

## ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM BOVINOS DO TIPO TROPICAL LEITEIRO E ECÓTIPO MANTIQUEIRA<sup>(1)</sup>

RITA MARIA LADEIRA PIRES<sup>(2)</sup>, JOSÉ VICTOR OLIVEIRA<sup>(2)</sup>, TEREZINHA APARECIDA MARTINS GOMES DE CASTRO<sup>(2)</sup>, WANDER RAMOS RIBEIRO<sup>(3)</sup> e FERNANDO LIMA PIRES<sup>(4)</sup>

**RESUMO:** Foram realizadas análises citogenéticas em amostras de dois plantéis de bovinos oriundos de cruzamentos para formação do tipo Tropical Leiteiro e do ecótipo Mantiqueira. No Tropical Leiteiro, os exames citogenéticos de 33 reprodutores e duas fêmeas evidenciaram que 28 machos apresentaram o cromossomo Y submetacêntrico e, em 5 machos, o referido cromossomo era acrocêntrico. Em uma das fêmeas foi detectado quimerismo 60,XX/60,XY. No ecótipo Mantiqueira, as análises de amostras dos 69 machos estudados revelaram apenas cromossomo Y submetacêntrico, enquanto todas as 10 fêmeas apresentaram cariótipos normais.

**Termos para indexação:** bovino, citogenética, quimerismo, cromossomo Y.

### *Cytogenetic studies in cattle of the tropical and mantiqueira crossbreeds*

**SUMMARY:** Cytogenetic studies were performed in 114 bovines Tropical and Mantiqueira breeds. In 33 bulls of the Tropical crossbreed, the cytogenetic analysis showed two types of Y chromosome. The submetacentric chromosome was present in 28 animals, and the acrocentric one was present in 5 ones. In samples from 69 bulls of Mantiqueira there was only submetacentric chromosome. In one of the two (Tropical crossbreed) females studied it was observed quimerism 60,XX/60,XY.

**Index terms:** cattle, cytogenetics, quimerism, chromosome Y.

### INTRODUÇÃO

Com o objetivo de obter raças leiteiras adaptadas ao ambiente tropical, pesquisadores e criadores vêm utilizando cruzamentos entre *Bos taurus* e *Bos indicus*, tendo como meta a fixação do grau de sangue em 5/8

européu e 3/8 zebu. Resultados importantes foram obtidos com a formação da raça Pitangueiras para leite e as raças Canchim e Ibagé para corte.

Com respeito aos estudos de cariótipo, várias pesquisas foram realizadas, evidenciando diferença

- (1) Projeto IZ 14-005/79. Recebido para publicação em dezembro de 1994.
- (2) Seção de Reprodução e Inseminação Artificial, Divisão de Técnica Básica e Auxiliar.
- (3) Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba, Instituto de Zootecnia
- (4) Seção de Melhoramento de Gado Leiteiro, Divisão de Zootecnia de Bovinos Leiteiros.

apenas no cromossomo Y, que nas raças de origem européia tem sido descrito como submetacêntrico e, nas de origem indiana, como acrocêntrico, sendo que as primeiras observações dessa diferença morfológica foram citadas por KIEFFER & CARTWRIGHT (1968) e WURSTER & BENIRCSHKE (1968).

Utilizando-se da técnica de banda G, em cromossomos de touros da raça Ibagé, MORAES (1978) obteve resultados conclusivos sobre a possível origem das duas formas do cromossomo Y, através de inversão pericêntrica, o que já era proposto por outros pesquisadores.

Vários autores como: KIEFFER & CARTWRIGHT (1968); JORGE (1974); HALNAN & FRANCIS (1976); TAMBASCO (1976); BENJAMIN & BHAT (1977); ELDRIDGE & BLAZAK (1977) e PINHEIRO (1979) observaram, através de estudos citogenéticos, que produtos de cruzamentos de raças européias com indianas apresentavam resultados conforme o esperado, isto é, em machos, cujo progenitor era europeu, o cromossomo Y mostrava-se submetacêntrico, e quando o pai era indiano, o cromossomo Y era acrocêntrico.

