



INVESTIGAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DO REBANHO MANTIQUEIRA ATRAVÉS DE POLIMORFISMOS PROTÉICOS. I. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E ESTUDOS COMPARATIVOS^{1A}

MARIA APARECIDA CASSIANO LARA², GUILHERME PAES GUARAGNA³, ROBERTO HAUCK HEICHERT³, LUCIANO RICARDO MARCONDES DA SILVA³ E EUCLEIA PRIMO BETIOLI CONTEL^{4,5}

RESUMO - O bovino Mantiqueira é atualmente considerado uma raça nativa brasileira, resultante de um dos programas de seleção do Instituto de Zootecnia para produção de leite a pasto. A caracterização da variabilidade foi realizada através de análises eletroforéticas. Alguns sistemas protéicos foram escolhidos por apresentarem determinados alelos que ocorrem em frequências específicas, ou alelos exclusivos de raças pertencentes aos grupos *Bos indicus* e *Bos taurus*, tais como os alelos Ca^Z e Alb^C e os alelos Ca^F e $Pep-B^3$, respectivamente. Para o rebanho Mantiqueira, as respectivas frequências dos alelos Hb^A , Hb^B , Ca^S , Ca^F , $Pep-B^1$, $Pep-B^2$, $Pep-B^3$, $Am-I^B$, $Am-I^C$, Alb^A , Alb^B , Tf^A , Tf^D e Tf^E foram $0,962 \pm 0,013$ e $0,038 \pm 0,013$; $0,890 \pm 0,022$ e $0,110 \pm 0,022$; $0,118 \pm 0,023$, $0,818 \pm 0,026$ e $0,064 \pm 0,015$; $0,547 \pm 0,033$ e $0,453 \pm 0,033$; $0,897 \pm 0,021$ e $0,103 \pm 0,021$; $0,256 \pm 0,029$; $0,573 \pm 0,030$ e $0,171 \pm 0,024$. Os valores de P, P_A , P_P e H, que expressam a variabilidade genética existente nos locos da Hb, CA, Pep-B, PGD, SOD, Am-I, Alb e Tf, foram os seguintes: 0,750; 0,8890; 2,3 e 0,1814 \pm 0,0683. Esses altos valores obtidos no rebanho Mantiqueira, quando comparados com as raças européias, sugerem que esse rebanho apresenta um grande potencial para programas de seleção e melhoramento. Além disso, a não ocorrência de alelos específicos zebuínos no rebanho estudado sugere que, se originalmente presentes, os alelos foram substituídos pelos da raça Holandesa, há muitas décadas.

Termos para indexação: heterozigosidade, polimorfismo protéico, bovinos Mantiqueira, caracterização genética.

INVESTIGATION OF GENETIC VARIABILITY IN THE MANTIQUEIRA HERD THROUGH PROTEIN POLYMORPHISM. I - GENETIC CHARACTERIZATION AND COMPARATIVE STUDIES

SUMMARY - The Mantiqueira cattle has recently been considered a Brazilian native breed, resultant from one of the selection programs of the Instituto de Zootecnia for milk production on pasture. The characterization of genetic variability was accomplished by electrophoretic analysis of proteins. Some loci were chosen for showing alleles which appeared in specific frequencies or exclusive alleles in breeds belonging to groups *Bos indicus* and *Bos taurus*, such as Ca^Z , $Pep-B^1$ and Alb^C and alleles Ca^F and $Pep-B^3$, respectively. To the Mantiqueira herd the respective frequencies of alleles Hb^A , Hb^B , Ca^S , Ca^F , $Pep-B^1$, $Pep-B^2$, $Pep-B^3$, $Am-I^B$, $Am-I^C$, Alb^A , Alb^B , Tf^A , Tf^D and Tf^E were 0.962 ± 0.013 and 0.038 ± 0.013 ;

¹ - Projeto IZ-018/90, dados parciais da Tese de Doutorado da primeira autora, desenvolvida na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

^A - Pesquisa desenvolvida com recursos financeiros do CNPq, CAPES e Instituto de Zootecnia.

² - Seção de Genética e Reprodução, Instituto de Zootecnia, Caixa Postal 60, 13141-100, Nova Odessa, SP.

³ - Estação Experimental de Pindamonhangaba, Instituto de Zootecnia.

⁴ - Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, 14049-900, Ribeirão Preto, SP.

⁵ - Bolsista Pesquisador do CNPq.



0.890 ± 0.022 and 0.110 ± 0.022 ; 0.118 ± 0.023 , 0.818 ± 0.026 and 0.064 ± 0.015 ; 0.547 ± 0.033 and 0.453 ± 0.033 ; 0.897 ± 0.021 and 0.103 ± 0.021 ; 0.256 ± 0.029 , 0.573 ± 0.030 and 0.171 ± 0.024 . The values of P, P_A, A_P e H, that express the genetic variability in the loci Hb, CA, Pep-B, PGD, SOD, Am-I, Alb and Tf were the following: 0.750; 0.8890; 2.3 and 0.1814 \pm 0.0683. These high values obtained from Mantiqueira herd when compared to European breeds suggest that this herd displays a remarkable potential for selection and improvement programs. Besides, the non occurrence of specific zebu alleles in the studied herd suggest that, if existed, they were replaced by Holstein alleles many decades ago.

Index terms: heterozygosity, protein polymorphism, Mantiqueira cattle, genetic characterization.

INTRODUÇÃO

Os bovinos Mantiqueira, atualmente, podem ser considerados uma raça nativa brasileira, resultante de pesquisas que o Instituto de Zootecnia vem desenvolvendo, desde 1952, no cumprimento de uma de suas finalidades: armazenar e preservar genes que possam ser importantes no melhoramento de grupos genéticos, ou que estejam ameaçados de desaparecer. Recentemente, esses bovinos foram também reconhecidos e incluídos no World Watch List de animais domésticos (LOFTUS e SCHERF, 1993).

A formação do rebanho Mantiqueira, conforme relata Assis (in GUARAGNA et al., 1988a), foi realizada por meio de cruzamentos entre reprodutores Holandeses que foram importados para o Sul de Minas Gerais e bovinos mestiços oriundos da região da serra da Mantiqueira. Esses últimos, segundo os mesmos autores, correspondiam aos animais resultantes do acasalamento entre as raças Turina e Caracu. Outra ascendência é proposta por MASSON (1988), que sugere uma origem híbrida, correspondente a 5/8 Friesian : 3/8 Gir, o que nos parece pouco provável.

