

CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DAS RAÇAS BOVINAS CARACU, JUNQUEIRA, PANTANEIRA E PATUÁ¹

RITA MARIA LADEIRA PIRES^{2*}, RAFAEL HERRERA ALVAREZ³, JACKSON BARROS DO AMARAL², FÁBIO MORATO MONTEIRO⁴, ALFREDO JOSÉ FERREIRA DE MELO⁵, EDUARDO TREVISOL⁶, MARIA APARECIDA CASSIANO LARA²

¹Recebido para publicação em 09/05/14. Aceito para publicação em 22/10/14.

²Instituto de Zootecnia, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Reprodução Animal, Nova Odessa, SP, Brasil.

³Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Centro Sul, Piracicaba, SP, Brasil.

⁴Instituto de Zootecnia, Centro APTA Bovinos de Corte, Sertãozinho, SP, Brasil.

⁵Instituto de Terras do Estado de São Paulo, Presidente Venceslau, SP, Brasil.

⁶Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, SP, Brasil.

*Autor correspondente: pires@iz.sp.gov.br

RESUMO: Durante o processo adaptativo às condições locais as raças bovinas europeias introduzidas no Brasil na época da colonização, adquiriram características fisiológicas e fenotípicas que as diferenciaram das raças originais. O presente estudo teve como objetivo comparar a morfologia dos cromossomos sexuais de bovinos de quatro raças, naturalizadas brasileiras, bem como verificar a incidência de anomalias cromossômicas. Foi analisado o cariótipo de 332 animais de quatro raças: Caracu (115 fêmeas e 159 machos), Junqueira (13 fêmeas e 3 machos), Pantaneiro (8 machos) e Patuá (21 fêmeas e 13 machos), utilizando-se a coloração convencional de Giemsa. Os animais das raças estudadas apresentaram o complemento cromossômico normal da espécie ($2n=60$), constituído de 58 cromossomos autossomos de morfologia acrocêntrica e dois cromossomos sexuais X submetacêntricos nas fêmeas e um X e um Y nos machos. Na raça Caracu, as linhagens selecionadas para corte e para leite foram formadas por indivíduos portadores de cromossomo Y acrocêntrico e submetacêntrico, sendo que a linhagem de corte apresentou maior percentagem de cromossomo Y acrocêntrico ($P<0,01$). Em duas fêmeas e em dois machos nascidos de partos gemelares da raça Caracu, foi observado quimerismo 60,XX/60,XY. O cariótipo 60,XX/61,XXY foi observado em outra fêmea da mesma raça. Nas outras três raças, nenhuma anomalia cromossômica foi observada. A morfologia do cromossomo Y das raças Pantaneira e Patuá apresentou dimorfismo do cromossomo Y acrocêntrico e submetacêntrico. Na raça Junqueira, apenas a morfologia submetacêntrica foi observada.

Palavras-chave: anomalia cromossômica, cariótipo, cromossomo Y, raças naturalizadas.

CYTOGENETICAL CHARACTERIZATION OF BOVINE BREEDS CARACU, JUNQUEIRA, PANTANEIRO AND PATUA

ABSTRACT: During the adaptive process to Brazilian conditions, the native cattle breeds acquired physiological and phenotypic characteristics which differs them from European breeds, from which they derive. The objectives of present study were to compare the sex chromosomes morphologies between four Brazilian native cattle breeds as well as the incidence of chromosomal abnormalities. The karyotype of 332 animals from four breeds were analyzed: Caracu (115 females and 159 males), Junqueira (13 females and 3 males), Pantaneiro (8 males) and Patua (21 females and 13 males). The Giemsa coloring were used to read the chromosome. All cattle breeds studied showed the normal chromosome ($2n=60$) consisting of 58 acrocentric autosomes and two submetacentric X chromosomes in females, and one X and one Y in males. In Caracu breed, selected for dairy

or beef, it was developed by animals dimorphism carriers of Y chromosome (acrocentric and submetacentric), and the beef bloodlines showed higher percentage of acrocentric Y chromosome. There was 1% significant difference in Chi-Square test. In two females and two male born from twin birth of Caracu breed it was observed chimerism 60, XX/ 60, XY, and in other female from same breed it was observed 60, XX/ 61 XXY. For other three breeds, no chromosomal abnormality was observed. The Y chromosome morphology of the Pantaneiro and Patua breeds showed dimorphism of Y chromosome (submetacentric and acrocentric). In the Junqueira breed, only submetacentric morphology was observed.

Keywords: chromosomal abnormalities, karyotype, Y chromosome, natives breeds.