Os estudos citogenéticos realizados por TAMBASCO (1976) e PINHEIRO (1979), nas raças Canchim e Pitangueiras, respectivamente, revelaram somente cromossomo Y submetacêntrico.

Por outro lado MORAES (1978) observou polimorfismo do cromossomo Y na raça Ibagé, resultado esse semelhante ao obtido por PINHEIRO et al. (1979).

MORAES (1978), analisando animais da raça Santa Gertrudis, que é resultado do cruzamento de *Bos taurus* e *Bos indicus*, observou apenas Y acrocêntrico. Resultado semelhante tinha sido observado por KIEFFER & CARTWRIGHT (1968), na mesma raça.

Posteriormente, PINHEIRO et al. (1984) detectaram, na raça Caracu, a presença de polimorfismo do cromossomo Y, havendo maior predominância para o tipo acrocêntrico. Deve-se ressaltar que resultados semelhantes foram observados em exames de rotina realizados no laboratório de citogenética do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa/SP.

Recentemente, YU (1993) observou que as raças do norte da China apresentam o cromossomo Y submetacêntrico, enquanto que, nas raças do sul ele é acrocêntrico e, as do centro apresentam polimorfismo, possivelmente, como resultado do cruzamento de raças tipo européias com zebuínas.

Finalmente, cabe mencionar a síndrome "freemartin" que, segundo CHAPMAN et al. (1978), ocorre frequentemente em bovinos, na qual, cerca de 90% das fêmeas nascidas de partos gêmeos heterossexuais apresentam o quimerismo 60,XX/60,XY. WILKES et al. (1980), estudando novilhas "freemartins", observaram vários graus de masculinização em suas genitais internas. VAINAS et al (1993), comparando análise cromossômica com outros métodos, concluíram que a eficiência é a mesma, porém, a análise cromossômica é mais econômica e mais prática, para exame de rotina, no diagnóstico da síndrome de "freemartin" em bovinos.

O objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de alterações cromossômicas e polimorfismo no cromossomo Y dos grupos genéticos Tropical Leiteiro e Mantiqueira, selecionados pelo Instituto de Zootecnia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Caracterização dos Bovinos

O gado Tropical Leiteiro originou-se de cruzamento orientado, utilizando-se as raças Holandesa e Jersey, como raças leiteiras especializadas, e as raças Gir e Sindi como animais bem adaptados ao ambiente tropical. Obtendo-se um tipo com 5/8 de sangue europeu e 3/8 de sangue zebú. Foram realizados exames citogenéticos em 33 machos e duas fêmeas do tipo Tropical Leiteiro pertencentes à Estação Experimental de Zootecnia de Colina, do Instituto de Zootecnia.

O gado Mantiqueira é um ecótipo formado pelos criadores da região da Serra Mantiqueira, nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, conforme relata GUARAGNA et al (1988).

Foram realizados exames citogenéticos de 69 machos e 10 fêmeas do ecótipo Mantiqueira pertencentes à Estação Central de Nova Odessa e Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba, do Instituto de Zootecnia.

### Análises Citogenéticas

As amostras de sangue foram coletadas, em tubos esterilizados, contendo heparina e enviados ao laboratório no período máximo de 24 horas. A cultura dos linfócitos de sangue periférico foi realizada de acordo com a técnica de MOORHEAD et al. (1960), com algumas modificações, como segue: os tubos com o sangue foram centrifugados, a camada de glóbulos brancos foi retirada e 20 gotas foram distribuídas em frasco de cultura contendo 4 ml de meio RPMI, 1 ml de soro fetal, 0,1 ml de fito-hemaglutinina e antibióticos.

