desafio será registrada e considerada na interpretação dos resultados.

A identificação de mecanismos moleculares com potencial aplicação no melhoramento genético também representa uma etapa desafiadora. O transcriptoma sanguíneo permitirá caracterizar respostas moleculares por meio de uma abordagem minimamente invasiva e compatível com avaliações populacionais. Os microbiomas fecal e cutâneo complementarão essa análise, possibilitando investigar a interação hospedeiro–parasito em diferentes níveis de organização biológica e relacionar perfis microbianos às características de resistência, tolerância e desempenho produtivo.

Do ponto de vista tecnológico, a obtenção de DNA microbiano em quantidade e qualidade adequadas a partir de amostras cutâneas constitui uma limitação potencial, devido à baixa biomassa microbiana e à elevada proporção de DNA do hospedeiro. Para reduzir esse risco, será realizado um estudo piloto destinado à otimização dos procedimentos de coleta, armazenamento, extração de DNA e preparo das bibliotecas

metagenômicas. Essa etapa permitirá estabelecer critérios de qualidade para a execução das análises subsequentes.

A integração dos dados provenientes de diferentes plataformas de sequenciamento representa outro desafio metodológico. Serão utilizadas abordagens de integração multiômica, incluindo DIABLO (*Data Integration Analysis for Biomarker Discovery using Latent Components*) e MOFA (*Multi-Omics Factor Analysis*), associadas a análises de redes e pipelines bioinformáticos padronizados. Essas estratégias permitirão integrar dados fenotípicos, genéticos, parasitológicos, hematológicos, transcriptômicos e microbiológicos para identificar biomarcadores candidatos e redes biológicas associadas às estratégias adaptativas ao parasitismo. As análises multiômicas também estão sujeitas a limitações relacionadas à qualidade das amostras, à profundidade de sequenciamento, à baixa biomassa microbiana e à heterogeneidade biológica. Para minimizar esses efeitos, serão adotados protocolos padronizados de coleta e processamento, critérios de controle de qualidade para DNA e RNA e procedimentos adequados de ajuste estatístico e bioinformático.

A disponibilidade de uma população experimental previamente caracterizada, a conectividade genética entre os rebanhos, a articulação com projetos complementares, a infraestrutura das instituições participantes e a experiência da equipe multidisciplinar contribuem para reduzir os principais riscos científicos e tecnológicos da proposta. Esses fatores sustentam sua viabilidade técnica e aumentam a probabilidade de gerar resultados robustos sobre os mecanismos associados à resistência e à tolerância ao carrapato, com potencial aplicação no melhoramento genético de bovinos de corte.

5. Materiais e métodos

5.1. Animais experimentais

Serão avaliados 400 bovinos Canchim (5/8 Charolês e 3/8 Zebu) distribuídos em duas safras de nascimento, correspondentes aos anos de 2025 e 2026. Os animais serão acompanhados a partir da desmama, aproximadamente aos oito meses de idade, em dois sistemas de produção contrastantes no estado de São Paulo:

-Sistema extensivo: conduzido na Fazenda Experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP, baseado em pastagem e suplementação mineral, com 200 animais, sendo 100 por safra de nascimento;

-Sistema semi-intensivo: conduzido na Fazenda Santo Antônio, pertencente ao Grupo ILMA, em Angatuba, SP, caracterizado por pastejo rotacionado, suplementação energética e proteica e pastagens adubadas, conforme o protocolo nutricional adotado na

propriedade. Esse sistema também incluirá 200 animais, sendo 100 por safra de nascimento.

A safra de nascimento de 2025 está sendo conduzida no âmbito do projeto CNPq Universal, Processo nº 404819/2025-7, enquanto a safra de 2026 será conduzida no âmbito da presente proposta. Ambas serão acompanhadas segundo procedimentos compatíveis de avaliação fenotípica e manejo experimental, respeitando as responsabilidades e os objetivos específicos de cada projeto. Em cada combinação entre sistema de produção e safra de nascimento, os animais serão acompanhados por aproximadamente um ano, com quatro avaliações fenotípicas sazonais, totalizando cerca de 1.600 registros.

A presença de reprodutores compartilhados entre safras, incluindo 36,4% dos touros utilizados no sistema extensivo e 33,3% no semi-intensivo entre 2023 e 2025, evidencia conectividade genética temporal. Além disso, 47,8% dos touros Canchim utilizados no Grupo ILMA apresentam genealogia relacionada ao rebanho da Embrapa. As progênies previstas para 2026 também incluem filhos e filhas de reprodutores previamente avaliados quanto à infestação por carrapatos, permitindo a continuidade das avaliações genéticas e fenotípicas.

Durante esse período, as avaliações parasitológicas serão realizadas sob infestação natural, mantendo-se os animais sem tratamento carrapaticida e anti-helmíntico por 30 a 40 dias antes de cada avaliação. Serão estabelecidos critérios clínicos e hematológicos para intervenções sanitárias, quando necessárias, a fim de assegurar o bem-estar animal. Informações sobre o manejo sanitário, o uso de antiparasitários e as condições ambientais serão registradas para auxiliar a interpretação dos resultados e, quando pertinente, incorporadas aos modelos estatísticos. Ao final das avaliações, os dados serão incorporados aos modelos genéticos. Com base nos valores genéticos preditos e nos critérios de classificação estabelecidos, os animais serão ranqueados e os grupos extremos serão selecionados para as etapas subsequentes do projeto.

5.2. Avaliações fenotípicas

5.2.1. Contagens de carrapatos

Em cada avaliação, serão contabilizadas as fêmeas adultas de *R. microplus* aderidas ao hospedeiro, com diâmetro igual ou superior a 4,5 mm, presentes no lado esquerdo do corpo dos animais, conforme Utech et al. (1978) e Hermans et al. (1994). Adicionalmente, será atribuído um escore de infestação, variando de 0 a 4, conforme Fraga et al. (2003), com a modificação proposta por Frabetti et al. (2023), considerando a presença de diferentes estágios do carrapato, incluindo larvas, ninfas, machos e fêmeas.

As contagens de fêmeas adultas e os escores de infestação serão utilizados conjuntamente na construção de um índice composto de infestação por *R. microplus* (IC). Esse índice será empregado como medida complementar nas análises de resistência e tolerância ao carrapato, conforme descrito nas subseções específicas sobre a construção dos fenótipos e a estimação dos parâmetros genéticos.

5.2.2. Medidas de peso e hemograma dos animais

O peso corporal será registrado em todas as avaliações fenotípicas, e o ganho médio diário será calculado a partir da diferença entre os pesos obtidos em avaliações consecutivas, considerando-se o intervalo de dias entre as respectivas pesagens.

Amostras de sangue serão coletadas por venopunção da veia jugular em tubos contendo EDTA. Essas amostras serão utilizadas para a realização do hemograma completo e para a extração de DNA destinado à quantificação de hemoparasitas por PCR quantitativa em tempo real (qPCR). Os hemogramas serão realizados em analisador hematológico automatizado de cinco partes, a ser disponibilizado por meio da infraestrutura institucional ou de colaboração estabelecida para o projeto, permitindo a determinação dos parâmetros das séries vermelha e branca, incluindo o diferencial leucocitário, e da série plaquetária. Esses dados serão utilizados como indicadores fisiológicos e sanitários e associados à infestação por *R. microplus*, às cargas de hemoparasitas e aos fenótipos de resistência, tolerância e desempenho produtivo.