Segundo GUARAGNA et al. (1988a) o ecótipo Mantiqueira é uma alternativa excelente para os sistemas mais simples de criação, pois apresenta boa eficiência reprodutiva e produtiva, em função da sua grande capacidade adaptativa ao meio tropical. Além disso, devido à sua elevada influência na transmissão destas características à prole, os autores concluíram que o Mantiqueira pode ser considerado como um grupamento genético bastante homogêneo, o suficiente para ser considerado uma raça. Outro fato importante descrito por GUARAGNA et al. (1988b) é que esses bovinos Mantiqueira são do tipo leiteiro devido a características apresentadas, tais como medidas corporais e índices zométricos.

Por outro lado, estudos de caracterização genética do Mantiqueira através de polimorfismos protéicos,

praticamente são inexistentes e de suma importância em programas de seleção e melhoramento, uma vez que esses marcadores genéticos não sofrem influências do ambiente e não se modificam durante a vida do animal. Segundo PANEPUCCI (1986), o conhecimento da relação existente entre as diferentes raças e a quantificação da extensão da variabilidade dentro e entre populações é fundamental para o desenvolvimento e acompanhamento racional de programas de melhoramento animal. Segundo essa mesma autora, esses polimorfismos podem acrescentar uma nova dimensão às características clássicas que vêm sendo utilizadas na definição de uma raça. Dentre essas, a autora destaca o tamanho, a conformação, características de produção, cor e pelagem que, como sabemos, são insuficientes para distinguir raças puras, além de sofrerem influências do meio e de fatores genéticos (GUARAGNA et al. 1988b).

O primeiro estudo citogenético visando a caracterização do rebanho Mantiqueira foi realizado por PIRES et al. (1994). Os bovinos de origem indiana e européia se caracterizam por apresentarem o cromossomo Y acrocêntrico e submetacêntrico, respectivamente. Nesse estudo, apenas o cromossomo Y submetacêntrico foi detectado na amostra analisada; tal fato, segundo os autores, sugere que o gado Mantiqueira é um representante do grupo *Bos taurus*.

A hipótese de uma possível participação de determinados genes zebuínos (*Bos indicus*) na composição genômica dos bovinos Mantiqueira foi investigada no presente estudo, através de análises eletroforéticas de proteínas.

A migração diferencial de uma dada proteína, pela técnica da eletroforese, é dependente da composição dos aminoácidos das cadeias polipeptídicas, que são os produtos primários especificados por alelos e que compõem as proteínas. Mudanças de bases aminadas no DNA do gene estrutural podem resultar na substituição de um aminoácido e na formação de um polipeptídeo com carga ou configuração diferente. A proteína



resultante, quando submetida à eletroforese, terá uma migração alterada, refletindo, portanto, a variabilidade no DNA correspondente ao gene estrutural. Embora nem todas as modificações na molécula de DNA sejam detectadas, tais como as substituições que não alteram a carga ou aquelas no interior da molécula que não produzem mudanças conformacionais, tem-se verificado que grande parte das alterações pode ser discriminada.

Assim, os polimorfismos protéicos são excelentes marcadores, capazes de revelar parte da variabilidade genética existente numa determinada população e, portanto, muito úteis em estudos populacionais. Em bovinos, a caracterização racial é facilitada tanto pela ausência de variabilidade num determinado loco quanto pela presença de determinados alelos em frequências distintas, que permitem a identificação dos grupos *Bos taurus* e *Bos indicus* (PANEPUCCL, 1989), ou ainda, pela ocorrência exclusiva de alelos em determinadas raças (LARA e CONTEL, 1997).

O presente estudo teve como finalidade a verificação de alelos específicos zebuínos no rebanho Mantiqueira, a quantificação da variabilidade e a sua comparação com as obtidas nas raças Holandesa, Caracu Caldeano e Gir seleção leiteira, através de polimorfismos protéicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um total de 619 amostras sangüíneas. Essas foram coletadas ao acaso em 139 bovinos da raça Holandesa oriundos de cinco rebanhos localizados no estado de São Paulo, 106 bovinos Caracu pertencentes a rebanho situado na região de Poços de Caldas, MG, 118 bovinos Mantiqueira e 256 bovinos Gir dos rebanhos das Estações Experimentais de Zootecnia, localizadas em Pindamonhangaba e Ribeirão Preto.

As amostras foram colhidas em tubos para coleta de sangue a vácuo contendo EDTA como anticoagulante. O plasma foi separado por centrifugação a 2000 g durante 10 minutos e estocado a - 20° C, até o momento das análises eletroforéticas da albumina (Alb), amilase-I (Am-I) e transferrina (Tf). Para o estudo da Alb, esse foi diluído na proporção de 1:5 com água destilada.

Os eritrócitos foram lavados três vezes em solução salina contendo 0,85% de NaCl e, em seguida, diluídos em volume idêntico de tampão fosfato pH 7,4 contendo 40% de glicerol. Estes eritrócitos foram utilizados nas análises eletroforéticas da Hemoglobina (Hb), Anidrase carbônica (CA), Peptidase-B (Pep-B), Fosfogliconato desidrogenase (PGD) e Superóxido dismutase (SOD). Os hemolisados foram obtidos adicionando-se aos eritrócitos volumes iguais de água destilada. No estudo da Pep-B, PGD e SOD, as células vermelhas foram incubadas com volume idêntico de 2-mercaptoetanol a 50 mM, durante 20 minutos. As amostras de

hemolisados e as plasmáticas foram então absorvidas em papel de filtro Whatman de 0,5 x 0,6 cm e aplicadas no gel.

As separações eletroforéticas das variantes da Hb e CA foram realizadas em gel de penetrose a 14%, no qual foi aplicado um potencial de 4,5 V/cm, durante 4 horas. Para estas separações foi utilizado o tampão fosfato, pH 6,5, descrito em SPENCER et al. (1968).

As análises da Pep-B, PGD e SOD foram realizadas simultaneamente, em géis de penetrose a 14%, segundo a metodologia descrita em LARA e CONTEL (1997).

