

IDENTIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO *in vitro* DE MARCADORES MOLECULARES DE TERMOTOLERÂNCIA EM POPULAÇÕES BUBALINAS DE LEITE (*Bubalus bubalis*) NA AMAZÔNIA

SOUSA, E.C.M.B¹., BRAGA, C.C.B²., SANTOS, C.L.P³., SOUZA, A.E.C⁴., SANTANA, P.P.B⁵., SILVA FILHO, E⁶.

1. Elem Cristina Macêdo Barra de Sousa, bolsista capes (doutorado), Pós-Graduando em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA), UFRA/Belém/ISPA, elem.c.m.b@gmail.com; 2. Carla Cibele Barros Braga; 3. Cintia Luana Pinheiro Santos; 4. Antônio Elivelton Coutinho de Souza; 5. Priscila Di Paula Bessa Santana; Ednaldo da Silva Filho, Instituto de Ciências Agrárias/ICA/Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, tuca13@yahoo.com.

RESUMO:

A espécie *Bubalus bubalis* é conhecida mundialmente por serem animais que se adaptam bem ao clima quente e úmido presente nos países tropicais e subtropicais. Entretanto, isso não quer dizer que estes animais não sofram com o aumento da temperatura ambiental, nos últimos anos o aquecimento global tem provocado percas diretas e indiretas na pecuária, haja vista que animais submetidos a fortes ondas de calor tendem a diminuir sua produção de leite, além das alterações causadas na composição do leite, diminuição da reprodução e no sistema imunológico. Por conta disto, há alguns anos vem se procurando medidas que possam amenizar os danos que o estresse térmico pode causar a pecuária, uma das soluções encontradas é a seleção de animais mais termotolerantes por meio de biologia molecular. Objetivou-se investigar novos marcadores moleculares de termotolerância em búfalas leiteiras. Para identificação dos possíveis polimorfismos de termotolerância foi realizada a coleta de sangue de 104 búfalas leiteiras da raça Murrah, após a extração do DNA foi realizado a reação em cadeia pela polimerase para amplificação da região promotora do gene da proteína de choque térmico 70 com posterior sequenciamento das amostras para identificação dos sítios polimórficos. Em seguida realizou-se a coleta de tecido da região dorsal da cauda de 10 búfalas, sendo 5 caracterizadas como homozigóticas e 5 heterozigóticas; os tecidos foram então tratados e cultivados em meio de cultivo HAM's e DMEM acrescido de 10% de soro fetal bovino e incubados em estufa à 38,5° C com saturação de 5% de CO₂, as células foram cultivadas até a primeira passagem e então procedeu-se o teste de resistência ao calor, sendo que o grupo controle manteve-se em 38,5° C e o grupo teste em 42° C durante 6 horas; com a finalização do teste as amostras passaram pelo teste da viabilidade celular, em seguida foi retirada uma alíquota das células que foi submetida a extração de RNA com posterior análise de expressão gênica. O resultado do sequenciamento demonstrou a presença de 15 sítios polimórficos na região promotora do gene, além disso, houve a inserção de uma base (G) na posição 128 em 3 animais e uma deleção (G) na posição 650 em 1 animal, com relação a expressão gênica 1 animal heterozigoto do grupo teste não expressou o gene IFN- γ . Estes achados demonstram que o aparecimento de um polimorfismo de nucleotídeo único na região promotora do gene pode influenciar sua atividade, impedindo a ligação do fator de transcrição com a sequência de reconhecimento, que pode gerar alteração na expressão do gene. Além disso, observou-se que animais submetidos a estresse térmico têm menor nível de expressão de INF- γ , deixando-os mais susceptíveis a ação de patógenos.

PALAVRAS-CHAVE: *Bubalus bubalis*; Termotolerância; Polimorfismo.