5.2.3. Extração de DNA e quantificação de hemoparasitas por qPCR

As amostras de sangue coletadas em tubos com EDTA serão utilizadas para extração de DNA genômico com o Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega™, Madison, WI, EUA), conforme o protocolo do fabricante para 300 µL de sangue total. A concentração e a pureza do DNA serão avaliadas por nanoespectrofotometria no equipamento BioDrop µLITE (Biochrom, Cambridge, Reino Unido), e as amostras serão armazenadas a -20 °C até as análises. A quantificação de *Babesia bovis* e *B. bigemina* será realizada por PCR quantitativa em tempo real (qPCR), com base no número de cópias do gene mitocondrial que codifica o citocromo b (*mt-cyB*), utilizando primers para amplicons de 98 pares de bases e sondas específicas, conforme Okino et al. (2018). Para *Anaplasma marginale*, será empregada qPCR direcionada ao gene *msh1b*, com amplicon de 119 pares de bases, conforme o ensaio desenvolvido e validado por Giglioti et al. (2019). As reações serão conduzidas com o GoTaq® Probe qPCR Master Mix (Promega, Madison, WI, EUA), em volume final de 20 µL, no equipamento Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). A quantificação absoluta será baseada em curvas padrão

construídas com diluições seriadas de fragmentos de DNA sintético gBlocks® Gene Fragments (Integrated DNA Technologies), conforme Giglioti et al. (2018). O número de cópias será estimado pelo software associado ao equipamento. As cargas de hemoparasitas serão utilizadas como covariáveis ou variáveis-resposta em análises de associação com os valores genéticos preditos para resistência, tolerância e desempenho produtivo, bem como com parâmetros hematológicos, carga de carrapatos e dados transcriptômicos e microbiológicos.

5.3. Análises estatísticas para fenótipos de resistência e tolerância

5.3.1. Construção do índice composto de infestação e estrutura dos dados

Será construído um índice composto de infestação (IC) a partir da contagem de fêmeas adultas e do escore visual de infestação por *R. microplus*. A contagem será transformada por $\log(n+1)$, e ambas as variáveis serão padronizadas em escores-z antes da análise de componentes principais (ACP). O primeiro componente principal (PC1) será utilizado como IC, desde que as variáveis apresentem cargas fatoriais com o mesmo sinal e interpretação biológica consistente. O sinal do PC1 será orientado de modo que valores maiores indiquem maior intensidade de infestação. Para o modelo de resistência, o IC será utilizado diretamente como variável-resposta. Para a avaliação da tolerância, o IC será decomposto em componentes crônico e agudo. O componente crônico será definido pela média individual do IC ao longo das avaliações: $X_{1,cjl} = \bar{I}_{cjl}$, em que $\bar{I}_{cjl}$ corresponde à média do IC do animal l , pertencente à safra de nascimento c e ao sexo j , calculada ao longo das avaliações. O componente agudo será calculado como o desvio da infestação observada em cada avaliação em relação à média individual: $X_{2,icjl} = I_{icjl} - \bar{I}_{cjl}$, em que I_{icjl} é o IC observado para o animal l , na avaliação i , da safra de nascimento c e do sexo j . Assim, X_1 representará o nível médio de infestação, enquanto X_2 representará a variação da infestação em relação à média individual. No modelo de tolerância, X_1 será incluído como covariável fixa, e X_2 será utilizado como gradiente ambiental da norma de reação. Serão registradas as cargas fatoriais e a proporção da variância explicada pelo PC1. Como análise de sensibilidade, os resultados obtidos com o IC serão comparados àqueles obtidos utilizando separadamente a contagem transformada de fêmeas adultas e o escore visual de infestação.

5.3.2. Modelos para resistência e tolerância e estimação de parâmetros genéticos

As análises serão realizadas sob abordagem bayesiana, utilizando o pacote MCMCglmm no ambiente R. A matriz de relações genéticas aditivas baseada no pedigree

será incorporada aos modelos para estimar componentes de variância, herdabilidades e valores genéticos preditos para resistência, tolerância e desempenho produtivo. Serão ajustados modelos específicos para cada característica, conforme Doeschl-Wilson e Kyriazakis (2012) e Mulder e Rashidi (2017).

Modelo 1 - Resistência ao carrapato

A resistência será avaliada utilizando o IC como variável-resposta. Os modelos serão ajustados separadamente para os sistemas extensivo e semi-intensivo:

$$y_R = X_R\beta_R + Z_Ra_R + W_Rpe_R + e_R$$

em que:

y_R é o vetor de observações do IC; β_R é o vetor de efeitos fixos de safra de nascimento, sexo e avaliação; a_R representa os efeitos genéticos aditivos; pe_R corresponde ao ambiente permanente do animal; e e_R representa os resíduos. Os valores genéticos preditos para resistência serão definidos por $EBVR_l = \hat{a}_{R,l}$, sendo considerados mais resistentes os animais com menores valores de EBVR.

Modelo 2 - Tolerância ao carrapato por norma de reação

A tolerância será definida como a capacidade genética do animal de manter o desempenho produtivo diante de variações na infestação por *R. microplus*. A estrutura do modelo distinguirá os componentes crônico e agudo da infestação. Para cada sistema de produção, será ajustado o seguinte modelo:

$$y_{icjl} = \mu + \alpha_i + \delta_c + s_j + \beta_1 X_{1,icjl} + \beta_2 X_{2,icjl} + \lambda_i X_{2,icjl} + a_{0l} + a_{1l} X_{2,icjl} + \varepsilon_{icjl}$$

em que:

y_{icjl} é o ganho médio diário do animal l , na avaliação i , da safra de nascimento c e do sexo j ; μ é a média geral; α_i é o efeito fixo da i -ésima avaliação; δ_c é o efeito fixo da c -ésima safra de nascimento; s_j é o efeito fixo do sexo; $X_{1,icjl}$ é o componente crônico da infestação; $X_{2,icjl}$ é o componente agudo da infestação; β_1 e β_2 são os coeficientes de regressão associados aos componentes crônico e agudo, respectivamente; $\lambda_i X_{2,icjl}$ representa a interação entre a avaliação e o componente agudo da infestação; a_{0l} é o intercepto genético aditivo do animal l ; a_{1l} é a inclinação genética individual da norma de reação; ε_{icjl} é o erro residual.

Os valores genéticos preditos para desempenho produtivo e tolerância serão obtidos, respectivamente, pelo intercepto e pela inclinação genética da norma de reação: $EBVP_l = \hat{a}_{0l}$ e $EBVT_l = \hat{a}_{1l}$.