Para a detecção das variantes da Am-I, Tf e Alb, as eletroforeses foram realizadas em géis de amido a 10,5%, empregando-se o sistema descontínuo de KRISTJANSSON (1963), cujo tampão nas cubas foi o Borato, pH 8,7 (0,3 M em ácido bórico e NaOH 10 N). Nos géis de Alb, o tampão empregado foi o Tris - citrato, pH 6,5 (0,014 M em Tris e 0,0048 M em ácido cítrico) e nos géis de Am-I e Tf, a esse tampão foi adicionado NaOH 10N até atingir o valor de pH 7,6. No início dessas análises, foram aplicadas as seguintes voltagens: 80 V aos géis de Alb, e 60 V aos géis de Am-I e Tf, e após transcorridos 30 minutos, essas foram ajustadas para 100 V e mantidas por mais 3 horas, para a separação das variantes da Albumina. Para Amilase-I e Transferrina, essas foram concluídas após 4 h e 30 min.

Nas revelações das atividades das enzimas eritrocitárias CA, PGD e SOD foram empregadas técnicas descritas em HARRIS e HOPKINSON (1976), para Pep-B, a de LEWIS e HARRIS (1967) e para a Am-I, aquelas apresentadas em FERRER e MARTÍNEZ (1985). As variantes da Albumina e Transferrina foram diferenciadas através de incubações com solução de Amido Negro 0,25% em etanol:água:ácido acético, na proporção de 5:5:1, e sucessivas lavagens.

As estimativas de frequências gênicas, seus respectivos desvios padrão e os valores de X^2 das análises do binômio de Hardy-Weinberg foram determinados através do programa computacional FREGEN do sistema GENIOC (CABELLO e KRIEGER, 1997). O teste t para dados não pareados, descrito em SNEDECOR e COCHRAN (1972) foi empregado nas comparações entre as estimativas de frequências gênicas obtidas no Mantiqueira com aquelas das raças Holandesa, Caracu Caldeano e Gir.

Para as determinações da variabilidade existente dentro de cada raça, foram utilizadas algumas medidas de diversidade, tais como a proporção de locos polimórficos (P), o número efetivo de alelos por loco polimórfico (A_p) e a proporção de alelos contidos em cada população (P_A), as quais foram descritas em ALFENAS et al. (1991). O programa DISPAN também foi empregado para as determinações da heterozigiosidade intraloco (H) para cada raça e do índice de diversidade (G_{ST}), proposto por NEI



(1973). Esse último corresponde à proporção da variabilidade que pode ser atribuída às diferenças genéticas entre as populações. Assim, este índice foi utilizado nas confrontações entre a raça Mantiqueira e as raças Caracu Caldeano, Holandesa e Gir.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de P , que expressam a relação entre o número de locos polimórficos e o número total de locos investigados, foram 0,750 para as raças Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir e 0,375 para a raça Holandesa. Os valores referentes aos números efetivos de alelos por loco polimórfico, A_p , para as raças Mantiqueira e Holandesa foram iguais a 2,3 e superiores aos observados nas raças Caracu Caldeano e Gir. O maior valor de P_A , que fornece a idéia da distribuição dos alelos nas diferentes raças investigadas, foi encontrado para a raça Mantiqueira e o menor, para a Holandesa, sendo que nas raças Caracu Caldeano e Gir esses valores foram semelhantes e intermediários aos anteriores. Com relação à estimativa de H , a mesma tendência foi observada para as raças européias, cujos valores obtidos para a Holandesa, Caracu Caldeano e Mantiqueira foram, respectivamente, $0,1212 \pm 0,0790$; $0,1671 \pm 0,0726$; $0,1812 \pm 0,0682$. Na raça Gir, esse foi igual a $0,2048 \pm 0,0691$. Esses altos valores obtidos para o rebanho Mantiqueira, quando comparados com as raças européias, mostraram-se concordantes com as expectativas de MANWELL e BAKER (1976). Segundo esses autores, populações de origens híbridas provavelmente apresentem esses valores elevados. Essas estimativas foram determinadas com base nos sistemas genéticos estudados, exceto o loco da transferrina, que encontrava-se fora de equilíbrio genético.

Os valores de G_{ST} obtidos, segundo as estimativas de frequências gênicas dos locos da Hb, CA, Pep-B, PGD, SOD, Am-I e Alb, para os seguintes pares de raças, foram iguais a 1,69% para o Mantiqueira e Caracu Caldeano, 3,83% para o Mantiqueira com o Holandês e 31,53% para o Mantiqueira e a raça Gir. Com base nesses valores, que correspondem à proporção da diversidade genética atribuída às diferenças entre as raças, concluímos que entre a raça Mantiqueira e as européias, em média cerca de 97,24% da diversidade observada pode ser decorrente da variabilidade existente dentro de cada raça. Ao passo que entre a raça Mantiqueira e Gir, 31,53% da variabilidade genética total pode ser atribuída à diferença entre as duas raças, enquanto que o

restante, 68,47%, ocorre em virtude da diversidade presente dentro dessas.

As estimativas de frequências gênicas dos sistemas polimórficos, seus respectivos valores de desvio padrão e de X^2 , que permitiram a análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg, estão apresentados no Quadro 1. Esses sistemas genéticos foram investigados no presente estudo por apresentarem frequências gênicas distintas entre raças, além de determinados alelos que podem ocorrer exclusivamente em raças taurinas e zebuínas, permitindo assim a caracterização e a estimativa de composição racial do rebanho Mantiqueira.