De cada animal, dois frascos de cultura foram incubados a 37,5°C. Após 71 horas adicionou-se 0,1 ml de solução de colchicina 0,0016% em cada frasco, que permaneceram por mais uma hora a 37,5°C. Em seguida, o material foi centrifugado a 800 rpm, por 8 minutos, sendo o sobrenadante desprezado.

A hipotonização das células foi feita adicionando-se solução de cloreto de potássio a 0,075M e incubação por 8 minutos a 37,5°C. Em seguida, foi feita a fixação com solução de metanol e ácido acético (3:1) e o material mantido em geladeira, por duas horas. Após esse período, iniciou-se o preparo das lâminas, as quais foram coradas com solução de Giemsa e, 20 metáfases por animal foram analisadas ao microscópio óptico, com objetiva de imersão. Os cromossomos foram desenhados, observando-se número e morfologia, sendo que as melhores metáfases foram fotografadas e copiadas para montagem do cariótipo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tipo Tropical Leiteiro apresenta polimorfismo quanto à morfologia do cromossomo Y. Dos 33 machos analisados, a maioria (28) apresentou o tipo submetacêntrico e, em apenas 5 animais foi observado o Y acrocêntrico.

De acordo com o Programa de formação do gado do tipo Tropical Leiteiro da Estação Experimental de Colina, era esperado que os reprodutores apresentassem o cromossomo Y igual ao das raças européias, como os achados de KIEFFER & CARTWRIGHT (1968), JORGE (1974), TAMBASCO (1976), BENJAMIN & BHAT (1977) ELDRIDGE & BLAZAK (1977), PINHEIRO (1979), quando analisaram, através de exames citogenéticos, animais provenientes de cruzamentos entre *Bos taurus* e *Bos indicus* cujo último progenitor usado era de origem européia ou portador do cromossomo Y submetacêntrico.

Como foram observados os dois tipos de cromossomos, procurou-se a origem dos ancestrais de cada indivíduo portador de Y acrocêntrico, chegando-se a um reprodutor 1/2 sangue (filho de touro gir) sobre vacas 3/4 europeu-zebu e outro reprodutor 3/4 (filho de touro zebu e mãe 1/2 sangue), sobre vaca holandesa, explicando assim a ocorrência desse tipo de cromossomo Y no gado Tropical Leiteiro. Esse polimorfismo foi também detectado na raça Ibagé por MORAES (1978) e PINHEIRO et al. (1979). A raça Caracu, embora européia por sua origem de formação, apresentou os dois tipos de cromossomo Y, conforme PINHEIRO et al (1984) e nas análises realizadas em nosso laboratório.

Das duas fêmeas Tropical Leiteiro estudadas, uma apresentou quimerismo 60, XX/60, XY. Isto era esperado, por ser ela proveniente de parto gemelar heterossexual, o que era esperado, de acordo com a afirmação de CHAPMAN et al. (1978). Após o abate foram verificados clitóris aumentado, útero subdesenvolvido, glândulas vesiculares e gônadas tipo testicular localizada sobre a glândula mamária. O exame histológico do aparelho genital mostrou a existência de glândulas vesiculares, testículos rudimentares e útero com hipoplasia da mucosa glandular. Esses dados comprovam o diagnóstico de que essa fêmea era "freemartin". VAINAS et al. (1993) recomenda a análise cromossômica para identificar precocemente esse tipo de síndrome em bovinos.

Nas amostras de 69 machos do ecótipo Mantiqueira, analisadas citogeneticamente, o cromossomo Y apresentou-se submetacêntrico, conforme o esperado, visto que, na sua formação foram utilizados touros holandeses. Resultados semelhantes, foram observados por PINHEIRO (1979) e TAMBASCO (1976), em animais Pitangueiras, considerando que haviam sido utilizados apenas reprodutores Red Poll na formação da raça e, no gado Canchim, onde utilizaram-se touros charoleses sobre vacas 3/4 zebu e 1/4 charolês. Todas as 10 fêmeas mantiqueira estudadas apresentaram cariótipos normais.

## CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados obtidos, conclui-se que:

1. Nos bovinos tipo Tropical Leiteiro foram encontrados cromossomos Y submetacêntrico e acrocêntrico, como resultado da utilização de touros de raças européias e indianas na sua formação.
2. Nos bovinos do ecótipo Mantiqueira encontrou-se apenas cromossomo Y submetacêntrico, indicando ser ele de origem de raça européia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENJAMIN, B.R. & BHAT, P.N. . Chromosomal studies on cattle with special reference to cross - breeding. *Indian.Anim.Sci*, Bangalore, 47(1):4-7, 1977.
- CHAPMAN, H.M.; BRUERE, A.N. & JAINE, P.M. XY Gonadal dysgenesis in a Charolais heifer. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdam, 1(1): 9-18, 1978.
- ELDRIDGE, F. & BLAZAK, W.F. Comparison between the Y chromosomes of Chianina and Brahma crossbred steers. *Cytogenet. Cell. Genet.*, Basel, 18:57-60, 1977.
- GUARAGNA, G.P.; GAMBINI, L.B.; FIGUEIREDO, A.L. & PIRES, F.L. Eficiência reprodutiva do rebanho Mantiqueira da Estação

- Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba. I. Efeito de fatores de meio. B. Indstr. anim., Nova Odessa, SP, 45: (1)33-72, jan./jun. 1988.
- HALNAN, C.E. & FRANCIS, J. *Bos taurus* Y chromosome of Africander cattle and the development of improved breeds for the tropics. Vet. Rec., London, 98:88-90, 1976.
- JORGE, W. Chromosome study of some breeds of cattle. Caryologia, Firenze, 27(3):325-29, 1974.
- KIEFFER, N.M. & CARTWRIGHT, T.C. Sex chromosome polymorphism in domestic cattle. J. Hered., Washington, 59(1):35-6, 1968.
- MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M. & HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured in human peripheral blood. Expl. Cell., Res., New York, 20:613-16, 1960.
- MORAES, J.C.F. Estudos cromossômicos em diferentes raças do rebanho bovino do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado em Genética. Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1978. 105f.
- PINHEIRO, L.E.L. Estudos citogenéticos de algumas raças da subespécie *Bos taurus taurus*. Tese de Doutorado. Ribeirão Preto, SP, Faculdade de Medicina- USP, 1979. 94f.
- PINHEIRO, L.E.L.; FERRARI, I.; FERRAZ, J.B.S. & ALMEIDA JR., I.L. Heteromorfismo cromossômico na raça Caracu (*Bos taurus* L.). Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, MG, 8(1):17-20, 1984.
- PINHEIRO, L.E.L.; MATTEVI, M.S.; ERDTMANN, B. & MIES FILHO, A. Análise citogenética em bovinos da raça Ibagé. Científica, Jaboticabal, SP, (No. espec.):29-32, 1979.
- TAMBASCO, A.J. Contribuição ao estudo citogenético em bovinos normais e anormais em bovinos com problemas de reprodução. Tese de Doutorado em Genética. Ribeirão Preto, SP, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, 1976, 97f.
- VAINAS, E.; BOSCOS, C.; LEKKAS, S. Evaluation of fertility of heterosexual twin heifers by means of cytogenetic analysis. Anim. Breed. Abstr., Edinburgh, 61 (5): 292, May, 1993.
- WILKES, P.R.; WIJERTNE, W.V.S. & MUNRO, I.B. A study of the cytogenetics and reproductive anatomy of freemartin heifers. In: European Colloquium Cytogenetics Domestic Animals, 4, Uppsala, 1980. Uppsala, Faculty of Veterinary Medicine, 1980. p.104-117.
- WURSTER, D.H. & BENIRSCHKE, K. Chromosome studies in the super family Bovoidea. Chromosoma, Berlin, 25:152-71, 1968.
- YU, R.L. Y chromosome polymorphism among cattle breed groups in China. Anim. Breed. Abstr., Edinburgh, 61 (2): 93, Feb. 1993.