O EBVP será interpretado como o valor genético para o desempenho produtivo na condição de referência $X_2 = 0$, isto é, quando a infestação observada corresponde à média individual do animal, após o ajuste para o nível crônico de infestação e os demais efeitos fixos. Portanto, não será interpretado como desempenho na ausência de parasitismo. O EBVT representará a sensibilidade genética do ganho médio diário às variações agudas da infestação. Valores mais próximos de zero indicarão menor redução do desempenho diante dessas variações e, portanto, maior tolerância, enquanto valores mais negativos indicarão maior sensibilidade ao aumento da infestação.

Quando aplicável, modelos alternativos serão comparados pelo Deviance Information Criterion (DIC), e a inferência será realizada por amostragem MCMC. Serão utilizadas múltiplas cadeias independentes, e a convergência será avaliada por diagnósticos de Gelman–Rubin, inspeção visual dos traços, autocorrelação e tamanho efetivo das amostras. As estimativas serão apresentadas com médias posteriores e intervalos de credibilidade de 95%.

Os dados hematológicos e as cargas de hemoparasitas serão posteriormente utilizados em análises de associação com os valores genéticos para resistência, tolerância e desempenho produtivo, buscando identificar relações com os mecanismos biológicos envolvidos na adaptação ao parasitismo.

5.4. Integração fenotípica e classificação dos animais

Com base nos modelos genéticos ajustados, serão obtidos os valores genéticos preditos para resistência ao carrapato (EBVR), desempenho produtivo (EBVP) e tolerância ao carrapato (EBVT). O EBVR será estimado pelo modelo de resistência, enquanto o EBVP e o EBVT corresponderão, respectivamente, ao intercepto e ao coeficiente angular da norma de reação. Considerando que resistência e tolerância representam estratégias adaptativas distintas e potencialmente independentes (Doeschl-Wilson e Kyriazakis, 2012; Mulder e Rashidi, 2017), os animais serão classificados com base em múltiplos critérios, sem a construção de um índice único. Os valores genéticos serão estimados para todos os animais avaliados, independentemente do sexo, aproveitando a estrutura de parentesco e a conectividade genética entre os rebanhos.

Menores valores de EBVR indicarão maior capacidade genética de limitar a infestação. Valores de EBVT próximos de zero ou positivos indicarão menor redução esperada do ganho médio diário com o aumento da infestação e, portanto, maior tolerância; valores negativos indicarão maior sensibilidade ao desafio parasitário. O EBVP será utilizado como indicador do potencial genético basal para desempenho na condição

de referência $X_2 = 0$, correspondente à infestação média individual, não representando o desempenho na ausência de parasitismo.

A classificação será realizada separadamente em cada combinação entre sistema de produção e safra de nascimento. Para permitir comparações relativas, os EBVR, EBVT e EBVP poderão ser padronizados em escores-z dentro de cada estrato.

Os quatro grupos serão definidos da seguinte forma:

1–Tolerantes com maior predisposição genética à infestação: animais com maiores valores de EBVR, indicando menor capacidade genética de limitar a infestação, associados a valores de EBVT próximos de zero ou positivos e elevados valores de EBVP. Representarão indivíduos que, apesar da maior predisposição à infestação, apresentam menor redução esperada do desempenho diante do desafio parasitário.

2–Resistentes e produtivos: animais com menores valores de EBVR e elevados valores de EBVP, representando indivíduos com maior capacidade genética de limitar a infestação e elevado potencial produtivo. Sempre que possível, serão priorizados animais que não apresentem valores fortemente negativos de EBVT.

3–Resistentes e com baixo potencial produtivo: animais com menores valores de EBVR e menores valores de EBVP, representando indivíduos capazes de controlar geneticamente a infestação, mas com menor potencial produtivo basal. Preferencialmente, não serão selecionados animais com valores extremamente negativos de EBVT, de modo que o principal contraste seja entre resistência e desempenho produtivo.

4–Suscetíveis e com baixo potencial produtivo: animais com maiores valores de EBVR, menores valores de EBVP e valores negativos de EBVT, especialmente os mais negativos da população de referência. Representarão indivíduos com menor capacidade de limitar a infestação, menor potencial produtivo basal e maior redução esperada do desempenho diante do aumento da carga parasitária.

Sempre que possível, será mantida representação equilibrada de famílias e grupos de parentesco entre os grupos experimentais, reduzindo a possibilidade de atribuir diferenças multiômicas exclusivamente ao parentesco. A acurácia ou o erro-padrão dos valores genéticos será utilizado como critério secundário de desempate. A utilização de machos favorecerá a viabilidade operacional e orçamentária do desafio experimental, enquanto as fêmeas permanecerão incluídas nas análises fenotípicas e genéticas.

5.5. Desafio de infestação artificial e coleta das amostras biológicas

Após a quarta avaliação fenotípica, a estimação dos parâmetros genéticos e a seleção dos grupos extremos, os animais selecionados serão submetidos à infestação

artificial controlada com larvas de *R. microplus*. O desafio será realizado antes das análises multiômicas, mantendo-se a classificação previamente estabelecida e reduzindo a variabilidade decorrente da intensidade da infestação natural, conforme Bonamy et al. (2026).

Antes da infestação, será realizada uma avaliação parasitológica basal pelos mesmos métodos empregados nas avaliações naturais, permitindo quantificar a infestação residual, uma vez que não será realizado tratamento carrapaticida. Diferenças substanciais na infestação basal entre os grupos serão consideradas na interpretação dos resultados e, quando pertinente, incluídas nas análises estatísticas.

Para a produção das larvas, fêmeas adultas de *R. microplus* serão coletadas de bovinos naturalmente infestados nos rebanhos experimentais dos sistemas extensivo e semi-intensivo. As populações serão identificadas quanto à origem e mantidas separadamente durante as etapas de oviposição, incubação e produção das larvas, sem intercâmbio entre os rebanhos. As larvas serão utilizadas exclusivamente no sistema de produção de origem, preservando sua rastreabilidade e a correspondência com o sistema de origem. Possíveis diferenças entre os sistemas serão interpretadas considerando também a origem das populações de *R. microplus*.

Serão utilizadas larvas com 15 a 20 dias de idade e taxa de eclosão superior a 90%. Cada animal será infestado com aproximadamente 10.000 larvas, depositadas uniformemente sobre o dorso, conforme adaptação do procedimento descrito por Silva et al. (2007).

As amostras de sangue, pele e fezes serão coletadas no 21º dia pós-infestação, período utilizado para a avaliação de fêmeas adultas aderidas ao hospedeiro após a infestação artificial e em estudos de resistência e suscetibilidade de bovinos (Silva et al., 2007; Franzin et al., 2017). Nessa ocasião, serão realizadas novas contagens de carrapatos e obtidos os parâmetros hematológicos previstos. Esses dados serão relacionados à infestação basal, às cargas de hemoparasitas, ao transcriptoma sanguíneo e aos microbiomas fecal e cutâneo.