Em relação ao loco da hemoglobina, no presente estudo foram observados os três fenótipos mais comuns, denominados A, AB e B, e as frequências fenotípicas obtidas para as raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir estão apresentadas na figura 1. Como mostrado no Quadro 1, as estimativas de frequências dos alelos Hb^A e Hb^B da raça Mantiqueira foram similares às da Holandesa e Caracu Caldeano ($p > 0,05$) e distintas das obtidas na raça Gir ($p < 0,05$). Na Holandesa, esse loco mostrou-se monomórfico para o alelo Hb^A . A utilização desse sistema foi muito oportuna, pois segundo estudos recentes, o alelo Hb^A é considerado marcador de raças *Bos taurus*, uma vez que em algumas raças européias, como por exemplo na Holandesa, esse alelo parece estar fixado (BICALHO, 1985); em outras a frequência desse alelo é superior a 90% e nas raças *Bos indicus* não excede 50% (MAILLARD et al., 1993). Na revisão de BAKER e MANWELL (1980), resultados idênticos são apresentados, demonstrando que o alelo Hb^B é mais freqüente nas raças do grupo *Bos indicus* e, em algumas raças européias, principalmente naquelas pertencentes ao grupo *Bos taurus primigenius*, sua frequência é próxima a 10%. Assim, no presente estudo, as estimativas obtidas para as raças Holandesa, Caracu e Gir mostraram-se concordantes com as esperadas, descritas em estudos anteriores. No Mantiqueira, as estimativas não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação às raças européias, sugerindo similaridades com raças do grupo *Bos taurus primigenius*.

O loco da anidrase carbônica é caracterizado pela ocorrência de três alelos codominantes, denominados CA^Z , CA^S e CA^F , cujos produtos apresentam mobilidades anódicas crescentes (DEL LAMA, 1992). A metodologia adotada no presente estudo permitiu a identificação de cinco fenótipos, S, SF,



SZ, F, Z, e as frequências fenotípicas observadas nas quatro raças estão apresentadas na Figura 2. O alelo CA^S ocorreu em todas as raças, em frequências relativamente altas; o alelo CA^Z foi detectado apenas na raça Gir e o CA^F nas raças Holandesa, Caracu e Mantiqueira. O teste t revelou que as estimativas de frequências do alelo CA^S obtidas nas quatro raças não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), embora diferenças ($p < 0,05$) tenham sido observadas nas frequências dos alelos CA^Z e CA^F entre as raças européias e zebuína. Esses resultados estão de acordo com os da literatura, que mostram o potencial desse loco em estudos de caracterização racial e na investigação de cruzamentos escusos, pelo fato de apresentar um alelo específico do grupo taurino, denominado CA^F e outro específico do grupo zebuína, o alelo CA^Z . Portanto, as ocorrências de tais alelos nas respectivas raças reforçam a utilização desse loco como marcador racial e, também, sugerem que no rebanho Mantiqueira estudado, não existem alelos que comprovem a participação de raças zebuínas.

As condições experimentais utilizadas para as análises eletroforéticas da Pep-B, PGD e SOD permitiram investigar estes locos, simultaneamente. Desses, o único que apresentou variabilidade genética foi o loco da Pep-B, com seis fenótipos, denominados 1, 1-2, 1-3, 2, 2-3 e 3. A distribuição fenotípica nas quatro raças está apresentada na Figura 3 e as frequências gênicas no Quadro 1. Os testes t revelaram que as estimativas de frequências do alelo $Pep-B^1$ obtidas nas raças Caracu e Mantiqueira não diferiram ($p > 0,05$), e entre Gir e Mantiqueira diferenças ao nível de 1% foram verificadas. O polimorfismo da peptidase-B eritrocitária foi descrito por DEL LAMA et al. (1992), que observaram a ocorrência de dois alelos, denominados $Pep-B^1$, $Pep-B^2$, em raças zebuínas. Recentemente, outro alelo foi descrito por LARA e CONTEL (1997): o $Pep-B^3$. Segundo essas autoras, esse loco é também muito informativo, pois apresenta alelos codominantes específicos. Na maioria das raças européias essa enzima mostra-se monomórfica e o alelo $Pep-B^2$ parece estar fixado. Nas raças zebuínas, ambos os alelos $Pep-B^1$, $Pep-B^2$ podem ser encontrados, mas geralmente a frequência do primeiro é maior que a do segundo. Em algumas raças nativas, os três alelos vêm sendo detectados, principalmente no Mantiqueira (LARA e CONTEL, 1997) e no Pantaneiro (LARA et al., 1996b), embora na raça Caracu apenas os alelos $Pep-B^1$ e $Pep-B^2$ tenham sido

observados. Uma explicação para a ausência do alelo $Pep-B^3$ seria um possível efeito da deriva genética, pois a raça Caracu Caldeano vem sendo selecionada para produção de leite. Assim, devido à ocorrência específica do alelo $Pep-B^3$ em algumas raças nativas, provavelmente este alelo possa ser considerado marcador de raças que foram introduzidas no Brasil, pelos portugueses e espanhóis, no século XVI.

A metodologia adotada no presente estudo, para a identificação das variantes da amilase-I e da transferrina, também permitiu a investigação simultânea de ambas as proteínas. O polimorfismo da amilase-I sérica é caracterizado pela ocorrência de três alelos $Am-I^A$, $Am-I^B$ e $Am-I^C$, de ação codominante (CECHINI e NIJS, 1986). Entretanto, na literatura são encontrados alguns trabalhos nos quais os autores não diferenciaram os produtos dos alelos $Am-I^A$ e $Am-I^B$ e, portanto, ao fenótipo B vêm sendo incluídos todos os indivíduos portadores dos alelos $Am-I^A$ e/ou $Am-I^B$. Essa classificação também foi adotada em nosso estudo. Como mostrado na Figura 4, a distribuição dos fenótipos B, BC na raça Mantiqueira foi similar às observadas nas raças Holandesa e Caracu Caldeano, porém diferentes da raça Gir. As ocorrências do fenótipo C nas raças Mantiqueira e Caracu foram semelhantes e distintas das raças Holandesa e Gir: a primeira com maior número e a última com menor número de indivíduos com esse fenótipo. Além disto, no presente estudo, as estimativas de frequências dos alelos $Am-I^B$ e $Am-I^C$ obtidas no rebanho Mantiqueira não diferiram ($p > 0,05$) das obtidas nas raças Holandesa e Caracu Caldeano, mas ao nível de 5% diferenças foram verificadas entre Mantiqueira e Gir. Essas estimativas mostraram-se concordantes com as descritas na literatura, principalmente as da Gir, que não diferiram ($p > 0,05$) das frequências observadas por DEL LAMA (1992). Entretanto, na raça Holandesa, a frequência do alelo $Am-I^C$ foi superior à média descrita para esta raça (FERRER e MARTÍNEZ, 1985).

