

*Este exemplar corresponde a  
relatório final da Tese defendida  
pela candidata Norma Mortari  
e aprovada pela Comissão Julgadora.  
Fernando de F. Juliano*

NORMA MORTARI



ESTUDO DE TIPOS SANGÜINEOS EM BOVINOS SELECIONADOS PARA LEITE E  
PARA CORTE DA RAÇA GIR (*Bos Indicus*) CRIADA NO BRASIL

Tese de Doutorado apresentada  
ao Instituto de Biologia, da  
Universidade Estadual de  
Campinas, para obtenção do  
título de Doutor em Ciência  
(Área de Genética).

*BC/9100.0109*

UNICAMP  
1990

M841e  
13158/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais,  
Norma e Fernando,  
com carinho e gratidão.

A realização desta pesquisa teve o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico e da Organização dos Estados Americanos, e, também, da Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior, através de bolsa de estudo do Programa Institucional de Capacitação Docente.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Bernardo Beiguelman, pela orientação, sugestões e críticas, durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Francisco Alberto Moura Duarte, pela orientação na parte inicial deste trabalho e pela iniciativa de implantar a área de tipagem sanguínea de bovinos e eqüinos no Brasil, proporcionando nossa formação nessa área.

Ao Prof. Luiz Edmundo de Magalhães, pelo apoio à implantação do Laboratório de Imunogenética, na Universidade Federal de São Carlos, e pela colaboração nos trabalhos iniciais desse laboratório.

Ao Prof. Clyde Stormont e aos técnicos Bob Morris e Yoshico Suzuki, pelo treinamento em tipagem sanguínea de bovinos e eqüinos no Serology Laboratory, da University of California, que proveu os fundamentos para a realização desta pesquisa.

A Fazenda Canchim, da EMBRAPA, UEPAE/São Carlos, SP e ao Centro de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, pela colaboração ao permitir o uso de bovinos para produção de reagentes de tipagem sanguínea.

Aos colegas Profa. Silvia Nassif Del Lama e Prof. Marco Antonio Del Lama, pela colaboração e incentivo na realização desta pesquisa e pelas valiosas sugestões.

Ao colega Prof. Calógeras Antonio de Albergaria Barbosa, pelas sugestões dadas.

Aos professores e colegas dos Departamentos de Genética e Evolução e de Genética Médica, da UNICAMP, pela agradável

convivência.

Ao técnico Pedro Gervásio Faulin, pela inestimável colaboração em todas as etapas da parte experimental desta pesquisa e pela dedicação demonstrada.

Aos técnicos Marina Pieroni Santilli, Valentin Gueller Neto, e também, a José Luis Doricci, pelo auxílio valioso nas análises eletroforéticas.

Aos colegas do Departamento de Ciências da Saúde, da UFSCar, pelo apoio recebido.

Ao Instituto de Zootecnia da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, a Agropastoril Nhozinho Barbosa, e aos proprietários das Fazendas Americana, Cachoeira, Calciolândia, Campo Alegre, Estância Boa Sorte, Santana da Serra, Tabarana e Tangará, pela colaboração ao colocar seus rebanhos à disposição desta pesquisa.

Ao jovem estudante de Computação, da UFSCar, Mauro Marolla Filho, pelo excelente trabalho de digitação e edição desta tese, e pelas sugestões apresentadas.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## INDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Grupos sanguíneos .....	5
2.1.1. Histórico e aspectos gerais dos grupos sanguíneos de bovinos .....	6
2.1.2. Sistemas de grupos sanguíneos de bovinos .....	15
2.2. Polimorfismos bioquímicos do sangue .....	36
2.2.1. Albumina .....	40
2.2.2. Anidrase carbônica .....	42
2.2.3. Hemoglobina .....	45
2.2.4. Transferrina .....	49
2.3. Aplicações dos estudos de grupos sanguíneos e de polimorfismos bioquímicos de bovinos.....	51
2.4. Estudos raciais .....	60
2.4.1. Raças .....	61
2.4.2. Estudos de tipos sanguíneos em raças de bovinos .....	64
2.4.2.1. Grupos sanguíneos .....	64
2.4.2.2. Polimorfismos bioquímicos .....	77
2.5. Dados sobre a raça Gir .....	85
<b>3. MATERIAL E METODOS</b> .....	<b>96</b>
3.1. Amostra .....	96
3.2. Coleta de sangue .....	99
3.3. Testes serológicos .....	100
3.3.1. Testes hemolíticos .....	101
3.3.2. Produção de reagentes .....	103
3.3.3. Obtenção de complemento .....	106