5.6. Seleção dos animais extremos para as análises multiômicas

As análises multiômicas serão realizadas com amostras provenientes dos grupos extremos classificados conforme o item 5.4 e coletadas segundo os procedimentos descritos no item 5.5. O delineamento será balanceado, com a seleção de cinco machos de cada grupo extremo em cada combinação entre sistema de produção e safra de nascimento. Considerando os quatro grupos extremos, serão selecionados 20 animais

por combinação sistema × safra, correspondentes a 40 animais por sistema de produção e 80 animais no total:

$$2 \text{ sistemas} \times 2 \text{ safras} \times 4 \text{ grupos} \times 5 \text{ animais} = 80$$

A seleção exclusiva de machos baseia-se em resultados parciais obtidos no projeto FAPESP nº 2022/16262-3, dos quais parte foi submetida ao *Journal of Animal Science*. Esses resultados indicaram maior intensidade de infestação por carrapatos em machos Canchim, o que pode favorecer a identificação de animais contrastantes quanto à resistência e à tolerância ao carrapato. Embora a inclusão de fêmeas também seja cientificamente desejável, sua participação no desafio experimental e nas análises multiômicas aumentaria substancialmente o número de amostras e os custos do projeto, comprometendo sua viabilidade orçamentária. As fêmeas permanecerão incluídas nas avaliações fenotípicas e genéticas da população experimental.

A inclusão de duas safras e de sistemas de produção contrastantes permitirá avaliar a consistência temporal das estratégias adaptativas ao parasitismo e a recorrência de assinaturas moleculares sob diferentes condições ambientais e de manejo. Além das amostras fecais provenientes dos 80 animais selecionados para o desafio artificial, serão utilizadas 40 amostras de animais da safra de 2024, exclusivamente para a análise do microbioma fecal, totalizando 120 amostras fecais.

As amostras de sangue, fezes e pele serão destinadas, respectivamente, ao transcriptoma sanguíneo por RNA-seq, ao microbioma fecal por sequenciamento do gene 16S rRNA e ao microbioma cutâneo por metagenômica *shotgun*.

5.7. Coleta, processamento e controle de qualidade das amostras

As amostras serão processadas segundo protocolos padronizados de armazenamento, extração e preparação, específicos para cada matriz biológica. As amostras de DNA serão quantificadas por fluorimetria com o kit Qubit dsDNA HS Assay, enquanto as amostras de RNA serão quantificadas com o kit Qubit RNA HS Assay. A pureza será avaliada por espectrofotometria, e a integridade do RNA, por eletroforese microfluídica no Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies), com obtenção do *RNA Integrity Number* (RIN). Somente as amostras que atenderem aos critérios mínimos de qualidade serão utilizadas na construção das bibliotecas de sequenciamento.

Durante a avaliação realizada no 21º dia pós-infestação artificial, fêmeas adultas de *R. microplus* aderidas aos animais dos grupos extremos serão coletadas e armazenadas como material biológico complementar para futuras análises moleculares do parasita e estudos da interação parasito-hospedeiro associada aos fenótipos de resistência e tolerância.

5.8. Análise do transcriptoma sanguíneo (RNA-seq)

O sangue total será coletado em tubos PAXgene Blood RNA (BD, Franklin Lakes, EUA), permitindo a estabilização imediata do RNA. Os tubos serão mantidos à temperatura ambiente pelo período recomendado pelo fabricante e posteriormente armazenados a -80°C até a extração. O RNA total será extraído utilizando o kit PAXgene Blood RNA Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), incluindo etapa de remoção de DNA genômico. A concentração e a pureza do RNA serão avaliadas por espectrofotometria (BioDrop μLITE), enquanto a integridade será determinada por eletroforese microfluídica (Bioanalyzer 2100, Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), com obtenção do RNA Integrity Number (RIN). Serão utilizadas apenas amostras com $\text{RIN} \geq 7,0$, razão A_{260}/A_{280} entre 1,8 e 2,1 e $A_{260}/A_{230} \geq 1,5$.

As bibliotecas transcriptômicas serão preparadas a partir de RNA total com enriquecimento para transcritos poliadenilados (*poly-A selection*). O sequenciamento será realizado em plataforma Illumina (NovaSeq 6000 ou equivalente), utilizando estratégia *paired-end*, com profundidade média de aproximadamente 50 milhões de reads por amostra. As leituras serão alinhadas ao genoma bovino de referência ARS-UCD1.2 utilizando alinhadores splice-aware (STAR ou HISAT2). A expressão gênica diferencial entre os grupos extremos será avaliada por modelos estatísticos apropriados (DESeq2 ou edgeR), seguida de análises de enriquecimento funcional em Gene Ontology (GO), KEGG e Reactome. Os resultados serão comparados com conjuntos públicos disponíveis em GEO e ArrayExpress para avaliação da consistência das assinaturas moleculares identificadas.

5.9. Análise do microbioma fecal (sequenciamento do gene 16S rRNA)

As amostras fecais destinadas à caracterização do microbioma fecal, com aproximadamente 10 g, serão obtidas diretamente da ampola retal, utilizando luvas estéreis lubrificadas. As amostras serão acondicionadas em tubos estéreis de 15 mL, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido no campo e posteriormente armazenadas a -80°C .

A extração de DNA total será realizada utilizando o kit Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Microprep (Zymo, Orange, Califórnia, EUA), incluindo etapas de lise química e mecânica, conforme as recomendações do fabricante. A concentração, a pureza e a integridade do DNA serão avaliadas antes da preparação das bibliotecas.

As comunidades bacterianas e arqueais fecais serão caracterizadas por sequenciamento do gene 16S rRNA. Para a caracterização bacteriana, serão sequenciadas as regiões V3–V4 do gene 16S rRNA em plataforma de sequenciamento

de nova geração, utilizando estratégia *paired-end* e profundidade compatível com a caracterização da diversidade microbiana. Será considerada como referência uma profundidade aproximada de 30.000 leituras de alta qualidade por amostra, sujeita à avaliação da suficiência de cobertura durante o controle de qualidade.

Para a caracterização das comunidades arqueais, será utilizada uma biblioteca específica, empregando região e conjunto de primers direcionados a esse grupo, com sequenciamento em plataforma de nova geração e profundidade compatível com a caracterização da diversidade arqueal. Os dados de sequenciamento serão processados em pipeline bioinformático validado, utilizando QIIME 2. As etapas incluirão filtragem de qualidade, remoção de adaptadores e quimeras, inferência de variantes de sequência amplicônica (ASVs) por DADA2, classificação taxonômica utilizando banco de referência SILVA e identificação e remoção de contaminantes. Serão avaliadas métricas de diversidade alfa e beta, e os táxons diferencialmente abundantes entre os grupos extremos serão identificados por métodos apropriados, como ANCOM-BC ou ALDEx2.

As comunidades bacterianas e arqueais serão analisadas individualmente e, posteriormente, seus perfis serão integrados aos demais dados multiômicos. Os modelos estatísticos considerarão, quando pertinente, os efeitos de sistema de produção, safra de nascimento e lote de processamento, bem como possíveis diferenças na quantidade e na qualidade do DNA obtido.

Adicionalmente, serão incorporadas às análises do microbioma fecal 40 amostras provenientes da safra de nascimento de 2024, previamente coletadas e armazenadas a -80°C , pertencentes aos grupos extremos definidos em estudo anterior. Assim, o conjunto final será composto por 120 amostras fecais, permitindo avaliar a consistência temporal das associações entre as comunidades bacterianas e arqueais e as diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo. As amostras da safra de 2024 serão analisadas considerando sua origem temporal e possíveis diferenças de manejo, processamento e lote de extração ou sequenciamento. Elas não serão tratadas como parte de um delineamento balanceado equivalente ao das safras de 2025 e 2026.