INTRODUÇÃO

As raças bovinas naturalizadas brasileiras derivam de raças que foram introduzidas por colonizadores europeus. Essas raças evoluíram ao longo dos séculos, adaptando-se ao clima e ao manejo das diferentes regiões do País. Nesse processo de seleção natural, muitas delas foram cruzadas com outras raças adquirindo características fenotípicas e fisiológicas próprias que as diferenciam umas de outras (EGITO *et al.*, 2002).

Segundo DOMINGUES (1961), as raças nativas brasileiras, atualmente denominadas naturalizadas, podem ser classificadas em dois grupos principais: as nativas naturais e as nativas melhoradas. Ao primeiro grupo, pertencem populações resultantes da ação do meio ambiente, destacando-se algumas raças bovinas, como a Curraleira, Franqueira, Junqueira, Patuá, Pantaneira, enquanto, ao segundo grupo, bovinos das raças Caracu e Mocho Nacional.

Após um processo de quase extinção, a raça Caracu foi recuperada pelo Instituto de Zootecnia (SAA-SP), inicialmente mantida em Nova Odessa, SP, depois transferida para Sertãozinho, SP, na década de 1970. Nesse período, após levantamento dos planteis particulares remanescentes, iniciou-se um programa de melhoramento genético, visando a seleção para características de desempenho ponderal (TROVO e DUARTE, 1981), como ocorria com as raças Nelore, Guzerá e Gir. Todavia, alguns criadores entusiastas da raça mantiveram planteis isolados destinados ao aprimoramento das características leiteiras.

O cariótipo da espécie bovina é constituído de 29 pares de cromossomos autossomos

acrocentricos, e o par sexual XX ou XY, sendo o X e Y submetacêntricos nos bovinos de origem europeia, enquanto que nos de origem zebuína o cromossomo Y é acrocêntrico (MELANDER, 1959; MONSIEUR-CAMBON, 1964). Esta característica tem sido utilizada em estudos de caracterização cromossômica, permitindo identificar os grupos *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*.

Estudos de citogenética realizados com animais das raças Caracu, Crioulo Lageano, Junqueira, Pé-duro e Pantaneiro (TAMBASCO *et al.*, 1985; CARVALHO *et al.*, 1994; JORGE, 1994; BRITTO e MELLO, 1999; PIRES *et al.*, 2004, 2011; ISSA *et al.*, 2006, 2008 e 2009), evidenciaram cariótipo $2n=60$, típico da espécie bovina. Igualmente, a introdução de alelos zebuínos nessas raças foi inferida pela observação de dimorfismo no cromossomo Y, acrocêntrico e submetacêntrico. Por outro lado, a incidência de anomalias cromossômicas que podem afetar a fertilidade tem sido pouco relatada nessas raças.

O presente estudo objetivou descrever algumas particularidades cromossômicas, comparar a morfologia do cromossomo Y das raças naturalizadas, Caracu, Junqueira, Pantaneiro e Patuá, bem como verificar a incidência de anomalias cromossômicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram estudadas amostras de 332 bovinos das raças Caracu, Junqueira, Pantaneira e Patuá, pertencentes aos planteis do Instituto de Zootecnia, criadores particulares dos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso e São Paulo além de touros pertencentes a Centrais de Inseminação Artificial do Estado de São Paulo (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo das amostras estudadas

Raça	Nº de animais	Fêmea	Macho	Procedência ¹
Caracu	32	7	25	Poços de Caldas, MG (P)
	101	50	51	Nova Odessa, SP (IZ)
	137	58	79	Sertãozinho, SP (IZ)
	04	0	4	Centrais de IA, SP (P)
Junqueira	16	13	3	São Gotardo, MG (P)
Pantaneiro	08	0	8	Poconé, MT (P)
Patuá	34	21	13	São Gotardo, MG (P)
Total	332	149	183	

¹IZ = Instituto de Zootecnia; P = criadores particulares.

Abaixo seguem a descrição sumária e ilustrações das raças utilizadas no presente estudo:

1) Raça Caracu (Figura 1). É provavelmente originária do antigo gado Minhoto e Alentejano que chegaram ao Brasil no período colonial. Este gado português modificou-se em nosso meio, tornando-se uma raça distinta (ATHANASSOF, 1957). A pelagem destes animais pode variar de amarelo claro a vermelho alaranjado. Atualmente, o Caracu é a raça naturalizada que apresenta o maior tamanho efetivo populacional, devido, principalmente, às suas características produtivas de dupla aptidão (carne e leite); e, sobretudo às suas características de adaptação às condições tropicais.

2) Raça Junqueira (Figura 2). Possui semelhança com a raça Alentejana devido à sua pelagem amarela ou malhada, supondo-se que tenha havido uma seleção no sentido de obter animais com chifres muito grandes (ATHANASSOF, 1957).