Segundo a revisão realizada por BAKER e MANWELL (1980), a frequência do alelo $Am-I^C$ é muito baixa nas raças zebuínas, e nas européias ele ocorre em frequências mais altas e similares, permitindo assim a diferenciação dessas raças. Os resultados de PANEPUCCI (1989) em bovinos mestiços de diferentes grupos genéticos também sugerem que este alelo possa ser considerado marcador de raças européias. Ainda nesse estudo, a autora demonstra que a frequência do alelo $Am-I^C$



depende da proporção de genes zebú / europeu que participa de cada grupo genético.

Outro loco bastante interessante para se buscar evidências que demonstrem a ausência de genes zebuínos é o da Albumina. No estudo de DEL LAMA (1992), o polimorfismo dessa proteína foi investigado em raças zebuínas, que mostrou alelos codominantes, denominados Alb^A , Alb^B e Alb^C , com freqüências distintas entre as raças bovinas. No presente estudo, foram detectados apenas os alelos Alb^A e Alb^B , estando as distribuições fenotípicas apresentadas na Figura 5 e as respectivas estimativas de freqüências gênicas, no Quadro 1. O alelo Alb^A ocorreu em todas as raças estudadas, sendo que a menor freqüência foi observada na raça Gir. O alelo Alb^B foi detectado nas raças Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir enquanto que o alelo Alb^C não foi observado nestas raças. Os testes t revelaram que as estimativas de freqüências gênicas obtidas nos bovinos Mantiqueira não diferiram ($p > 0,05$) da raça Caracu Caldeano, mas diferenças ($p < 0,05$) foram verificadas com as raças Holandesa e Gir. Além disto, as estimativas de freqüências gênicas do presente estudo não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) entre as descritas por BICALHO (1985), DEL LAMA (1992) e FERRER e MARTÍNEZ (1985), nas raças Caracu Caldeano, Gir e Holandesa, respectivamente. Segundo a revisão de BAKER e MANWELL (1980), o alelo Alb^B está praticamente ausente no grupo *Bos taurus brachiceros*, ocorre em freqüências entre 0,10 e 0,35 no *Bos taurus primigenius*, e atinge valores entre 0,80 e 1,00 na maioria das raças zebuínas pertencentes ao grupo *Bos indicus*. Portanto, as estimativas de freqüências gênicas obtidas no presente estudo estão em concordância com os resultados já descritos na literatura. O alelo Alb^B não foi detectado na raça Holandesa e ocorreu em freqüências de 0,222 e 0,816 nas raças Caracu Caldeano e Gir, respectivamente. O alelo Alb^C , que segundo a literatura é característico de diversas raças bovinas zebuínas (DEL LAMA, 1992) não foi detectado no presente estudo. As estimativas de freqüências gênicas obtidas para este loco, também, reforçam a hipótese de que possivelmente, não há participação de genes zebuínos no rebanho Mantiqueira. Além disto, sugerimos que provavelmente o alelo Alb^B foi introduzido neste rebanho através de cruzamentos entre bovinos Holandeses e Caracu.

Com relação ao loco da transferrina, a literatura tem mostrado que esta proteína apresenta uma grande

diversidade. Na revisão realizada por CECCHINI e NIJS (1986), foi reportado que, dependendo da raça investigada e da metodologia adotada, este loco pode ter até sete alelos, os quais foram denominados Tf^A , Tf^{D1} , Tf^{D2} , Tf^E , Tf^F , Tf^B e Tf^G . Neste estudo, os autores relatam que os alelos Tf^B e Tf^G são raros e específicos de algumas raças zebuínas. Em estudos recentes (JAIN e SING, 1994 e YUYING et al., 1996) com bovinos europeus das raças Jérsei e Simental, apenas os alelos Tf^A e Tf^D foram observados. Segundo os estudos de BORTOLOZZI (1983), na maioria das raças bovinas, os alelos Tf^A , Tf^{D1} , Tf^{D2} e Tf^E são os mais comuns, embora a freqüência do alelo Tf^E seja maior nas raças zebuínas. Além disto, na revisão de BAKER e MANWELL (1980), os fenótipos D1, D1D2 e D2, foram agrupados em uma única classe, que permitiu a uniformização dos resultados e uma melhor comparação entre as diversas raças bovinas. Assim, no presente estudo esta classificação foi adotada e, portanto, o fenótipo Tf D representa todos os indivíduos portadores dos alelos Tf^{D1} e Tf^{D2} .

Neste estudo, observamos os três alelos codominantes mais comuns, Tf^A , Tf^D e Tf^E , e a distribuição dos fenótipos A, AD, AE, D, DE e E observados nas raças Mantiqueira, Holandesa, Caracu Caldeano e Gir é apresentada na Figura 6. As estimativas de freqüências do alelo Tf^E (Quadro 1) estão na seguinte ordem crescente: Holandesa < Caracu Caldeano < Mantiqueira < Gir. Os testes t revelaram que as freqüências do alelo Tf^E , obtidas nas raças Holandesa e Mantiqueira foram diferentes ($p < 0,05$), que entre as raças Caracu Caldeano e Mantiqueira não houve diferenças significativas ($p > 0,05$), e também que entre as raças Mantiqueira e Gir estas diferenças não são significativas ($p > 0,05$). Os valores do teste de X^2 , revelaram que este loco não está em equilíbrio de Hardy-Weinberg nas raças Caracu Caldeano e Gir, sugerindo que a seleção à qual estes animais estão sendo submetidos, pode também estar afetando tal loco. Na literatura diversos trabalhos apontam que determinados alelos podem estar associados a características produtivas, reprodutivas ou adaptativas (TOMAR et al., 1992, RAHMAN e KALAM, 1986, LARA et al., 1996a).

Justificativas da utilização do loco Tf em nossos estudos foram o fato do alelo Tf^E ocorrer em freqüências altas nas raças zebuínas, e as evidências apresentadas em estudos anteriores, que sugerem que bovinos homozigotos para Tf^E são mais resistentes que os homozigotos para Tf^A e Tf^D e que os fenótipos Tf DE e Tf E estão correlacionados com pouco ganho



de peso e baixo coeficiente alimentar. Deste modo, com base nos relatos de GUARAGNA et al. (1988a) que atribuem ao rebanho Mantiqueira uma boa capacidade adaptativa ao meio tropical e nas

diferentes distribuições genótípicas que foram obtidas no presente estudo, pretendemos no futuro verificar se tais fenótipos conferem vantagem adaptativa.