5.10. Análise do microbioma cutâneo (metagenômica *shotgun*)

As amostras destinadas às análises metagenômicas da pele serão coletadas em áreas padronizadas do dorso e da região perineal, locais associados à interação entre o hospedeiro e *R. microplus*. A área total de coleta será previamente definida e aplicada de forma uniforme a todos os animais. Durante a etapa piloto, serão avaliados o método de coleta, a área amostrada, o número de passagens do dispositivo de coleta e o volume de solução estabilizadora, com base no rendimento de DNA, na proporção de DNA do

hospedeiro e na reprodutibilidade dos resultados. As amostras do dorso e da região perineal serão inicialmente identificadas e processadas separadamente. A formação de uma amostra composta por animal será realizada somente após a etapa piloto, caso seja demonstrado que essa estratégia produz material suficiente e não compromete a caracterização das comunidades microbianas. Essa abordagem permitirá avaliar previamente se há diferenças relevantes entre os sítios anatômicos e evitará que possíveis sinais específicos de uma região sejam diluídos na amostra composta.

Considerando que o rendimento de DNA microbiano e a proporção de DNA do hospedeiro podem variar de acordo com o local e o dispositivo de coleta em amostras epiteliais bovinas, conforme demonstrado por Dean et al. (2021), será realizada uma etapa piloto para padronizar a coleta de amostras cutâneas. Serão comparados diferentes procedimentos e dispositivos de coleta quanto ao rendimento e à qualidade do DNA, à proporção de DNA do hospedeiro e à reprodutibilidade dos resultados. Com base nesses resultados, será definido o protocolo mais adequado para a etapa principal.

Após a coleta, as amostras serão acondicionadas em solução estabilizadora compatível com a preservação do DNA e submetidas à extração de DNA total utilizando o kit Quick-DNA™/RNA Microprep Plus Kit (Zymo, Orange, Califórnia, EUA), ou outro protocolo previamente validado na etapa piloto. O DNA obtido será submetido ao sequenciamento metagenômico *shotgun* em plataforma de sequenciamento de nova geração, utilizando estratégia *paired-end*. A profundidade de sequenciamento será definida com base no rendimento das amostras, na proporção de DNA do hospedeiro e na avaliação da suficiência de cobertura, tendo como referência inicial aproximadamente 50 milhões de leituras por amostra.

Os dados serão processados para remoção de sequências provenientes do hospedeiro, caracterização taxonômica das comunidades microbianas e análise funcional dos genes identificados. Serão avaliadas bactérias, arqueias, fungos e outros microrganismos identificáveis pela abordagem metagenômica. Os perfis obtidos serão integrados aos dados transcriptômicos e do microbioma fecal por abordagens multiômicas, visando identificar assinaturas biológicas associadas às diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo.

5.11. Genotipagem

A genotipagem será realizada utilizando o painel GGP Bovine 100K, composto por aproximadamente 100 mil marcadores SNP, no maior conjunto de animais fenotipados disponível. Serão incluídos os indivíduos selecionados para as análises multiômicas e seus parentes informativos. Os dados serão submetidos a procedimentos de controle de

qualidade, incluindo avaliação da taxa de genotipagem, remoção de marcadores e animais com excesso de dados ausentes, verificação da frequência alélica mínima e identificação de possíveis inconsistências de sexo e parentesco. Após o controle de qualidade, os genótipos serão utilizados em análises de associação genômica ampla, com controle para parentesco, estrutura populacional, safra de nascimento e sistema de produção. As análises terão como objetivo identificar regiões genômicas e genes candidatos associados à resistência e à tolerância ao parasitismo. Considerando o tamanho amostral disponível, os resultados serão interpretados como exploratórios e candidatos, com cautela quanto à significância estatística e à capacidade de generalização. Sempre que possível, os achados serão confrontados com resultados previamente descritos na literatura e com as assinaturas identificadas nas análises transcriptômicas e microbiológicas. Os genótipos também serão incorporados ao banco institucional da Embrapa, contribuindo para futuras avaliações genômicas da raça Canchim.

5.12. Integração multiômica

Os dados do transcriptoma sanguíneo, do microbioma fecal, obtido por sequenciamento do gene 16S rRNA, e do microbioma cutâneo, caracterizado por metagenômica *shotgun*, serão inicialmente analisados de forma individual, visando identificar genes diferencialmente expressos, táxons microbianos e perfis funcionais microbianos associados às diferentes estratégias adaptativas ao parasitismo. No caso do microbioma fecal, as vias funcionais serão inferidas a partir dos dados do gene 16S rRNA, enquanto, para o microbioma cutâneo, poderão ser caracterizadas diretamente com base nos genes identificados pela metagenômica *shotgun*.

Posteriormente, os conjuntos de dados obtidos dos mesmos animais serão integrados por abordagens multivariadas utilizando o pacote mixOmics no ambiente R. Será aplicada a metodologia DIABLO (*Data Integration Analysis for Biomarker Discovery using Latent Components*), uma abordagem supervisionada destinada à identificação de combinações de variáveis moleculares capazes de discriminar os grupos extremos e de contribuir para a identificação de biomarcadores candidatos. As análises incluirão, quando pertinente, variáveis fenotípicas, hematológicas, parasitológicas e de desempenho produtivo, além dos dados transcriptômicos e microbiológicos.

Complementarmente, será utilizada a abordagem não supervisionada MOFA (*Multi-Omics Factor Analysis*) para identificar fatores latentes compartilhados entre os conjuntos de dados e caracterizar as principais fontes de variação associadas à infestação, ao desempenho produtivo e aos parâmetros hematológicos. Os modelos poderão incorporar

covariáveis relevantes, como sistema de produção, safra de nascimento, lote de processamento e infestação basal, de modo a reduzir a influência de fatores técnicos e ambientais sobre os padrões multiômicos.

As relações entre variáveis moleculares e fenótipos serão avaliadas por análises de correlação multivariada e redes de associação. Essas análises terão como objetivo identificar assinaturas multiômicas biologicamente coerentes e potencialmente consistentes entre sistemas de produção e safras de nascimento, bem como genes, táxons e vias candidatos relacionados à resistência e à tolerância ao parasitismo. Os resultados serão interpretados como exploratórios e geradores de hipóteses, e os biomarcadores identificados serão considerados candidatos, sujeitos a avaliação analítica preliminar e validação posterior em populações independentes.

As 40 amostras fecais provenientes da safra de nascimento de 2024 serão utilizadas nas análises do microbioma fecal, considerando-se sua origem temporal e possíveis diferenças de manejo, processamento e lote de extração ou sequenciamento. Como essas amostras não terão dados correspondentes de transcriptoma sanguíneo e microbioma cutâneo, não serão incluídas na integração multiômica completa por DIABLO. Elas poderão ser utilizadas em análises específicas de consistência temporal do microbioma fecal ou em análises de integração restritas às camadas de dados disponíveis, desde que o método empregado permita o tratamento adequado de dados ausentes.