3) Raça Pantaneira (Figura 3). Conhecida, também, como Tucura ou Cuiabano, específica do Pantanal Brasileiro e descendente de bovinos de raças europeias, que vieram para o Brasil na época colonial. Estes animais adaptaram-se formando um grupo genético distinto devido à seleção natural e às condições ecológicas do Pantanal (MAZZA *et al.*, 1992).

4) Raça Patuá (Figura 4). Conhecida no Estado de São Paulo como Igarapé, deriva de bovinos anões do Cabo de São Vicente, variedade da raça Algárvia introduzida no Brasil na época colonial (ATHANASSOF, 1957). Em Minas Gerais, na Bacia do Jequitinhonha, é denominada de Patuá, que significa animais de pequeno porte.

**Figura 1. Touro da raça Caracu.****Figura 2. Touro da raça Junqueira.****Figura 3. Touro da raça Pantaneira.**



Figura 4. Fêmeas da raça Patuá.

A análise dos cromossomos de animais das quatro raças estudadas foi realizada em metáfases obtidas de culturas de linfócitos de sangue periférico, de acordo com a técnica de MOORHEAD *et al.* (1960), com modificações. Amostras de sangue foram coletadas assepticamente na veia jugular, em tubos *vacutainer* heparinizados e estéreis e enviadas ao laboratório no período máximo de 24 horas. Logo após a chegada, vinte gotas de sangue foram transferidas para cada frasco de cultura, previamente preparado com 4 mL de meio MEM, 1 mL de soro fetal bovino e 0,1 mL de fitohemaglutinina e antibióticos. Foram incubados a 38°C, dois frascos de cultura por animal e, após 47 horas, foi adicionado, 0,1 mL de solução de colquicina 0,0016%, continuando com a incubação por mais uma hora. Após este período, o material foi centrifugado por oito minutos a 800 rpm e o sobrenadante desprezado.

A hipotonização das células foi realizada pela adição de 10 mL de solução aquecida de cloreto de potássio (0,075 M) e incubação por mais 8 minutos, a 38°C. Para fixação, um volume de 0,5 mL de fixador (3 partes de metanol: 1 parte de ácido acético) foi adicionado, inicialmente, ao material em suspensão hipotônica, em seguida, foi homogeneizado e centrifugado a 800 rpm, por 8 minutos, e o sobrenadante desprezado. Mais 5 mL de fixador foram acrescentados, o material ressuspensionado e novamente centrifugado, desprezando-se o sobrenadante. Este último procedimento, foi repetido uma ou mais vezes, até se obter o material convenientemente lavado e fixado. Finalmente, foi acrescentado 0,5 mL de fixador e o material mantido na geladeira por duas horas, antes do preparo das lâminas. O material obtido foi gotejado (8 gotas) sobre lâminas de vidro geladas, destinadas à coloração convencional e técnica de obtenção de banda C.

Na coloração convencional, as preparações citológicas foram coradas, durante oito minutos,

com solução de Giemsa a 3%. A análise dos cromossomos, em metáfase, foi realizada em microscópio óptico trinocular, com objetiva de imersão e câmara clara para desenho e contagem dos cromossomos, as melhores células foram fotografadas para a montagem do cariótipo. Foram analisadas cerca de 30 células de cada animal.

Para a análise de banda C foi empregada a técnica descrita por SUMNER (1972), com algumas modificações. As preparações citológicas que tinham, no mínimo, sete dias foram submetidas a tratamento com solução de HCl 0,2N por 20 minutos e lavadas em água destilada, após secagem durante 5 minutos, as lâminas foram imersas em uma cuba contendo solução recém-preparada de Ba(OH)₂ 8H₂O a 5%, a 50°C por 20 minutos, em seguida as lâminas foram incubadas durante uma hora em solução de 2XSSC, a 60°C e posteriormente coradas com solução Giemsa a 3% em tampão fosfato 0,2M, pH 6,8, por 20 minutos. A análise dos padrões de banda C foi realizada nas metáfases fotografadas no microscópio.

Para as análises das bandas R por incorporação de 5-bromodeoxiuridina (BrdU), utilizou-se o seguinte procedimento: em cada frasco de cultura foi adicionada uma solução de BrdU, na concentração de 20 µg/mL de meio, bem como uma solução de 5-fluorodeoxiuridina, na concentração de 10 µg/mL de meio, 8 horas antes do término de cultivo. A solução de colquicina foi adicionada nos 20 minutos finais e, a seguir, as preparações citológicas foram processadas como descrito anteriormente. Para a diferenciação das bandas R, foi empregada a coloração FPG (Fluorochrome Plus Giemsa) descrita por DUTRILLAUX e COUTURIER (1981), com algumas modificações. As lâminas foram coradas em solução Hoescht 33.258, na concentração de 10 µg/mL, durante 20 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram incubadas com 2X SSC, em câmara úmida, sob luz negra, por duas horas. As preparações foram novamente incubadas em solução 2X SSC, a 60°C, durante 20 minutos, lavadas e coradas em solução Giemsa. A análise dos padrões de Bandas R foi feita nas metáfases fotografadas no microscópio.

