

CARACTERIZACIÓN DEL *LOCUS* BOLA-DRB3 EN GANADO CRIOLLO COLOMBIANO Y ASOCIACIÓN CON RESISTENCIA A ENFERMEDADES

CHARACTERIZATION OF BOLA-DRB3 LOCUS IN COLOMBIAN CREOLE CATTLE AND ASSOCIATION WITH DISEASE RESISTANCE

Martínez, R.¹, R. Toro¹, F. Montoya¹, M. Burbano², J. Tobón², J. Gallego² y F. Ariza¹

¹Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal. Centro de Investigación CEISA. Avenida el Dorado N° 42-42. Bogotá. Colombia D.C. Phone: 3686253. Fax ext. 1705. E-mail: rodrigomartinez19@yahoo.com

²Grupo Regional Pecuario. Regional 4. C.I. El Nus. San Roque. Antioquía. Phone: 0948556213. Fax: 0948556212. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Corpoica Colombia.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Ganado Criollo Colombiano. Resistencia a enfermedades. Parásitos.

ADDITIONAL KEYWORDS

Colombian Creole cattle. Resistance to disease. Parasites.

RESUMEN

En este trabajo se genotipificaron bovinos de las razas BON (n= 140) y Cebú Brahman (n= 22) para alelos ubicados en el segundo exón del gen del complejo mayor de histocompatibilidad DRB3 (BoLA-DRB3), usando un marcador tipo PCR-RFLP. Los fenotipos de resistencia fueron determinados mediante pruebas *in vitro* de infección controlada de macrófagos con *Brucella abortus*. Por otro lado, un grupo de estos animales (n=80) fueron evaluados cada 45 días por un período de un año, para niveles de infestación de ectoparásitos (miasis ocasionada por *Dermatobia hominis* y garrapata *Boophilus microplus*), y valores hematocrito. Se encontró un efecto significativo de la raza para las variables NBT 0, SOB24, y el genotipo para las variables NBT 0 e infestación por *Dermatobia hominis* ($p < 0,05$). Se encontraron asociaciones significativas entre bajos niveles de infestación por *Dermatobia hominis* con los alelos DRB3*2701 y DRB3*2801 ($p < 0,05$). Por otra parte, el alelo DRB3*0601 presentó asociación

significativa con bajos valores de NBT 0, lo que indicaría una baja eficiencia fagocítica de los macrófagos de animales que poseen estos genotipos. Estos resultados dan idea de otras posibles interacciones que puedan existir en el control de la resistencia a enfermedades en bovinos.

SUMMARY

The present work it was genotyped the histocompatibility major complex (BoLA DRB3) alleles from the second exon gene within two population of the Colombian Creole cattle BON (n= 140) (Black and White ear) and Zebu Brahman (n= 22) using a PCR RFLP marker. Resistance phenotypes were evaluated by controlled infection of macrophages with *Brucella abortus*. Also, a group of this animals (n=80) were evaluated during one year (45 days within

Arch. Zootec. 54: 349-356. 2005.

samples) for infestation levels to ecto-parasites (myiasis by *Dematobia hominis* and tick *Boophilus microplus*), and hematocrite values. It was found a significative effect of breed for NBT 0 (Bacterial numbers at time 0), SOB24 (Survival to 24 hours) and the genotype for NBT 0 and infestation by *Dematobia hominis* ($p < 0.05$). There were found significative associations between low level of *Dematobia hominis* infestations and alleles DRB3*2701 y DRB3*2801 ($p < 0.05$). Finally, the allele DRB3*0601 showed significative association with low values of NBT 0, This indicate a low phagocytic efficiency of the animal macrophages and this genotypes. This results shows insights about possible interactions in the control of resistance in bovine diseases.