6. Disseminação e avaliação

A disseminação dos resultados será realizada por meio da publicação de artigos científicos em periódicos internacionais especializados e da apresentação dos resultados em congressos nacionais e internacionais. Ao final do projeto, será elaborado um relatório técnico consolidando as atividades desenvolvidas, os resultados obtidos e as perspectivas para sua aplicação em programas de melhoramento genético. Além de ampliar o conhecimento sobre os mecanismos biológicos associados à resistência e tolerância ao carrapato *R. microplus*, os resultados poderão subsidiar estratégias de seleção genética voltadas ao aumento da adaptação dos bovinos ao desafio parasitário, contribuindo para a redução da dependência de acaricidas e, conseqüentemente, da pressão de seleção de populações de carrapatos resistentes e dos impactos ambientais associados ao uso intensivo desses compostos. Os conhecimentos gerados poderão contribuir para sistemas de produção mais sustentáveis e resilientes, alinhados aos princípios de One Health, promovendo avanços simultâneos em saúde animal, produtividade e sustentabilidade ambiental. Nesse contexto, o projeto apresenta potencial de contribuição

aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável) e 12 (Consumo e Produção Responsáveis).

7. Outros apoios

O projeto anterior financiado pela FAPESP (Processo nº 2022/16262-3) foi fundamental para consolidar a capacidade da equipe em caracterizar fenótipos de resistência e tolerância ao carrapato *R. microplus* em bovinos Canchim. Foram avaliados animais das safras de nascimento de 2023 e 2024, possibilitando a caracterização genética e fenotípica longitudinal, a estimação de parâmetros genéticos e a predição de valores genéticos para resistência e tolerância. Os resultados demonstraram a viabilidade da identificação e seleção de animais extremos para essas características, fornecendo a base metodológica e biológica para a presente proposta de integração multiômica. A safra de nascimento de 2025 será conduzida no âmbito do projeto financiado pelo CNPq – Edital Universal (Processo nº 404819/2025-7), intitulado "Resistência, tolerância e resiliência de bovinos de corte às infestações por ectoparasitas e infecções por hemoparasitas que impactam a produtividade da pecuária brasileira". A complementaridade entre os projetos permitirá a continuidade das avaliações em uma população experimental previamente estabelecida, otimizando recursos e ampliando a base de dados para análises genéticas e seleção dos animais extremos.

A Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP, disponibilizará a infraestrutura experimental, incluindo os animais do sistema extensivo de produção, laboratórios e equipamentos para análises biológicas e moleculares, além da participação de pesquisadores, analistas e bolsistas com experiência em genética, melhoramento animal, biotecnologia, bioinformática e sistemas de produção. A instituição também fornecerá suporte financeiro complementar proveniente do projeto SEG (20.23.08.001.00.00). O Grupo ILMA, em Angatuba, SP, disponibilizará a base experimental do sistema semi-intensivo e o suporte técnico necessário às atividades de campo e acompanhamento dos animais.

As análises laboratoriais, incluindo processamento de amostras biológicas, hemogramas, extração de DNA e RNA, quantificação de hemoparasitas por biologia molecular e preparo das amostras para as análises multiômicas, serão realizadas de forma integrada entre a Embrapa Pecuária Sudeste e o Instituto de Zootecnia (IZ), instituições que dispõem da infraestrutura e dos equipamentos necessários para execução das atividades.

O projeto contará com a colaboração internacional do Dr. Enrique Sánchez-Molano, pesquisador do Roslin Institute da Universidade de Edimburgo, Reino Unido, com

experiência em genética quantitativa, genômica e características complexas em animais de produção. Participará também o Dr. Wellison J. S. Diniz, Assistant Professor em Livestock Genomics do Department of Animal Sciences da Auburn University, Estados Unidos, com experiência em genômica animal, bioinformática e integração de dados ômicos. Essas colaborações contribuirão para a análise e interpretação dos dados genéticos e multiômicos, incluindo estratégias de integração do transcriptoma, dos microbiomas e dos dados de genotipagem, bem como para a identificação de biomarcadores candidatos e redes biológicas associadas à resistência e à tolerância ao parasitismo. Essas parcerias fortalecerão a internacionalização da pesquisa e ampliarão o impacto científico dos resultados.

O projeto também contribuirá para a formação de recursos humanos qualificados, envolvendo alunos de pós-graduação do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia (IZ), Nova Odessa-SP, e do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, campus de Jaboticabal-SP. Os dados gerados subsidiarão dissertações de mestrado e teses de doutorado, contribuindo para a formação de recursos humanos qualificados na área de genética e genômica animal.

8. Cronograma de atividades

O delineamento experimental inclui o acompanhamento longitudinal da safra de nascimento de 2025, com avaliações iniciadas em 2026, antes da vigência da presente proposta (2027–2030). As atividades realizadas em 2026 pertencem ao projeto complementar responsável pela safra de 2025 e são apresentadas apenas para demonstrar a continuidade experimental e a integração entre os projetos. Essa etapa é necessária para a continuidade da caracterização genética e fenotípica da população experimental e para a obtenção dos dados utilizados nos modelos genéticos de resistência, tolerância e desempenho produtivo. Assim, a vigência do Auxílio Regular será dedicada principalmente às análises genéticas, transcriptômicas, metagenômicas e à integração multiômica, reduzindo riscos experimentais e aumentando a viabilidade da proposta. As atividades experimentais estão amparadas por protocolo aprovado pela CEUA, vigente até 2028, cuja prorrogação será solicitada para contemplar todo o período de execução do projeto.

As atividades previstas estão distribuídas no cronograma abaixo:

Atividade	Local de execução	2026*				2027				2028				2029				2030
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1
Caracterização fenotípica																		
Aprovação CEUA e ajustes logísticos	IZ + Embrapa	●	●															
Avaliações fenotípicas – Safra 2025 (4 avaliações trimestrais)	Embrapa + Angatuba	●	●	●	●													
Avaliações fenotípicas – safra 2026 (4 avaliações trimestrais)	Embrapa + Angatuba					●	●	●	●									
Infestação artificial dos grupos extremos	Embrapa + Angatuba				●				●									
Avaliações hematológicas	IZ	●	●	●	●	●	●	●	●	●								
Extração de DNA e qPCR para hemoparasitas	IZ	●	●	●	●	●	●	●	●	●								
Coletas de sangue, fezes e pele no 21º dia pós-infestação artificial dos animais extremos para análises multiômicas	Embrapa + Angatuba				●					●								
Genética Quantitativa																		
Construção do índice de infestação e análises genéticas (normas de reação, EBVR, EBVT e EBVP)	IZ + Embrapa + colaboradores				●					●								
Classificação dos grupos extremos e seleção dos 80 animais	IZ + Embrapa + colaboradores				●					●								
Multiômica																		
Extração de RNA (sangue) e DNA (fezes e pele); controle de qualidade	Embrapa				●						●							
Preparação das bibliotecas e sequenciamento (RNA-seq, 16S rRNA e <i>shotgun</i>)	Embrapa											●	●					
Genotipagem (GGP Bovine 100K)	Embrapa											●	●					
Análises transcriptômicas e metagenômicas (RNA-seq, 16S e <i>shotgun</i>)	IZ + Embrapa + colaboradores											●	●	●				
Integração multiômica e identificação de redes biológicas (DIABLO e MOFA)	IZ + Embrapa + colaboradores													●	●			
Identificação e avaliação preliminar de biomarcadores candidatos	IZ + Embrapa														●	●		
Produtos																		
Redação de manuscritos científicos	IZ + Embrapa														●	●	●	●
Relatório técnico FAPESP parcial e final	IZ					●				●								●
Disseminação dos resultados (workshops e congressos)	IZ + Embrapa															●	●	●