O teste qui-quadrado (GOMES, 1976) foi utilizado para análise de significância estatística das diferenças de morfologias do cromossomo Y.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Raça Caracu

Os resultados obtidos no presente estudo

confirmaram o número diplóide característico da espécie bovina ($2n=60$), com a constituição $60,XX$ para fêmeas e $60,XY$ para machos, sendo 58 autossomos acrocêntricos, cromossomo X submetacêntrico e o cromossomo Y com dimorfismo acrocêntrico e submetacêntrico (Figuras 5 e 6)



Figura 5. Célula em metáfase de macho da raça Caracu, $2n = 60,XY$. Seta \longrightarrow indicando cromossomo Y submetacêntrico, seta \Rightarrow indicando o cromossomo X.

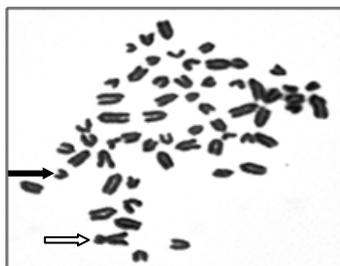


Figura 6. Célula em metáfase de macho da raça Caracu, $2n = 60,XY$. Seta \longrightarrow indicando cromossomo Y acrocêntrico, seta \Rightarrow indicando o cromossomo X.

CARVALHO *et al.* (1994) analisaram bovinos Caracu oriundos de dois núcleos de criação, sendo um deles localizado em Poços de Caldas, MG e o outro em Papagaios, MG. No primeiro núcleo, os autores observaram os dois tipos de cromossomos: morfologia acrocêntrica (75%) e submetacêntrica (25%), enquanto que no outro núcleo, apenas Y submetacêntrico. Em outro estudo, ISSA *et al.* (2008), analisando 29 machos desta raça, observaram 15 bovinos portadores de Y acrocêntrico e 14 de Y submetacêntrico. Como pode ser visto na Tabela 2, dos 159 machos da raça Caracu investigados no presente estudo, 84,3% eram portadores de cromossomo Y acrocêntrico, enquanto que o restante (15,7%) apresentou morfologia submetacêntrica.

Com relação aos animais da raça Caracu selecionados para corte (CC), 91,8% dos machos apresentaram o cromossomo Y acrocêntrico e 8,2%, submetacêntrico. Já os animais selecionados para leite (CL), a frequência de Y acrocêntrico foi de 44% e para Y submetacêntrico de 56% (Tabela 2). Comparando estes resultados, o teste qui-quadrado revelou diferenças ao nível de 1%.

Em duas fêmeas da raça Caracu, nascidas de partos gemelares heterossexuais, foi observado quimerismo $60,XX/60,XY$ (uma com 89,1% de células masculinas (XY) e 10,9% de células femininas (XX); e outra com 59,2% de XY e 40,8% de XX). Estas fêmeas apresentaram ainda, masculinização do fenótipo e aparelho genital, diagnosticadas como *freemartins*. Esta anomalia, também descrita por diversos autores (KHAN e FOLEY, 1994; PADULA, 2005; PERETTI *et al.*, 2008; PIRES *et al.*, 2009), é característica de fêmeas bovinas estéreis, nascidas de partos gemelares heterossexuais, que apresentam quimerismo $60,XX/60,XY$ nas células sanguíneas e vários graus de masculinização sendo, provavelmente, a anomalia mais frequente do desenvolvimento do aparelho genital de fêmeas bovinas.

Os dois machos, irmãos das fêmeas descritas anteriormente, também apresentaram quimerismo $60,XX/60,XY$, mas, fenótipos normais. O efeito da presença de células femininas em machos nascidos de gestação gemelares com uma fêmea é controverso, mas, há estudos mostrando a redução da fertilidade manifestada através da baixa qualidade do sêmen ou mesmo esterilidade (DUNN *et al.*, 1979; BONGSO *et al.*, 1981; KHAN e FOLEY, 1994). VALE FILHO *et al.* (1983) estudaram o desenvolvimento testicular de touros gêmeos dizigóticos em que seu par era uma novilha *freemartin* ou outro touro e observaram que o processo de espermatogênese foi retardado nos gêmeos dizigóticos, quando comparados com os animais nascidos de partos simples.

Em bovinos, as anomalias cromossômicas envolvendo duas ou mais linhagens de células são raras, a não ser o quimerismo $60,XX/60,XY$, que ocorre em cerca de 90% dos produtos de partos gemelares heterossexuais (EDWARDS *et al.*, 1994; PIRES *et al.*, 2009). No presente estudo, o cariótipo $60,XX$ foi observado em uma fêmea oriunda de gestação gemelar com macho, esta fêmea tornou-se adulta com todas as características femininas e, inclusive, apresentou várias parições. Esta observação é indicativa que, em algumas situações, pode não ocorrer anastomoses vasculares entre os gêmeos.