INTRODUCCIÓN

El primer reporte sobre asociación de CMH-enfermedad en ganado bovino lo hizo Solbu *et al.* (1982) (citado por Philomeen 1994), quién analizó el efecto del BoLA clase I sobre la incidencia de mastitis, lo que más tarde fue confirmado por Larsen (1985) y Solbu (1989) (citados por Philomeen 1994); igualmente se ha asociado con enfermedades como leucemia bovina enzoótica (Lewin 1988, Udina *et al.*, 2002) o el nivel de infestación de parásitos y garrapatas (Stear *et al.*, 1989), pero la mayoría han asociado sus efectos con polimorfismos de la región clase I y algunos estudios han mostrado también asociación con polimorfismos de la región clase II (Dietz *et al.*, 1997, Sharif *et al.*, 1998).

En cuanto a la resistencia natural a la infestación por ectoparásitos, particularmente la resistencia a la garrapata ha sido un carácter objeto de estudio por muchos años, algunos trabajos han involucrado estudios de infestación, con

diferentes especies de garrapatas (Stear *et al.*, 1989; Rechav y Kos-trzewski, 1991; Ali y de Castro, 1993). Generalmente los experimentos utilizan desafíos naturales y artificiales, midiéndose la resistencia sobre la base de una estimación visual de la carga de parásitos, la mayoría de éstos llevados a cabo por conteo de garrapatas, por los efectos de la carga parasitaria sobre el animal (de Castro *et al.*, 1991) y por la respuesta inmune (Rechav *et al.*, 1990). Son pocos los trabajos que describen la relación de los niveles de infestación con variantes alélicas de genes del sistema inmune. Stear *et al.* (1989) encontraron asociaciones débiles entre la resistencia o susceptibilidad a *Boophilus microplus* con alelos reportados dentro del complejo mayor de histocompatibilidad clase I en ganado. Uno de los aspectos más comunes en resistencia a ectoparásitos, específicamente a niveles de carga parasitaria en bovinos, ha sido la alta susceptibilidad del *Bos taurus*, comparados con el *Bos indicus* (Dicker y Sutherst 1981, Barnard 1990, Rechav *et al.*, 1990, Lotif *et al.*, 1991) Sin embargo la raza africana N'Dama (*Bos taurus*) ha mostrado altos niveles de resistencia cuando se compararon con razas de origen *B. indicus* y *B. taurus* (Mattioli *et al.*, 1993; Marrow *et al.*, 1996; Kerr *et al.*, 1994).

El presente trabajo tuvo por objeto caracterizar en dos poblaciones el segundo exón del gen del complejo mayor de histocompatibilidad DRB3 (BoLA-DRB3) y hacer un estudio exploratorio de su potencial asociación con fenotipos relacionados con resistencia a brucelosis y niveles de infestación de parásitos (miasis produci-

CARACTERIZACIÓN DE BOLA DRB3

da por *Dermatobia hominis* e infestación de garrapata *Boophilus microplus*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras de sangre y suero fueron obtenidas del banco de germoplasma de bovinos criollos de la raza criolla Blanco Orejinegro (BON), localizado en el Centro de Investigaciones El Nus, ubicado en el municipio de San Roque Antioquía, a 1200 m.s.n.m. Los ensayos de laboratorio se desarrollaron en el Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal de CORPOICA, ubicado en el Centro de Investigación CEISA (Bogotá Colombia). En el Centro de Investigación El Nus, se tomaron 162 muestras de sangre en bolsas de 250 ml, e igualmente en tubos con anticoagulante (EDTA) para extraer sus respectivos sueros, las cuales fueron refrigeradas y transportadas en un período de 8 horas hasta el Centro de Investigaciones Corpoica Ceisa.

Cinco ml de sangre periférica fueron tomados con el fin de separar los leucocitos, de los cuales se conservó congelada una alícuota y a partir de ellos se extrajo y purificó el ADN genómico siguiendo los protocolos generales descritos por Sambrook *et al.* (1989).