3.4. Testes eletroforéticos .....	107
3.4.1. Aspectos gerais da eletroforese em gel de amido .....	108
3.4.2. Métodos de separação .....	111
3.5. Análise dos dados .....	114
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	125
4.1. Grupos sangüíneos .....	125
4.1.1. Número médio de fatores sangüíneos .....	126
4.1.2. Frequências dos fatores sangüíneos .....	129
4.1.3. Determinação dos fenogrupos dos sistemas A, B, C e S .	134
4.1.4. Frequências alélicas nos sistemas B, F, J, L, M e Z ..	152
4.2. Polimorfismos bioquímicos .....	166
4.2.1. Albumina .....	167
4.2.2. Anidrase carbônica .....	171
4.2.3. Hemoglobina .....	174
4.2.4. Transferrina .....	177
4.3. Comparação entre os grupos de leite e de corte .....	180
4.3.1. Grupo de leite .....	181
4.3.2. Grupo de corte .....	189
4.3.3. Considerações gerais sobre os grupos de leite e de corte .....	196
4.4. Resultados da raça Gir como um todo .....	203
4.5. Coeficiente de heterozigosidade .....	207
5. CONCLUSOES .....	212
6. RESUMO .....	216
7. SUMMARY .....	218
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	220

## 1. INTRODUÇÃO

Diversos marcadores genéticos podem ser identificados no sangue. Duas categorias de marcadores têm sido mais intensamente estudadas em bovinos, os grupos sanguíneos eritrocitários, ou fatores antigênicos expressos na membrana dos eritrócitos, detectados por métodos serológicos, e os polimorfismos bioquímicos, ou formas variantes de proteínas, detectados por métodos eletroforéticos. Essas duas categorias de marcadores genéticos do sangue são genericamente denominadas tipos sanguíneos e a identificação desses marcadores dá-se o nome de tipagem sanguínea.

A descoberta dos grupos sanguíneos foi feita em 1900, por Landsteiner, com a descrição dos grupos A, B e O, na espécie humana. Seus experimentos mostraram que as hemácias de diferentes indivíduos de uma mesma espécie apresentavam especificidades antigênicas distintas em suas membranas, fornecendo as bases para o que viria a ser um dos caracteres hereditários mais conhecidos, o sistema ABO de grupos sanguíneos.

O conhecimento dos grupos sanguíneos na espécie humana estimulou a procura de características similares nos animais.

Entre as espécies animais, foi na espécie bovina que se obtiveram os primeiros resultados significativos sobre grupos sanguíneos. Isso ocorreu como fruto de estudos sistemáticos iniciados em 1938, no Departamento de Genética da Universidade de Wisconsin, Estados Unidos, envolvendo principalmente Irwin, Ferguson, Owen e Stormont.

O desenvolvimento do método de eletroforese em gel de

amido em 1955, por Smithies, abriu o campo para a investigação de uma outra categoria de marcador genético, que são as formas variantes de proteínas convencionalmente designadas por polimorfismos bioquímicos. Muitas variações que ocorrem nas proteínas são consequência de variações nos genes que as codificam e podem ser detectadas pela técnica de eletroforese. Em vista do seu amplo potencial em investigar a variabilidade genética das populações, a eletroforese causou um grande impacto na Genética a partir da década de 60.

O conhecimento dos polimorfismos imunogenéticos e bioquímicos, representa um meio adequado para se investigar a variabilidade genética das populações. Devido ao seu caráter polimórfico, ao modo simples de herança, ao fato de não sofrerem a ação direta da seleção artificial e à possibilidade de se testar um grande número de locos, eles prestam-se grandemente a estudos de caracterização racial e de comparação entre raças e populações. O conhecimento da variabilidade genética de uma população ou de uma espécie, em termos das frequências gênicas, representa uma forma de se conhecer a estrutura populacional, o que é um ponto de partida para estudos mais amplos, tais como, sobre a natureza das diferenças entre populações, as relações filogenéticas e a história evolutiva das populações e raças.

A quase totalidade dos trabalhos sobre grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos de bovinos relatada na literatura, refere-se a animais de raças taurinas, praticamente nada se conhecendo sobre as diversas raças zebuínas.

Apesar de as pesquisas sobre grupos sanguíneos de bovinos terem sido iniciadas há 50 anos, no Brasil esse campo é

recente. Entre nós, essa área teve início em 1978/79, com a implantação do Laboratório de Imunogenética, na Universidade Federal de São Carlos, com o apoio financeiro dessa instituição e da Organização dos Estados Americanos. O objetivo principal dos trabalhos que se seguiram era o de desenvolver um teste de tipagem sanguínea para grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos, que permitisse executar pesquisas em raças zebuínas e crioulas criadas no Brasil e, também, pudesse ser usado como rotina junto aos serviços de registro genealógico das associações de raças.