*As atividades previstas para 2026 correspondem ao acompanhamento longitudinal da safra de nascimento de 2025, integrante da população experimental da proposta, e embora estejam apresentadas no cronograma, não fazem parte da vigência do presente Auxílio Regular. A vigência da proposta (2027–2030) será dedicada às análises genéticas, transcriptômicas, metagenômicas e à integração multiômica, utilizando os dados genéticos/fenotípicos e os materiais biológicos obtidos durante o acompanhamento das duas safras.

9. Referências bibliográficas

- Aguilar-Díaz, H.; Quiroz-Castañeda, R. E.; Cobaxin-Cárdenas, M.; Salinas-Estrella, E.; Amaro-Estrada, I. Advances in the study of the tick cattle microbiota and the influence on vectorial capacity. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, art. 710352, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.710352>
- Auffret, M. D.; Stewart, R. D.; Dewhurst, R. J.; Duthie, C.-A.; Rooke, J. A.; Wallace, R. J.; Freeman, T. C.; Snelling, T. J.; Watson, M.; Roehe, R. Identification of microbial genetic capacities and potential mechanisms within the rumen microbiome explaining differences in beef cattle feed efficiency. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, art. 1229, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01229>
- Barros, J.C., Garcia, M.V., Calvano, M.P.C.A., Andreotti, R., 2024. Economic impact of the cattle tick on Brazilian livestock in transformation. *Contemp. J.* 4(1), 3266-3287. <https://doi.org/10.56083/RCV4N1-184>
- Bock, R.; Jackson, L.; de Vos, A.; Jorgensen, W. Babesiosis of cattle. *Parasitology*, v. 129, suppl., p. S247–S269, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182004005190>
- Bonamy, M.; Rossner, M. V.; Munilla, S.; Sarli, M.; Gomez, V.; Kambo, S.; Morel, N.; Giovambattista, G.; Nava, S. A protocol of tick quantification to obtain an indicator of individual resistance to infestation by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brangus cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 255, art. 106957, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2026.106957>
- Contevelle, L.C., Silva, J.V., Andrade, B.G.N., Cardoso, T.F., Bruscadin, J.J., Oliveira, P.S.N., Mourão, G.B., Coutinho, L.L., Palhares, J.C.P., Berndt, A., Medeiros, S.R., Regitano, L.C.A., 2023. Rumen and fecal microbiomes are related to diet and production traits in *Bos indicus* beef cattle. *Front. Microbiol.* 14, 1282851. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1282851>
- Dean, C. J.; Slizovskiy, I. B.; Crone, K. K.; Pfennig, A. X.; Heins, B. J.; Caixeta, L. S.; Noyes, N. R. Investigating the cow skin and teat canal microbiomes of the bovine udder using different sampling and sequencing approaches. *Journal of Dairy Science*, v. 104, n. 1, p. 644–661, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18277>
- Dehuri, M.; Mohanty, B.; Rath, P. K.; Mishra, B. An insight into control strategies against bovine tropical tick (*Rhipicephalus microplus*) in context to acaricide resistance. *Medical and Veterinary Entomology*, p. 1–14, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12808>
- Doeschl-Wilson, A. B.; Bishop, S. C.; Kyriazakis, I.; Villanueva, B. Novel methods for quantifying individual host response to infectious pathogens for genetic analyses. *Frontiers in Genetics*, v. 3, art. 266, 2012a. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00266>
- Doeschl-Wilson, A. B.; Lough, G. Inferring genetic resilience of animals to infectious pathogens – opportunities and pitfalls. In: Hermes, S.; Dominik, S. (Eds.). *Breeding Focus 2014 – Improving Resilience*. Armidale: Animal Genetics and Breeding Unit, University of New England, 2014. p. 19–30. DOI: <https://doi.org/10.13140/2.1.5007.8403>
- Doeschl-Wilson, A. B.; Villanueva, B.; Kyriazakis, I. The first step toward genetic selection for host tolerance to infectious pathogens: obtaining the tolerance phenotype through group estimates. *Frontiers in Genetics*, v. 3, art. 265, 2012b. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00265>
- Doeschl-Wilson, A.; Knap, P. W.; Opriessnig, T.; More, S. J. Review: Livestock disease resilience: from individual to herd level. *Animal*, v. 15, art. 100286, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100286>
- Estrada-Peña, A.; Aosti, I.; Petersen, P.; et al. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens—methodological principles and caveats. *Frontiers in Cellular*

- and *Infection Microbiology*, v. 3, article 29, p. 1–15, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00029>
- Fan, P.; Nelson, C. D.; Driver, J. D.; Elzo, M. A.; Penagaricano, F.; Jeong, K. C. Host genetics exerts lifelong effects upon hindgut microbiota and its association with bovine immunity and metabolism. *ISME Journal*, v. 15, p. 2306–2321, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00925-x>
- Frabetti, A. F.; Katiki, L. M.; Caetano, L.; Sarti, M. B.; Falasca, T. M.; Polli, H.; Veríssimo, C. J.; Vercesi Filho, A. E.; Oliveira, H. N.; Oliveira, M. C. S.; Giglioti, R. Natural levels of *Rhipicephalus microplus* infestation and *Anaplasma marginale* infection in Angus and Ultrablack calves. *Experimental and Applied Acarology*, v. 89, n. 1, p. 131–140, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-022-00770-3>
- Fraga, A. B.; Alencar, M. M.; Figueiredo, L. A.; Razook, A. G.; Cyrillo, J. N. S. G. Avaliação da infestação natural por ectoparasitas em bovinos de corte mantidos em pastagens na região Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 2, p. 59–63, 2003.
- Franzin, A. M.; Maruyama, S. R.; Garcia, G. R.; Oliveira, R. P.; Ribeiro, J. M. C.; Bishop, R.; Maia, A. A. M.; Moré, D. D.; Ferreira, B. R.; Santos, I. K. F. M. Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasites & Vectors*, v. 10, art. 51, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1945-z>
- Giglioti, R.; Bassetto, C. C.; Okino, C. H.; Oliveira, H. N.; Oliveira, M. C. S. Development of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of *Anaplasma marginale*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 77, n. 1, p. 65–72, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0327-y>
- Giglioti, R.; Oliveira, H. N.; Bilhassi, T. B.; Portilho, A. I.; Okino, C. H.; Marcondes, C. R.; Oliveira, M. C. S. Estimates of repeatability and correlations of hemoparasites infection levels for cattle reared in endemic areas for *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary Parasitology*, v. 250, p. 78–84, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.12.010>
- Gray, J. S.; Dietrich, M.; Estrada-Peña, A.; et al. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, v. 2009, Article ID 593232, p. 1–12, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1155/2009/593232>
- Grisi, L.; Leite, R. C.; Martins, J. R. S.; Barros, A. T. M.; Andreotti, R.; Cançado, P. H. D.; Pérez de León, A. A.; Pereira, J. B.; Villela, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- Hermans, P.; Dwinger, R. H.; Buening, G. M.; Herrero, M. V. Seasonal incidence and hemoparasite infection rates of ixodid ticks (Acari: Ixodidae) detached from cattle in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, v. 42, p. 623–632, 1994.
- Holman, D. B.; Gzyl, K. E. A meta-analysis of the bovine gastrointestinal tract microbiota. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 95, n. 6, p. 1–12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz072>
- Jonsson, N. N.; Bock, R. E.; Jorgensen, W. K. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Veterinary Parasitology*, v. 155, n. 1–2, p. 1–9, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.03.022>
- Jonsson, N. N.; Piper, E. K.; Constantinoiu, C. C. Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite Immunology*, v. 36, p. 553–559, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/pim.12140>
- Kocan, K. M.; de la Fuente, J.; Guglielmone, A. A.; Meléndez, R. D. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 16, n. 4, p. 698–712, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.698-712.2003>