CARACTERIZACIÓN DEL GEN BOLA-DRB3.2

La amplificación del segundo exón del gen BoLA DRB-3, se obtiene por un protocolo de PCR de dos pasos (Anidado) (Van Eijk *et al.*, 1992). Los oligonucleótidos: HLO30 (5' ATCCTC

TCTCTGCAGCACATTTCC3'), HL031 (5' TTAAATTCGCGCTCACC TCGCCGCT-3'), HL032 (5'-TCGC CGCTCAGTGAAACTCTC-3') son usados en la reacción de PCR. En el primer estado de amplificación se utilizaron los oligonucleótidos iniciadores HL030 y HL031, en 25 µl de mezcla total de reacción, según protocolo descrito por Dietz *et al.* (1997). Terminado este proceso de amplificación, se tomaron 4 µl de la primera reacción para realizar la segunda reacción de amplificación en un volumen total de 50 µl según el mismo protocolo.

Los fragmentos de DNA amplificados en la segunda reacción fueron utilizados como sustrato para la digestión con endonucleasas de restricción RsaI (Promega San Diego, USA), BstYI (New England BioLabs) y HaeIII (Gibco BRL Maryland USA), para lo cual se empleó el protocolo descrito por Dietz *et al.* (1997).

Para verificar el proceso de digestión las muestras fueron separadas por electroforesis en PAGE y teñido con nitrato de plata (JT Baker), siguiendo la metodología descrita por Wallace (1997).

PREPARACIONES CELULARES

Para los protocolos de infección de macrófagos se siguió la metodología descrita por Templeton *et al.* (1990).

El índice de resistencia se calculó como la raíz cuadrada del porcentaje de la proporción de unidades formadoras de colonia leídas a 24 horas frente a las leídas a cero horas ($\sqrt{(NBT24/NBT0) \times 100}$), e igualmente para las leídas a 48 horas, y NBT0 se tomó como una medida de eficiencia fagocítica.

EVALUACIÓN DEL NIVEL DE INFESTACIÓN DE PARÁSITOS

Para la determinación de los niveles de infestación de parásitos, se realizaron observaciones en 80 animales de la raza BON (n =60) y Cebú Brahman (n =20), cada 45 días durante un año. Como una evaluación de anemia relacionada con el nivel de infestación de parásitos hematófagos, se utilizó el hematocrito (volumen de células empacadas VCE), para lo cual se tomaron muestras de sangre con anticoagulante (EDTA); con éstas se llenaron las 3/4 partes de un tubo capilar y se centrifugó a 11000 r.p.m. por cinco minutos (Ferreira y Valencia, 1976). El valor de VCE se dio en porcentaje a partir de la lectura en tabla estándar de hematocrito.

Para determinar el grado de infestación por garrapatas, se utilizó la metodología descrita por Warton y Utech (citado por Betancourt, 1996), contando las garrapatas (*Boophilus microplus*) encontradas al inspeccionar en el lado izquierdo del animal. Para el caso de la evaluación del grado de infestación por nuca, se realizó teniendo en cuenta el ciclo de vida de las larvas de *Dermatobia hominis* (nuca), y el conteo se hizo en todo el cuerpo del animal y solamente se contaron las lesiones visibles en la piel, consistentes en nódulos cutáneos (Cassalet, 1996).

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se utilizó el procedimiento Proc Freq del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1989) con la opción de análisis de χ^2 para la determinación de las frecuencias alélicas y las diferencias estadísticas entre las razas Cebú Brahman y BON. La información fue

Tabla I. Frecuencias alélicas del gen BoLA DRB3.2, en poblaciones de la raza criolla Blanco Orejinegro y Cebú Brahman. (Allelic frequencies of the BoLA DRB3.2 gene in populations of Blanco Orejinegro and Zebu breeds).