Outra fêmea Caracu com 8 anos, nascida de parto simples, nulípara apresentou constituição

Tabela 2. Frequência de cromossomo Y submetacêntrico (Cr Y Sub) e acrocêntrico (Cr Y Acro) em bovinos das raças Caracu, Junqueira, Pantaneiro, Patuá

Raça	Nº de animais	Procedência ¹	Cr Y Sub	Cr Y Acro
Caracu CC ²	79	Sertãozinho, SP (IZ)	4 (5,1%)	75 (94,9%)
	51	Nova Odessa, SP (IZ)	6 (11,8%)	45 (88,2%)
	04	Centrais de IA, (P)	1 (25,0%)	3 (75,0%)
Total CC	134		11 (8,2%)	123 (91,8%)
Caracu CL ³	25	Poços de Caldas, MG (P)	14 (56%)	11 (44%)
Junqueira	3	São Gotardo, MG (P)	3 (100%)	0 (0%)
Pantaneiro	8	Poconé, MT (P)	1 (12,5%)	7 (87,5%)
Patuá	13	São Gotardo, MG (P)	4 (30,8%)	9 (69,2%)
Total	183		33 (18,0%)	150 (82,0%)

¹IZ = Instituto de Zootecnia; P = criadores particulares. ²CC = Caracu selecionado para corte. ³CL = Caracu selecionado para leite.

cromossômica 60,XX/61,XXY, genitália externa feminina normal, porém, com aparência e comportamento masculino, apesar de apresentar aparelho reprodutivo normal pela palpação retal e exame ultrassonográfico. BUNCH *et al.* (1991), estudando uma ovelha selvagem hermafrodita, com mosaico XX/XXY, produto de um parto simples, observaram que o animal apresentava aparência feminina, porém, com desenvolvimento de chifres semelhante aos machos e comportamento agressivo. Com referência ao aparelho reprodutivo, esta ovelha apresentou ainda clitóris aumentado, genitália interna com cornos uterinos e cervix e, ainda, duas estruturas gonadais com componentes masculinos e femininos. DAIN e BRIDGE (1978) descreveram uma novilha gêmea de um macho natimorto, que apresentava mosaicismo XX/XXY nos tecidos da pele e nas gônadas, e quimerismo XX/XY/XXY nos linfócitos. O animal apresentava, também, alongamento da uretra, ausência de vulva e gônadas pequenas, mostrando desenvolvimento testicular precoce. MEINECKE *et al.* (2007) descreveram outra novilha com constituição cromossômica normal 60,XX nos linfócitos, enquanto que nas células do útero foi encontrado 60,XX/90,XXY. Este animal foi classificado como intersexo, pois apresentava vulva aplástica e uretra semelhante a do macho, abrindo-se em um pseudo prepúcio, localizada entre as glândulas mamárias. A genitália interna apresentava desenvolvimento normal, com ovários funcionais, evidenciando folículos e corpo lúteo. Um caso de mosaicismo 60,XX/61,XXY/78,XXY foi encontrado em um touro de Central de Inseminação Artificial, num total de 2364 animais analisados,

sendo que o fenótipo deste animal apresentou-se normal (NICOLAE e POPESCU, 2001).

Outros tipos de anomalias cromossômicas não foram detectados nos animais avaliados no presente estudo, resultado diferente do encontrado por ISSA *et al.* (2008) que relataram a translocação Robertsoniana 1/29 em um estudo com animais da raça Caracu. Este fato deve ser visto com atenção uma vez que este tipo de anomalia é herdável e associada à redução da fertilidade (SANTOS *et al.*, 1989).

Raças Junqueira e Patuá

Os cariótipos nas raças Junqueira e Patuá foram semelhantes, diferenciando-se apenas na morfologia do cromossomo Y. Os machos da raça Junqueira apresentaram somente Y submetacêntrico e, os machos da raça Patuá, Y submetacêntrico e acrocêntrico.