Quadro 1. Estimativas de freqüências gênicas e seus desvios padrão para os locos da Hemoglobina, Anidrase Carbônica, Peptidase-B, Amilase-I, Albumina e Transferrina em bovinos das raças Mantiqueira, Holandesa, Caracu Caldeano e Gir

Loco	Alelo	Freqüências gênicas			
		Mantiqueira N = 118	Holandesa N = 139	Caracu Caldeano N = 106	Gir N = 256
Hb	Hb ^A	0,962 ± 0,013 ab	1,0000 a	0,892 ± 0,021 b	0,545 ± 0,021 c
	Hb ^B	0,038 ± 0,013 ab	0,0000 a	0,108 ± 0,021 b	0,455 ± 0,021 c
		$\chi^2 = 0,185$	$\chi^2 = 0,000$	$\chi^2 = 0,571$	$\chi^2 = 1,008$
CA	CA ^F	0,110 ± 0,022 ab	0,248 ± 0,028 a	0,028 ± 0,011 b	0,000 c
	CA ^S	0,890 ± 0,022 ab	0,752 ± 0,028 a	0,972 ± 0,011 b	0,943 ± 0,010 b
	CA ^Z	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,057 ± 0,010 b
	$\chi^2 = 1,809$	$\chi^2 = 0,455$	$\chi^2 = 0,090$	$\chi^2 = 0,044$	
Pep-B	PepB ¹	0,118 ± 0,023 a	0,000 b	0,038 ± 0,013 ab	0,802 ± 0,017 c
	PepB ²	0,818 ± 0,026 a	1,000 b	0,962 ± 0,013 ab	0,198 ± 0,017 c
	PepB ³	0,064 ± 0,015 a	0,000 b	0,000 b	0,000 b
	$\chi^2 = 0,777$	$\chi^2 = 0,000$	$\chi^2 = 0,163$	$\chi^2 = 0,621$	
Am-I	AmI ^B	0,547 ± 0,033 a	0,382 ± 0,028 a	0,528 ± 0,035 a	0,881 ± 0,014 b
	AmI ^C	0,453 ± 0,033 a	0,618 ± 0,028 a	0,472 ± 0,035 a	0,119 ± 0,014 b
	$\chi^2 = 0,008$	$\chi^2 = 2,108$	$\chi^2 = 0,0052$	$\chi^2 = 1,986$	
Alb	Alb ^A	0,897 ± 0,021 a	1,000 b	0,778 ± 0,028 a	0,184 ± 0,017 c
	Alb ^B	0,103 ± 0,021 a	0,000 b	0,222 ± 0,028 a	0,816 ± 0,017 c
	$\chi^2 = 1,544$	$\chi^2 = 0,000$	$\chi^2 = 0,198$	$\chi^2 = 0,461$	
Tf	Tf ^A	0,256 ± 0,029 a	0,415 ± 0,033 ab	0,505 ± 0,045 b	0,287 ± 0,022 a
	Tf ^D	0,573 ± 0,030 a	0,546 ± 0,032 ab	0,340 ± 0,037 b	0,424 ± 0,022 ab
	Tf ^F	0,171 ± 0,024 ac	0,039 ± 0,012 b	0,155 ± 0,027 ab	0,289 ± 0,023 c
	$\chi^2 = 3,448$	$\chi^2 = 4,049$	$\chi^2 = 19,500$	$\chi^2 = 23,005$	

Freqüências gênicas seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade.

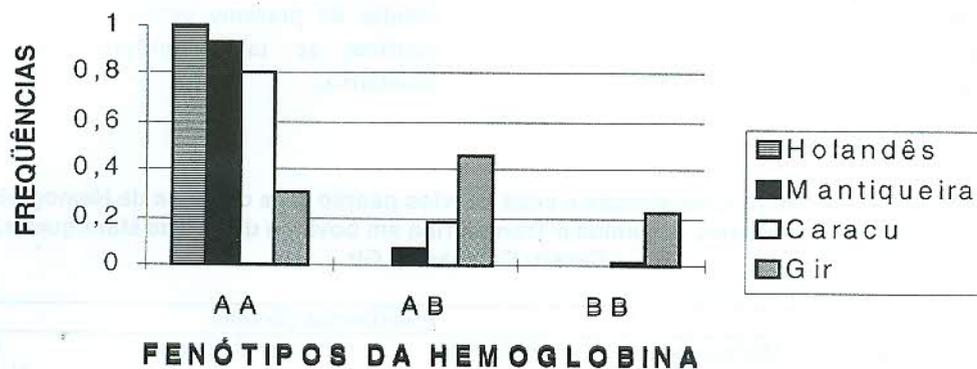


Figura 1. Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Hemoglobina nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano, e Gir

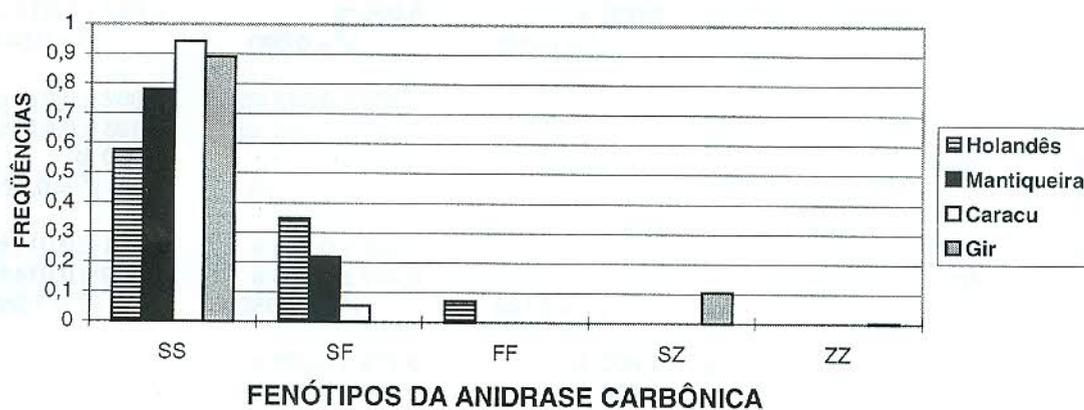


Figura 2. Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Anidrase Carbônica nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir

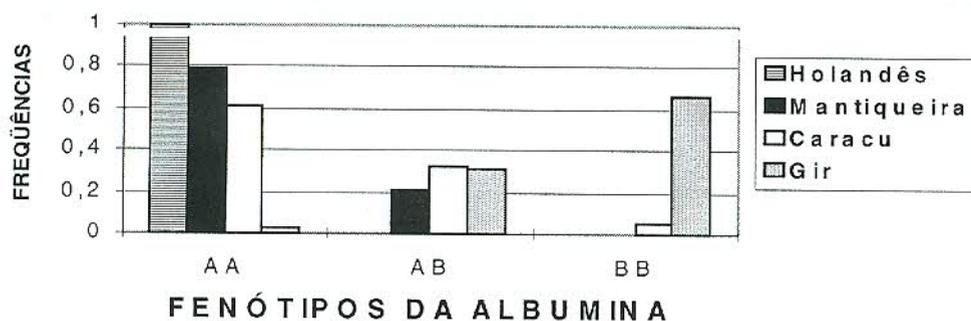


Figura 3. Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Peptidase-B nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir

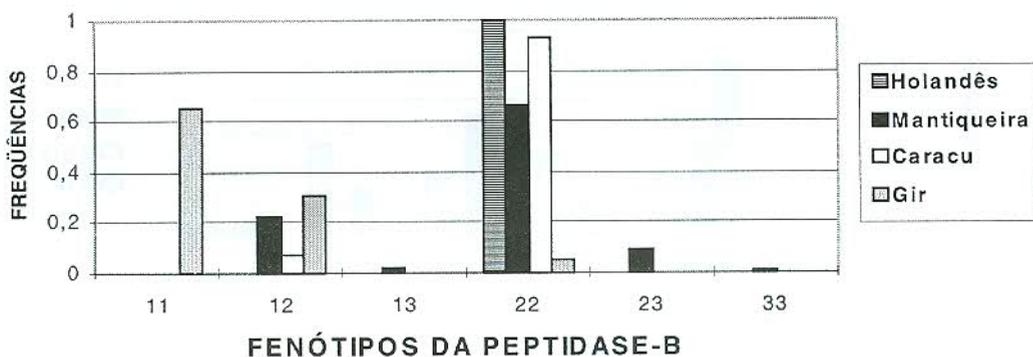


Figura 4. Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Amilase-I nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir

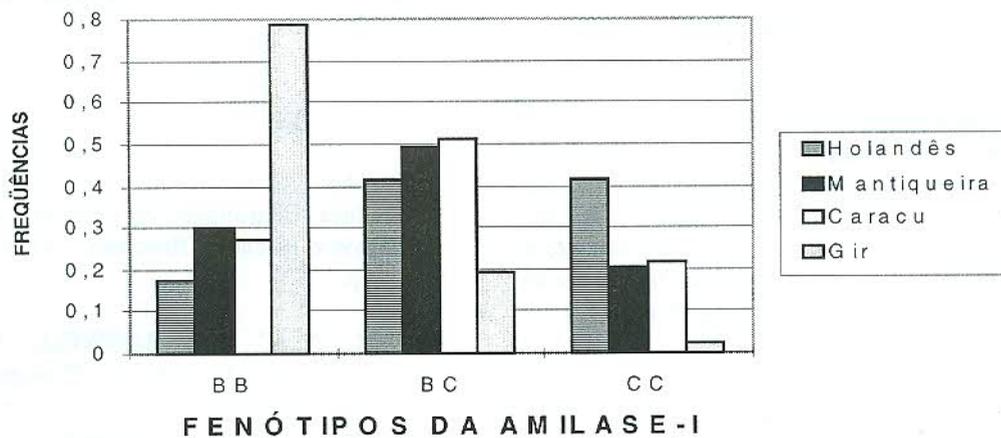


Figura 5. Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Albumina nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir

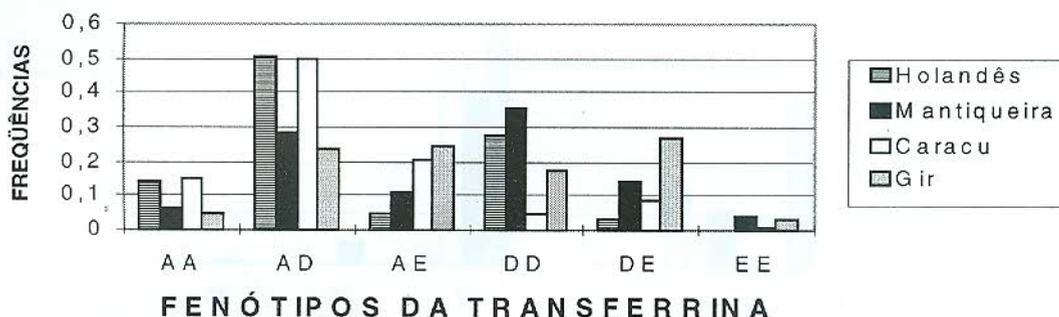


Figura 6: Representação gráfica da distribuição dos fenótipos da Transferrina nas raças Holandesa, Mantiqueira, Caracu Caldeano e Gir

CONCLUSÕES

O rebanho Mantiqueira estudado apresentou determinados alelos específicos que sugerem que estes bovinos sejam descendentes de *Bos taurus* e, devido ao alto grau de heterozigosidade apresentado por esta raça, pressupõe-se uma origem híbrida taurina. A não ocorrência de alelos zebuínos sugere que se estes alelos já estiveram presentes no rebanho, provavelmente foram substituídos pelos da raça Holandesa, há décadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração de todos os criadores da raça Holandesa e Caracu Caldeano que permitiram as coletas de sangue em suas fazendas, especialmente, aos Srs. Aloízio de Farias, Maria do Céu Rosas Alonso, Cláudio Mente, Donald Graber e Ernesto Carvalho Dias. Aos chefes da Estação Experimental de Zootecnia de Ribeirão Preto e Estação Central de Nova Odessa, Srs. José Ramos Nogueira e Irineu Árcaro Junior e funcionários destas, especialmente ao Srs. Natal Canhoto e Edmar Rodrigues Dagrella e Joaquim do Nascimento pelos esforços e dedicação na ocasião das coletas de sangue. Às funcionárias Sras. Maria Wandenira de Lima Souza pelo auxílio na preparação do material empregado no presente estudo, à secretária Maria Cristina M. Puente pelo apoio na confecção deste trabalho e à bibliotecária Lourdes Domingues dos Santos pela revisão das citações bibliográficas. Ao pessoal de apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Estação