Alelo	Patrón	Orden	Frecuencia		
			BON	Cebú	Total
DRB3*0901	GEA	11	0,146	0,117	0,115
DRB3*3001	LAB	34	0,109	0,058	0,086
DRB3*0501	AAA	1	0,101	0	0,075
DRB3*1701	HAA	12	0,078	0	0,057
DRB3*2202	DAA	6	0,039	0	0,024
DRB3*0301	FDA	9	0,039	0,058	0,034
DRB3*1801	LBF	18	0,039	0,176	0,086
DRB3*1901	ABA	41	0,031	0	0,024
DRB3*20011	IBA	15	0,031	0	0,024
DRB3*1501	JBD	16	0,031	0	0,024
DRB3*1703	WAA	47	0,031	0	0,024
DRB3*2301	LBB	20	0,031	0,058	0,034
DRB3*2201	ECC	7	0,023	0	0,017
DRB3*1201	FAA	8	0,023	0	0,017
DRB3*0401	HBA	13	0,023	0	0,017
DRB3*1601	SBB	19	0,023	0	0,017
DRB3*3501	VBA	46	0,023	0	0,017
DRB3*25011	KBI	44	0,023	0,058	0,029
DRB3*0801	LBE	21	0,023	0,058	0,029
DRB3*1101	MBA	22	0,015	0	0,011
No secuencia	OAA	25	0,015	0	0,011
DRB3*3901	WBA	48	0,015	0	0,011
DRB3*0101	NBB	24	0,015	0,058	0,023
DRB3*0601	OAB	26	0,015	0,058	0,023
No secuencia	CAA	4	0,007	0	0,006
No secuencia	KBB	17	0,007	0	0,006
	OBA	37	0,007	0	0,006
DRB3*14011	OBF	27	0,007	0	0,006
	UBA	40	0,007	0	0,006
DRB3*2801	IBF	31	0,007	0,058	0,017
DRB3*2701	NBA	23	0,007	0,176	0,029

analizada utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1989). Las características evaluadas para tolerancia a

CARACTERIZACIÓN DE BOLA DRB3

ectoparásitos fueron: el nivel de infestación por garrapatas (*Boophilus microplus*) (n= 640) y por larva de *Dermatobia hominis* (nuche) (n= 640), y, como indicador de carga de parásitos hematófagos, el valor de hematocrito (n= 640). Como índices de resistencia a brucelosis se evaluó el número de bacterias (*Brucella abortus*) contadas a las cero horas pos infección, NBT0 (n= 162), y la sobrevivencia a 24 (SOB 24; n= 162) y a 48 horas (SOB 48; n= 162). El modelo utilizado corresponde a:

$$Y_{ijk} = U + R_i + S_j + A_i + G_k + E_{ij}$$

Donde: Y_{ijk} = variable dependiente; U= promedio general; R_i = efecto racial; S_j = efecto del sexo; A_i = efecto del año de nacimiento; G_k = efecto del genotipo del BoLA, E_{ij} = error experimental. Todas las características fueron transformadas por el logaritmo natural de su valor, con el fin de obtener una distribución normal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se utilizó la metodología descrita por Lewin (1994), Van Eijk (1992), Gelhaus *et al.* (1995), Maillard *et al.* (1996) y Gilliespie *et al.* (1999), para la fenotipificación de individuos de las razas bovinas Blanco Orejinegro y Cebú Brahman (**tabla I**). Se encontraron en las poblaciones evaluadas el 64 p.100 de los alelos reportados en la literatura, siendo el más común en términos generales el alelo DRB3*0901 (frecuencia= 0,115), tanto en la raza BON como también, con una de las más altas frecuencias, en la raza Cebú Brahman; este alelo se ha reportado con muy baja frecuencia en poblacio-

nes de Jersey y ausente en poblaciones de Holstein (Sharif *et al.*, 1998, Dietz *et al.*, 1997). Específicamente para la raza Cebú Brahman, los alelos que presentaron la más alta frecuencia fueron DRB3*1801 y DRB3*2701, que también han presentado muy baja frecuencia en reportes realizados por los mismos autores.

Las variables de carga parasitaria, efecto del genotipo y año de nacimiento tuvieron efecto significativo, a diferencia de la raza, para la infestación por larvas de *Dermatobia hominis* ($p= 0,05$); la variable sexo solamente presentó efectos significativos para las características relacionadas con resistencia a brucelosis (SOB240 y SOB480).