Todos os 16 animais pertencentes à raça Junqueira foram analisados citogeneticamente pela coloração convencional. Observou-se número diplóide $2n=60$, com 58 autossomos acrocêntricos, cromossomos X submetacêntricos e Y submetacêntrico, padrão típico da espécie *Bos taurus taurus*, segundo MELANDER (1959). Assim, considerando que os bovinos zebuínos apresentam o Y acrocêntrico (MONSIEUR-CAMBON, 1964), os animais desta raça podem ser considerados de origem europeia. Em estudo de caracterização genética por meio de análises de polimorfismos de proteínas, LARA *et al.* (2000) não detectaram os alelos Ca^z e Alb^c , considerados marcadores de raças zebuínas,

sugerindo uma origem europeia. ISSA *et al.* (2009), também encontraram resultados semelhantes aos do presente estudo. Em um estudo de 69 machos do ecótipo Mantiqueira, PIRES *et al.* (1994) encontraram somente Y submetacêntrico, o que reforça a hipótese desta morfologia encontrada nos bovinos machos de raças europeias, as quais deram origem às raças naturalizadas brasileiras. Tal fato demonstra que em certos grupos genéticos, como é o caso do Junqueira e Mantiqueira, a morfologia do cromossomo Y acrocêntrico não foi detectado, sugerindo ausência de cruzamentos com raças zebuínas.

Os resultados obtidos através da coloração convencional nos 34 animais da raça Patuá eram de certa forma esperados, apresentando $2n=60$ com 29 pares de autossomos acrocêntricos, cromossomo X submetacêntrico e Y com dimorfismo acrocêntrico e submetacêntrico. Isto porque, em diferentes raças naturalizadas brasileiras com características europeias, os machos podem apresentar tanto cromossomo Y acrocêntrico como submetacêntrico, já descrito para a raça Caracu, Crioulo Lageano, Mocho-Nacional, Pantaneiro (TAMBASCO *et al.*, 1985; BRITTO e MELLO, 1999; ISSA *et al.*, 2006 e 2009; PIRES *et al.*, 2011). Segundo LARA *et al.* (2005), em função dos cruzamentos indiscriminados com bovinos zebuínos as raças naturalizadas Curraleira, Pantaneira, Junqueira e Patuá encontram-se em condições vulneráveis de extinção, estando as duas últimas praticamente extintas. Estes cruzamentos foram responsáveis pela introdução do cromossomo Y com morfologia acrocêntrica nestas raças.

Para caracterizar o padrão de bandas C nas raças Junqueira e Patuá, foi empregada técnica de marcação de heterocromatina constitutiva às preparações citológicas de alguns animais. Esta técnica evidenciou banda C positiva na região centromérica dos autossomos, não havendo marcação nos cromossomos sexuais. O cromossomo Y considerado praticamente todo heterocromático nos mamíferos, teve coloração intermediária entre as bandas C positivas e as dos braços eucromáticos dos demais cromossomos, tal como observado por POTTER e UPTON (1979) e GOLDSCHMIDT (1982).

Para investigar os pareamentos cromossômicos foi utilizado o bandamento R com incorporação de BrdU em algumas amostras das raças Junqueira e Patuá, sendo identificados por seus padrões característicos de replicação. Os cromossomos sexuais nas fêmeas foram reconhecidos prontamente, por meio dos padrões de duplicação do X precoce e tardio. O cromossomo X precoce apresentou um

número variável de bandas positivas e negativas, semelhante aos autossomos do cariótipo e, o X tardio coloração negativa em grande parte de sua extensão, porém, na maioria das vezes, apenas uma banda positiva na região mediana do braço longo. O cromossomo Y apresentou coloração negativa em quase toda sua extensão, confirmando a natureza heterocromática deste cromossomo. O emprego de BrdU *in vitro* como método de obtenção de bandas R mostrou-se satisfatório para a correta identificação dos pares cromossômicos.

Raça Pantaneira

As análises da raça Pantaneira revelaram cariótipos normais $2n=60$, mas com dimorfismo do cromossomo Y, sendo 87,5% acrocêntricos e 12,5% submetacêntricos. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Issa *et al.* (2006), que observaram frequência de 75% de cromossomo Y acrocêntrico e de 25% de Y submetacêntrico, embora em estudo posterior ISSA *et al.* (2009) observaram apenas a presença de Y acrocêntrico em 17 machos. Segundo LARA (1998) há diferenças quanto à frequência dos alelos CA^Z e Pep-B¹, considerados específicos de zebuínos, entre animais pantaneiros da região de Poconé e Nhumirim. Na população de Poconé ocorreram maiores frequências destes alelos, indicando maior participação de genes zebuínos, portanto está de acordo com a alta frequência de cromossomo Y acrocêntrico encontrada no presente estudo, visto que esta morfologia é encontrada nas raças zebuínas.

CONCLUSÃO

Considerando que a morfologia acrocêntrica do Y é marcador de raças zebuínas, os resultados obtidos sugerem a participação de alelos zebuínos nas raças Caracu, Pantaneira e Patuá. A população da raça Junqueira, no entanto, por apresentar a morfologia do Y característico de gado europeu, demonstra que não houve miscigenação com o zebuínuo, embora o número de animais investigado tenha sido pequeno.