Experimental de Pindamonhangaba, também, nossos agradecimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. et al. Diversidade e distância genética. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: UFV, 1991. 242 p.
- BAKER, A. C. M., MANWELL, C. Chemical classification of cattle. 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., Wageningen, v. 11, p. 127-150, 1980.
- BICALHO, H. M. S. Grupos Sangüíneos e Polimorfismos de Proteínas do Sangue da Raça Caracu (*Bos taurus taurus*). Análise Populacional. Belo Horizonte: UFMG, 1985. 114 f. Dissertação de Mestrado.
- BORTOLOZZI, J. Polimorfismos da transferrina sérica em bovinos da raça Canchim. Pesq. vet. bras., Seropédica, v.3, n.2, p.53-57, 1983.
- CABELLO, P.H., KRIEGER, H. Sistema para análises de dados de genética - GENIOC. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Oswaldo Cruz, 1997. 139 p.
- CECCHINI, G., NIJS, M. Literature review on cattle blood polymorphisms and preliminary



results of analysis in East African Zebu in Ethiopia. R. di Agric. Subtrop. e Trop., Florence, v. 3, p. 433-463, 1986.

DEL LAMA, S. N. Caracterização genética das raças zebuínas criadas no Brasil através de polimorfismos protéicos e grupos sanguíneos. Ribeirão Preto: USP, 1992. 207 f. Tese de Doutorado.

_____ et al. Peptidase-B polymorphism in cattle erythrocytes. Biochem. Genet., New York, v. 30, p. 247-255, 1992.

DISPAN. Genetic distance and phylogenetic analysis Copyright by Tatsuya Ota and the Pennsylvania State University, 1993.

FERRER, L.E., MARTÍNEZ, J. M. Polimorfismo bioquímico de las proteínas sanguíneas y lácteas. In: MARTÍNEZ, J.M. Immunogenética Animal. La Habana: Ministério de Cultura, Editorial Científico-Técnica, 1985. 580 p. Cap.5, p. 251-297.

GUARAGNA, G. P. et al. Eficiência reprodutiva do rebanho Mantiqueira da Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba I. Efeito de fatores de meio. B. Industr. anim., Nova Odessa, v. 45, n. 1, p. 33-72, 1988_a.

_____ et al. Estudo zométrico dos rebanhos Mantiqueira e Holandês preto e branco da Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba B. Industr. anim., Nova Odessa, v. 45, n. 1, p. 107-117, 1988_b.

HARRIS, H., HOPKINSON, D.A. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North-Holland: Amsterdam, 1976.

JAIN, A., SINGH, A. Association between serum protein polymorphic systems and linear body measurements in Jersey cattle. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, v. 47, n. 2, p. 99-102, 1994.

KRISTJANSSON, F. K. Genetic control of two pre-albumins in pigs. Genetics, Texas, v. 48, p. 1059-1063, 1963.

LARA, M.A.C. et al. Utilização de marcadores protéicos raciais na avaliação de bovinos quanto à resistência ao carrapato *Boophilus microplus*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., Fortaleza, 1996. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 1, p. 329-331, 1996a

_____ et al. Caracterização genética de bovinos Pantaneiros através de polimorfismos protéicos. Brazil. J. Genet., Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, (suppl), p. 256, 1996b.

_____, CONTEL, E.P.B. A new allele of peptidase-B in cattle. Brazil. J. Genet., Ribeirão Preto, v.20, p. 9-12, 1997.

LEWIS, W.H.P., HARRIS, H. Human red cell peptidases. Nature, London, v. 215, p. 351-355, 1967.

LOFTUS R., SCHERF, B. World watch list for domestic animal diversity. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993. 376 p.

MAILLARD, J.C. et al. An attempt to correlate cattle breed origins and diseases associated with or transmitted by the tick *Amblyomma variegatum* in the French West Indies. Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop., Paris, v. 46, n.1-2, p.:283-290, 1993.

MANWELL, C., BAKER, A.C.M. Protein polymorphisms in domesticated species: evidence for hybrid origin? In: KARLIN, S., NEVO, E., (eds.). Population genetics and ecology. New York: Academic Press, 1976. p. 105-140.

MASSON, I. L. A World Dictionary of Livestock Breeds Types and Varieties. 3rd. ed. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1988. 348 p.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, v. 70, n.12, p. 3321-3323, 1973.

PANEPUCCI, L. Importância dos marcadores genético-bioquímicos e sua aplicação ao melhoramento animal e à pesquisa em geral. Brasília: EMBRAPA / DDT, 1986. 26 p.

_____ A study of biochemical polymorphisms in European/Zebu dairy crossbred cattle and of their relationship with European and Zebu cattle. Brazil. J. Genetics, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 27-37, 1989.



- PIRES, R. M. L et al. Estudos citogenéticos em bovinos do tipo Tropical Leiteiro e ecótipo Mantiqueira. *B. Indústria. anim.*, Nova Odessa, v. 51, n. 2, p. 165-168, 1994.
- RAHMAN, M.F., KALAN, M.A. Association of transferrin types with weight gain in cattle. *Indian Vet. J.*, Madras, v. 63, n. 12, p. 1001-1003, 1986.
- SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. *Statistical Methods*. 6 ed. Ames: The Iowa State University Press, cap.5, p.120-134, 1972.
- SPENCER, N. et al. Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann. Hum. Genet.*, London, v. 32, p. 9-14, 1968.
- TOMAR, S. S. et al. Haemoglobin variants and their relationship with economic traits in Zebu-exotic crosses. *Indian Vet. J.*, Madras, v. 69, n. 9, p. 848-851, 1992.
- YUYING, W. et al. Blood protein genotype analysis of Simmental breeding cattle and genetic analysis of highly productive Simmental cows. *Anim. Breed. Abstr.*, Wallingford, v. 64, n.10, p.775, 1996.