Dentro desses propósitos de pesquisa, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar a raça zebuina Gir, com relação a marcadores genéticos do sangue.

A raça Gir (*Bos indicus*), originária da Índia, constitui um grupo bastante numeroso dentro do rebanho zebuino brasileiro, vindo após a raça Nelore em número de animais registrados na Associação Brasileira de Criadores de Zebu.

No Brasil, vários técnicos e criadores são de opinião de que há duas variedades dessa raça se desenvolvendo, uma para produção de leite e outra para corte. Apesar de originalmente ser considerada uma raça de dupla aptidão, vários técnicos consideram inegável o trabalho de seleção leiteira que tem sido praticado por alguns criadores, determinando, assim, em muitos casos, uma nítida separação de propósitos. Nas fazendas em que não se faz seleção de gado de leite, o excedente desse produto é comercializado ou consumido, porém, não se pode dizer que exista uma procura deliberada por uma linhagem leiteira dentro desses

estoques, prevalecendo, portanto, o padrão tradicional do Gir que é o tipo de gado de corte.

Nota-se, entretanto, uma certa polêmica sobre esse assunto, notadamente por parte dos criadores tradicionais da raça. Evidentemente, foge do alcance deste trabalho avaliar a validade da separação entre essas variedades. Apesar dessas divergências de opinião, e diante da reconhecida existência de fazendas de Gir leiteiro, é interessante comparar-se os tipos sangüneos, levando em conta essas variedades.

Diante dessas considerações, os objetivos deste trabalho foram os seguintes:

- 1) Caracterização de marcadores imunogenéticos e eletroforéticos de bovinos da raça Gir como um todo e, separadamente, em amostras de animais de rebanhos leiteiros e de rebanhos de corte, com respeito a 9 sistemas de grupos sangüneos e 4 sistemas de proteínas do sangue.

- 2) Determinação dos fenogrupos do sistema B de grupos sangüneos da raça Gir, pela análise dos resultados em famílias de touros, nas duas populações e na raça como um todo.

- 3) Análise da frequência dos marcadores testados e do grau de heterozigosidade nas duas populações e na raça como um todo.

- 4) Avaliação das diferenças entre as populações de leite e de corte.

- 5) Comparação dos resultados da raça zebuina Gir com dados de raças taurinas encontrados na literatura especializada.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Grupos sanguíneos

A membrana das hemácias apresenta uma variedade de substâncias que podem ser chamadas de determinantes antigênicos. Alguns estão fixados geneticamente na espécie, isto é, ocorrem nas hemácias de todos os indivíduos. Outros segregam geneticamente, isto é, ocorrem nas hemácias de alguns mas não de todos os indivíduos da espécie (STORMONT, 1982). Esses determinantes que segregam constituem os grupos sanguíneos e representam uma variabilidade genética intra-específica.

A descrição dos grupos sanguíneos foi feita após o clássico experimento de Landsteiner, em 1900, que consistiu em misturar soro de um indivíduo com hemácias de outro. Com esse procedimento Landsteiner reconheceu os grupos A, B e O, fornecendo as bases para o que viria a ser o primeiro sistema genético de grupos sanguíneos já conhecido - o sistema ABO, da espécie humana. O grupo AB, mais raro, foi descrito em 1902 por dois de seus colaboradores, Von Decastello e Sturli. A interpretação monogênica do sistema ABO foi estabelecida definitivamente em 1924 e 1925 por Bernstein (cf. BEIGUELMAN, 1983, p. 100).

Apesar de ser atribuída a Landsteiner a descoberta dos grupos sanguíneos, a primeira descrição da existência de determinantes antigênicos nas hemácias de qualquer espécie foi feita por Erlich e Morgenroth, em 1900. Em um experimento de interesse imunológico, esses autores injetaram hemácias de uma

cabra em outra e pesquisaram, a intervalos regulares, a produção de autolisinas e isolisinas (atualmente alolisinas) no animal receptor. A falta de produção de autolisinas levou-os a formular o conceito de "horror autotoxicus", de interesse em imunologia. Mas as alolisinas foram de fato encontradas. Nesse trabalho os autores relataram quatro especificidades, designadas por A, B, C e D e, em uma nota subsequente, Erlich definiu 13 especificidades distintas, concluindo que as hemácias de cabras possuíam um grande número de receptores (determinantes antigênicos) em suas membranas (STORMONT, 1973a).