En cuanto al efecto de la raza, se encontraron menores valores de infestación por garrapata para la raza Cebú Brahman ($0,12 \pm 0,06$) con diferencias significativas ($p < 0,05$), de la raza BON ($0,55 \pm 1,33$); pero no existieron diferencias significativas para los niveles de infestación por nuche (Cebú Brahman con $0,90 \pm 0,15$ y BON con $1,03 \pm 0,17$, $p > 0,05$), ni para los niveles de hematocrito, donde se encontraron los valores más altos para la raza BON ($5,64 \pm 0,19$) comparado con la raza Cebú Brahman ($5,49 \pm 0,27$); estos valores son inferiores a los reportados en la literatura, donde se considera un valor fisiológico normal cercano al 40 p.100 (Duke, 1985) que corresponde en este caso a 6,3, por ser un valor transformado (**tabla II**). Los niveles de hematocrito se han tomado como un indicador del efecto de la carga de endoparásitos hematófagos sobre los niveles de hemoglobina, como fue reportado por Gasbarre *et al.* (2002),

Tabla II. Efecto de la raza sobre el grado de infestación por ectoparásitos, niveles de hematocrito y las variables relacionadas con resistencia a brucelosis. (Breed effect over the external parasites infestation, hematocrite levels and traits related to brucellosis resistance).

Raza	Hematocrito	Garrapata	Nuche	NBT 0	SOB 24	SOB 48
BON	5,64±0,19 ^a	0,55±0,16 ^a	1,03±0,17 ^a	251,3±21,23 ^a	17,8±1,51 ^a	17,7±1,66 ^a
Cebú	5,49±0,27 ^a	0,12±0,06 ^b	0,90±0,15 ^a	601,2±118,9 ^b	39,6±12,45 ^b	46,5±14,12 ^b

^{a,b}p<0,05; Todos los valores han sido transformados por raíz cuadrada, Promedio ± Error estándar.

quienes reportan que los mejores indicadores de los niveles de infestación de endoparásitos (*Ostertagia ostertagi* y *Cooperia oncophora*) son los niveles de pepsinógeno en el suero ($r= 0,7$), el hematocrito ($r= 0,5$) y la ganancia de peso ($r= -0,5$). En este trabajo, no se presentaron diferencias estadísticas significativas para los niveles de hematocrito, pero en la raza BON, a pesar de tener valores más altos de infestación de garrapata, presentaron mayores valores de hematocrito que la raza Cebú Brahman.

En análisis de modelos mixtos mostró que la raza tiene un efecto significativo para las variables NBT 0, SOB 24, y el genotipo para las variables NBT 0 e infestación por nuche ($p<0,05$). Se encontraron asociaciones significativas entre bajos niveles de infestación por nuche con los alelos DRB3*2701 y DRB3*2801 ($p<0,05$), y de altos niveles con los alelos DRB3*0601 y DRB3*3501, pero sin significación estadística ($p>0,05$). Por otra parte, el alelo DRB3*0601 presentó asociación significativa con bajos valores de NBT 0, lo que puede indicar una baja capacidad fagocítica de los macrófagos de animales que poseen estos genotipos; por el contrario, se observó una asociación significativa del alelo DRB3*3501

($p<0,05$) con altos niveles de fagocitosis (**tabla III**).

Por otro lado, se encontró que el alelo DRB3*2301 presenta una asociación no significativa con niveles altos de infestación de garrapatas ($0,64±0,5$) y contrario a esto, el alelo DRB3*0801 con bajos niveles de la misma ($-0,39±0,53$). Igualmente, el mismo alelo DRB3*2301 está relacionado con bajos niveles de hematocrito ($-0,0604±0,03$) y el alelo DRB3*1501 se encuentra asociado con niveles superiores de hematocrito ($0,079±0,05$), pero sin significancia estadística ($p>0,05$).