Certas anomalias cromossômicas como o quimerismo 60,XX/60,XY observada no presente estudo podem ser evidenciadas pela análise citogenética. Consequentemente, essa técnica constitui um método seguro para o diagnóstico de freemartismo.

REFERÊNCIAS

- ATHANASSOF, N. **Manual do criador de bovinos, a fazenda de criar raças e tipos de alimentação, criação, engorda, produção de leite. Trabalho higiene e moléstias.** 6.ed. São Paulo: Melhoramentos: 1957. 818p.
- BONGSO, T.; JAINUDEEN, M.R.; LEE, J.Y.S. Testicular hypoplasia in a bull with XX/XY chimerism. **Cornell Veterinarian**, v.71, p.376-382, 1981.
- BRITTO, C.M.C.; MELLO, M.L.S. Morphological dimorphism in the Y chromosome of "pé-duro" cattle in Brazilian State of Piauí. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.369-373, 1999.
- BUNCH, T.D.; CALLAN, R.J.; MACIULIS, A.; DALTON, J.C.; FIGUEROA, M.R.; KUNZLER, R.; OLSON, R.E. True hermaphroditism in a wild sheep: a clinical report. **Theriogenology**, v.36, p.185-190, 1991.
- CARVALHO, T.B.; PEREIRA, J.C.C.; PINHEIRO, L.E.L. Avaliação de algumas características ponderais em rebanho Caracu com cromossomo Y heteromórfico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, p.271-278, 1994.
- DAIN, A.R.; BRIDGE, P.S. A chimeric calf with XX/XXY mosaicism and intersexuality. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.197-201, 1978.
- DOMINGUES, O. **As raças nativas: o gado nos trópicos.** Rio de Janeiro: Instituto de Zootecnia, 1961. p.267-284. (Série monografia)
- DUNN, H.O.; McENTEE, C.E.; HALL, R.H.; JOHNSON Jr., R.H.; STONE, W.H. Cytogenetic and reproduction studies of bulls born co-twin with freemartins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.57, p.21-30, 1979.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER J. **La pratique de l'analyse chromosomique.** Paris: Masson, 1981. 86p.
- EDWARDS, J.F.; GALLAGHER, D.S.; PRAKASH, B. Urethral atresia with uroperitoneum in a newborn bovine freemartin. **Veterinary Pathology**, v.31, p.117-119, 1994.
- EGITO, A.A.; MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de Zootecnia**, v.51, p.39-52, 2002.
- GOLDSCHMIDT, B. **Estudo cromossômico em bovinos da raça Gir.** 1982. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência-Genética) - Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1982.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental.** Piracicaba: Nobel, 1976. cap.15, 430p.
- ISSA, E.C.; JORGE, W.; SERENO, J.R.B. Cytogenetic and molecular analysis of the Pantaneiro cattle breed. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1609-1615, 2006.
- ISSA, E.C.; FIORAVANTI, M.C.S.; CARVALHO, T.B.; ELSTON, L.B.; STORCK, D.E.; JORGE, W.; CAMARGOS, M.F.; SANCHES, R.L.; SERENO, J.R.B. Caracterização cromossômica de bovinos da raça Caracu. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Cerrados, 2008. 8p.
- ISSA, E.C.; JORGE, W.; EGITO, A.A.; SERENO, J.R.B. Cytogenetic analysis of the Y chromosome of native Brazilian bovine breeds: preliminary data. **Archivos de Zootecnia**, v.58, p.93-101, 2009.
- JORGE, W. Note on Caracu, a Brazilian bovine with Y chromosome from *Bos Taurus Taurus*. **Indian Journal of Animal Science**, v.44, p.5-7, 1994.
- KHAN, M.Z.; FOLEY, G.L. Retrospective studies on the measurements, karyotyping and pathology of reproductive organs of bovine freemartins. **Journal of Comparative Pathology**, v.110, p.25-36, 1994.
- LARA, M.A.C. **Variabilidade genética em bovinos e bubalinos através de polimorfismos protéicos: análise populacional e suas implicações no melhoramento.** 1998. 215f. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração: Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto 1998.
- LARA, M.A.C.; PIRES, R.M.L.; BUFARAH, G.; SERENO, J.R.B.; ABREU, U.G.P.; CONTEL, E.P.B. Caracterização de bovinos Junqueira e Patuá com o emprego de marcadores proteicos e análises citogenéticas: I. resultados preliminares. In: SIMPOSIO IBERO-AMERICANO SOBRE CONSERVACAO DE RECURSOS GENETICOS ANIMAIS, 1., 2000, Corumbá, MS. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2000. p.14.
- LARA, M.A.C.; RIBEIRO, J.A.; REICHERT, R.H.; PIRES, R.M.L.; ARCARO, J.R.P.; CARVALHO, J.B.P.; DEMARCHI, J.J.A.A.; MÉO, S.C.; BUFARAH, G.; SERENO, J.R.B.; SANTOS, S.A.; ABREU, U.G.P.; MIRANDA-SANTOS, I.K.F.; CONTEL, E.P.B. Relaciones genéticas entre