- Lew-Tabor, A. E.; Rodriguez Valle, M. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick-borne diseases. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 7, p. 573–585, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12.012>
- Malheiros, J.M., Correia, B.S.B., Ceribeli, C., Bruscadin, J.J., Diniz, W.J.S., Banerjee, P., Vieira, D.S., Cardoso, T.F., Andrade, B.G.N., Petrini, J., Cardoso, D.R., Colnago, L.A., Bogusz Junior, S., Mourão, G.B., Coutinho, L.L., Palhares, J.C.P., Medeiros, S.R., Berndt, A., Regitano, L.C.A., 2023. Ruminal and feces metabolites associated with feed efficiency, water intake and methane emission in Nelore bulls. *Sci. Rep.* 13, 18001. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45330-w>
- Mulder, H. A.; Rashidi, H. Selection on resilience improves disease resistance and tolerance to infections. *Journal of Animal Science*, v. 95, n. 8, p. 3344–3356, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2017.1479>
- Ogden, N. H.; Lindsay, L. R. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. *Trends in Parasitology*, v. 32, n. 8, p. 646–656, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.015>
- Okino, C. H.; Giglioti, R.; Silva, P. C.; Oliveira, H. N.; Oliveira, M. C. S. Comparative evaluation of DNA extraction kit, matrix sample and qPCR assays for bovine babesiosis monitoring. *Molecular Biology Reports*, v. 45, n. 6, p. 2671–2680, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4436-9>
- Piper, E. K.; Jackson, L. A.; Bagnall, N. H.; Kongsuwan, K. K.; Lew, A. E.; Jonsson, N. N. Gene expression in the skin of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 130, n. 3–4, p. 181–193, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.06.011>
- Reck, J.; Marks, F. S.; Rodrigues, R. O.; Souza, U. A.; Webster, A.; Leite, R. C.; Gonzales, J. C.; Klafke, G. M.; Martins, J. R. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? *Preventive Veterinary Medicine*, v. 113, p. 59–62, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.006>
- Rodriguez-Vivas, R. I.; Flota-Burgos, G. J.; Torres-Castro, M.; Sabatini, G. A. Factors influencing the selection of *Rhipicephalus microplus* resistance to acaricides. *Veterinary Parasitology*, v. 343, art. 110719, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2026.110719>
- Rodriguez-Vivas, R. I.; Jonsson, N. N.; Bhushan, C. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research*, v. 117, p. 3–29, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- Rodríguez-Vivas, R. I.; Grisi, L.; Pérez de León, A. A.; Villela, H. S.; Torres-Acosta, J. F. J.; Fragoso Sánchez, H.; Romero Salas, D.; Rosario Cruz, R.; Saldierna, F.; García Carrasco, D. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico: review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, v. 8, n. 1, p. 61–74, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>
- Sabatini, G. A.; Rodriguez-Vivas, R. I.; Cutolo, A. A.; Barros, A. T. M.; Cuore, U. D.; Molento, M. B.; López-Osorio, S.; Rodrigues, D. S.; Spina, M.; Borges, F. A.; Jonsson, N. N.; et al. Recommendations for sustainable control of cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) in Latin America and the Caribbean. *International Journal for Parasitology*, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2026.104869>
- Silva, A. M.; Alencar, M. M.; Regitano, L. C. A.; Oliveira, M. C. S. Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. *Genetics and Molecular Biology*, v. 30, n. 4, p. 1150–1155, 2007.

- Simões, M.R.S.; Campos, G.S.; Gomes, C.C.G.; Milanesi, M.; Garcia, J.F.; Camargo, S.S.; Comin, H.B.; Rossato, A.D.P.; Boligon, A.A.; Cardoso, F.F. Polygenic control of *Rhipicephalus microplus* infestation in purebred and crossbred cattle revealed by GWAS. *Molecular & Biochemical Parasitology*, v. 266, art. 111739, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2026.111739>
- Strydom, T.; Lavan, R. P.; Torres, S.; Pinilla, J.C. The economic impact of endo and ectoparasites in dairy cattle. *Parasite and Vectors*, v. 18, art. 495, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-025-07064-8>
- Tabor, A. E.; Ali, A.; Rehman, G.; Rocha Garcia, G.; Zangirolamo, A. F.; Malardo, T.; Jonsson, N. N. Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: a review of resistant and susceptible host responses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, art. 506, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00506>
- Utech, K. B. W.; Wharton, R. H.; Kerr, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 29, n. 4, p. 885–895, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1071/AR9780885>
- Wang, D.; Yang, H.; Ma, S.; Liu, T.; Yan, M.; Dong, M.; Zhang, M.; Zhang, T.; Zhang, X.; Xu, L.; Huang, X.; Chen, H. Transcriptomic changes and regulatory networks associated with resistance to mastitis in Xinjiang Brown cattle. *Genes*, v. 15, art. 465, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes15040465>
- Wikel, S. K. Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Frontiers in Microbiology*, v. 4, art. 337, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00337>
- Zhao, H.; Tang, X.; Wu, M.; Li, Q.; Yi, X.; Liu, S.; Jiang, J.; Wang, S.; Sun, X. Transcriptome characterization of short distance transport stress in beef cattle blood. *Frontiers in Genetics*, v. 12, art. 616388, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.616388>
- Zhao, X.; Luo, H.; Lu, H.; Ma, L.; Li, Y.; Dou, J.; Zhang, J.; Ma, Y.; Li, J.; Wang, Y. RNA-seq analysis of peripheral whole blood from dairy bulls with high and low antibody-mediated immune responses: a preliminary study. *Animals*, v. 13, art. 2208, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13132208>