Es de resaltar que el alelo DRB3*1501 fue encontrado en la raza BON con una frecuencia de 0,0313 y estuvo ausente en la raza Cebú Brahman, y el alelo DRB3*2301 se presentó en ambas razas pero con mayor frecuencia en la raza Cebú Brahman (0,0588), que en la raza BON (0,0313), pero sin diferencias significativas ($p>0,05$).

En este trabajo se encontró alta variabilidad para el locus BoLA DRB3.2 en la raza criolla BON y se diferencia con la raza Cebú. A pesar del relativo bajo número de individuos evaluados se muestra evidencia preliminar de asociación de algunas variantes del gen y la resistencia al efecto de ectoparásitos, resultados que pueden

CARACTERIZACIÓN DE BOLA DRB3

Tabla III. Parámetros estimados para cada una de las variables en las cuales se encontraron asociaciones significativas con alelos del BoLA-DRB3.2. (Parameters estimated for each traits in which was found significative association with BoLA-DRB3.2 alleles).

Alelo	Nº	SOB24	SOB48	NBTO0	Hematocrito	Garrapata	Nuche
DRB3*0101	24	-5,19±0,5	-2,38±0,1	50,2±33,6			
DRB3*2701	23						-0,17±0,033**
DRB3*3501	46			71,37±31,8**			0,505±0,41
DRB3*0601	26			-68,6±33,6**			0,49±0,46
DRB3*2801	31						-0,79±0,39**
DRB3*0801	21	5,60±0,41			-0,39±0,53		
DRB3*2301	20				-0,0604±0,03	0,64±0,5	
DRB3*1501	16				0,079±0,05		

**Indica asociación significativa del alelo con el carácter $p < 0,05$. Los valores de la tabla corresponden a la estimación del parámetro \pm error estándar.

ser utilizados para planear futuros estudios que permitan seleccionar individuos o poblaciones con mejor toleran-

cia y menor efecto de estas afecciones sobre el comportamiento productivo de los animales.

BIBLIOGRAFÍA

- Ali, M. and J. de Castro. 1993. Host resistance to ticks (Acari: Ixodidae) in different breeds of cattle to Bako Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 25: 215-222.
- Barnard, D. 1990. Population growth rates for *Amblyoma americanum* (Acari: Ixodidae) on *Bos indicus*, *Bos taurus* and *B. Indicus* x *B. taurus* cattle. *Exp. and Applied Acarology*, 9: 259-265.
- Betancourt, E.A. 1996. Metodología para estudios sobre bioecología de garrapatas. Primer curso nacional sobre metodología de investigación en parasitología bovina. Corpoica, C.I. Palmira. Mayo pag. 56-57.
- Cassalet, E. 1996. Metodología para estudios de control de moscas. Primer curso nacional sobre metodologías de investigación en parasitología bovina. Corpoica, C.I. Palmira. Mayo Pag. 71-72.
- Castro, J. de, P. Lopstick, S. Nokoe, H. Kiara, F. Rinkanya, R. Slade, O. Okello and L. Bennum. 1991. Towards the selection of the cattle for tick resistance in Africa. *Exp. and App. Acarology*, 12: 219-227.
- Dicker, R. and R. Sutherst. 1981. Control of the bush tick *Haemophysalis longicornis* with Zebu x European cattle. *Aust. Vet. Journal*. 57: 66-68.
- Dietz, B.A., N.D. Cohen, L. Timms and E.M. Kehrli. 1997. Bovine lymphocyte antigen class II alleles as risk factors for high somatic cell counts in milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Science*, 80: 406-412.
- Ferreira, C. de la y V.E. Valencia. 1976. Laboratorio clínico de prácticas de orina y hematología veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Antioquia. Medellín pag. 33-34.
- Gelhaus, A., L. Schnittger, D. Mehlitz, R. Horstman and C. Meyer. 1995. Sequence and PCR-

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 355.