- razas bovinas con empleo de marcadores genéticos. In: SIMPOSIO IBEROAMERICANO SOBRE CONSERVACIÓN Y UTILIZACIÓN DE RECURSOS ZOOGENÉTICOS, 6., 2005, Chiapas, México. **Anais...** Chiapas, México: CYTED, Universidad Autónoma de Chiapas, 2005. p.159-163.
- MAZZA, M.C.M.; MAZZA, C.A.S.; SERENO, J.R.S.; SANTOS, S.A.; MOURA A.C. Phenotypical characterization of pantaneiro cattle in Brazil. **Archivos de Zootecnia**, v.41, p.477-484, 1992. Supplement.
- MEINECKE, B.; DRÖGEMÜLLER, C.; KUIPER, H.; BÜRSTEL, D.; WOHLSEIN, P.; EBELING, S.; WEHREND, A.; MEINECKE-TILLMANN, S. A diploid-triploid (60,XX/90XXY) in intersex in a Holstein heifer. **Sexual Development**, v.1, p.59-65, 2007.
- MELANDER, Y. The mitotic chromosome of some cavicorn mammals (*Bos taurus* L., *Bison bonasus* L.; and *Ovis aires* L.). **Hereditas**, v.45, p.649-664, 1959.
- MONSIEUR-CAMBON, J. Étude des chromosomes de *Bos Indicus*. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences.**, v.259, p.3840-3843, 1964.
- MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, P.C.; BATTIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A., Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Experimental Cell Research**, v.20, p.613-616, 1960.
- NICOLAE, I.; POPESCU, P.C. Cytogenetics studies on romanian cattles breeds. **Archivos de Zootecnia**, v.50, p.355-361, 2001.
- PADULA, M.A. The freemartin syndrome: an update. **Animal Reproduction Science**, v.85, p.93-109, 2005.
- PERETTI, V.; CIOTOLA, F.; ALBARELLA, S.; PACIELLO, O.; DARIO, C.; BARBEIRI, V.; IANNUZZI, L. XX/XY chimerism in cattle: clinical and cytogenetic studies. **Sexual Development**, v.2, p.24-30, 2008.
- PIRES R.M.L.; OLIVEIRA, J.V.; CASTRO, T.A.M.G.; RIBEIRO, W.R.; PIRES, F.L. Estudos citogenéticos em bovinos do tipo tropical leiteiro e ecótipo Matiqueira. **Boletim de Indústria Animal**, v.51, p.165-168, 1994.
- PIRES, R.M.L.; LARA, M.A.C.; ALVAREZ, R.H.; KASARARA, S. Caracterización cromosómica de bovinos de la raza Junqueira. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v.12, p.42-44, 2004.
- PIRES, R.M.L.; PIRES, R.L.; MÉO, S. Quimerismo 60, XX/60,XY e freemartismo em bovinos nascidos de partos gemelares heterossexuais. **Boletim de Indústria Animal**, v.66, p.45-52, 2009.
- PIRES, R.M.L.; ALVAREZ, R.H.; MONTEIRO, F.M.; MARTINEZ, A.C.; MELO, A.F. Caracterização citogenética de gado Caracu selecionado para produção de carne ou leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48., 2011, Belém. **Anais...** Belém: SBZ, 2011. 3p.
- POTTER, W.L.; UPTON, P.C. Y chromosome morphology of cattle. **Australian Veterinary Journal**, v.55, p.539-540, 1979.
- SANTOS, R.C.S.; OHTSUBO, I.; MOURA, J.W.; CASTRO, N.H.C.; BARNABE, V.H.; VISINTIN, J.A.; PERES, C.A.; BEÇAK, W. Prospective study of the effects of the 1/29 Robertsonian translocation upon the fertility of Marchigiana males. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.26, p.111-120, 1989.
- SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v.75, p.304-306, 1972.
- TAMBASCO, A.J.; BARBOSA, P.F.; TROVO, J.B.F. Estudo cromossômico em raças naturalizadas de bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22., 1985, Camboriú. **Anais...** Camboriú: SBZ, 1985. p.154.
- TROVO, J.B.F.; DUARTE, F.A.M. Levantamento de núcleos de criação de bovinos da raça Caracu no Brasil. **Zootecnia**, v.19, p.245-263, 1981.
- VALE FILHO, V.R.; BARSUR, P.K.; PINHEIRO, L.E.L.; WILTON, J.W. Desenvolvimento testicular e quimerismo em touros gêmeos com novilha "freemartin", ou com outro touro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.7, p.41-50, 1983.