MARTINEZ, TORO, MONTOYA, BURBANO, TOBÓN, GALLEGO Y ARIZA

- RFLP analysis of 14 novel BoLA DRB3 alleles. *Anim. Genet.*, 26: 147-153.
- Gilliespie, B., B. Jayarao, H. Dowlen and S. Oliver. 1999. Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Jersey cows. *J. Dairy Science*, 82: 2049-2053
- Kerr, R., J. Frish, B. Kinghorn, C. Smith, J. Gawra, B. Benkel, J. Chesnais, W. Fairfull, J. Gibson, B. Kenedy and E. Burnside. 1994. Evidence for a major gene for tick resistance in cattle. Proceedings of 5th world congress University of Guelph, Guelph Ontario, Canadá 20: 7-12.
- Lewin, H.A. 1988. Disease resistance and immune response genes in cattle: strategies for their detection evidence of their existence. *Journal of Dairy Science*, 72: 1334-1348.
- Lewin, H.A. 1994. Host genetic mechanism of resistance and susceptibility to a bovine retroviral infection. *Anim Biotechnol.*, 5: 183.
- Lutif, A., S. Nokoe, D. Punyua and P. Capstick. 1991. Tick infestations on Zebu cattle in western Kenya: Quantitative assessment of host resistance. *Journal of medical entomology*, 28: 122-126.
- Maillard, J.C, D. Martinez and A. Bensaid. 1996. An amino acid sequence coded by the exon 2 of the BoLA DRB3 gene associated with a BoLA class I specificity constitutes a likely genetic marker of resistance to dermatophilosis in Brahman zebu cattle of Martinique (FWI). *Ann. NY Acad. Sci.*, 23;791:185-97
- Marrow, A., E. Koney and I. Heron. 1996. Control of *Amblyomma variegatum* and dermatophilosis on local and exotic breeds of cattle in Ghana. *Tropical Animal Health and Production*, 28: 44s-49s.
- Mattioli, R., M. Buh, J. Faye, S. Kora and M. Cassama. 1993. A comparison on field tick infestation on N'Dama, Zebu and N'Dama x Zebu crossbred cattle. *Veterinary Parasitology*, 47: 139-148.
- Philomeen, R.N. 1994. The bovine class II major histocompatibility complex: serological definition and further characterization of class II haplotypes, Thesis Wageningen, 1994.
- Rechav, Y. and M. Kostrzewski. 1991. Relative resistance of six cattle breeds to thick *Boophilus decoloratus* in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 58: 181-186.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. P 917.
- Sharif, S., B.A. Mallard, B.N. Wilkie, J.M. Sargeant, H.M. Scott, J.C. Deckers and K.E. Leslie. 1998. Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Anim. Genet.*, 29: 185-193.
- Stear, M., B. Mallard, M. Newman and B. Wilkie. 1989. The current status of major histocompatibility system definition in cattle, goats, horses, pigs and sheep. *International Journal of Animal Science*, 4: 32-44.
- Stear, M.J., and D. Wakeli. 1998. Genetic resistance to parasitic infection. *Rev. Sci. Tech.*, 17: 143-153.
- Templeton, J. and G. Adams. 1990. Natural resistance to bovine brucellosis. Advances in brucellosis. Texas Agricultural Experiment. Texas A y M University Press, College Station, Chapter, 10: 144.
- Udina, I., E. Karamysheva, S. Turkova, A. Orlova and G. Sulimova. 2002. Resistance and susceptibility to persistent lymphocytosis in Russian cattle breeds by distribution of BoLA DRB3 alleles. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Aug 19 -23, 2002, Montpellier, France.
- Van Eijk, M.J.T., J.A. Stewart-Haynes and H.A. Lewin. 1992. Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Animal Genetics*, 23: 482-496.
- Wallace, A.J. 1997. Combined single strand coformational polymorphism and heteroduplex analysis. In: Laboratory methods for the detection of mutations and polymorphisms in DNA. CRC press, New York USA, pp. 87-88.

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 356.