#### **2.1.1. Histórico e aspectos gerais dos grupos sanguíneos de bovinos**

Os trabalhos de Erlich e Morgenroth demonstraram dois aspectos importantes para o desenvolvimento do estudo dos grupos sanguíneos de animais domésticos. Primeiro, que a aloimunização (isoimunização naquela época) era a maneira efetiva de se obter anticorpos contra determinantes antigênicos da membrana da hemácia. E segundo, que o teste hemolítico era o teste indicado em espécies, tais como cabras, bovinos e carneiros, nas quais a hemácia não é suscetível à aglutinação. Infelizmente, essas observações foram apreciadas somente quarenta anos mais tarde (STORMONT, 1973a).

Em 1910, Todd e White, com experimentos de aloimunização em bovinos e testes hemolíticos usando complemento de cobaia, concluíram, mesmo que de forma indireta, que a membrana da hemácia bovina apresentava uma grande individualidade quanto à sua constituição antigênica. Outros trabalhos,

realizados antes de 1938, não tiveram êxito em descrever grupos sanguíneos de bovinos, porque foram conduzidos à semelhança do sistema ABO, procurando-se aglutininas naturais no soro (cf. STORMONT, 1978).

Entre as espécies animais, foi com a espécie bovina que os primeiros resultados significativos sobre grupos sanguíneos foram obtidos. Isso ocorreu como fruto de estudos sistemáticos iniciados em 1938, na Universidade de Wisconsin, Estados Unidos, envolvendo principalmente Irwin, Ferguson, Stormont e Owen. Esses pesquisadores, utilizando técnicas de aloimunização, absorção e testes hemolíticos produziram grande parte do conhecimento sobre grupos sanguíneos de bovinos (IRWIN, 1974; STORMONT, 1978).

Como resultado dessas pesquisas, FERGUSON (1941) e FERGUSON et al. (1942) relataram a ocorrência de trinta antígenos diferentes na hemácia bovina, designados por A, B, C, E, G, H, I, J, K, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z, A', C', D', E', F', G' e H'. Todos foram definidos por meio de hemolisinas aloimunes, com exceção de A, J e U, cujos anticorpos apareceram por estimulação não específica, e de H', definido apenas por lisina de coelho anti-hemácia bovina. Além disso, os antígenos V, E' e G' foram também identificados por lisinas de coelho anti-hemácia bovina. O uso do apóstrofo não implicava em nenhuma característica especial; por exemplo, A' (le-se "A linha") não apresentava necessariamente qualquer relação com A. O apóstrofo foi usado apenas porque o alfabeto original havia se esgotado. Algumas letras estão faltando na seqüência alfabética porque ao longo do trabalho foi verificado que esses antígenos correspondiam a outros já definidos. A partir desses trabalhos, o

soro de coelho foi usado como fonte de complemento nos testes hemolíticos em substituição ao soro de cobaia, em virtude desse último ter apresentado lisinas naturais contra a hemácia bovina.

O conhecimento de trinta fatores antigênicos na hemácia bovina em 1942 não tinha precedentes. Na espécie humana conheciam-se, na mesma época, apenas oito fatores, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, M, N, P, Rho e rh' (STORMONT, 1973a).

Nesses dois primeiros trabalhos (FERGUSON, 1941; FERGUSON et al., 1942), os autores utilizaram o termo antígeno para se referir a tais características antigênicas da hemácia. Por métodos imunológicos de fracionamento dos anticorpos que definiam os antígenos, concluíram a respeito da natureza unitária de cada um deles. A natureza unitária foi também testada por critérios genéticos, isto é, verificando-se como cada antígeno era herdado. Baseados em estudos de três tipos de famílias (em que nenhum, apenas um ou ambos os pais apresentavam o antígeno), concluíram que a presença de cada antígeno comportava-se como sendo controlada por um gene dominante, onde o alelo recessivo determinava a sua ausência. Essa conclusão baseou-se na observação de que cada antígeno aparecia nos filhos somente quando presente em um ou ambos os pais. Apesar de essa observação estar correta e também ser correta a interpretação de que a presença de cada antígeno se comporta como dominante sobre sua ausência, as conclusões sobre a natureza unitária, tanto imunológica como genética, estavam erradas. Trabalhos posteriores evidenciaram que as relações serológicas e genéticas entre tais características antigênicas não são tão simples

(STORMONT *et al.*, 1945; STORMONT, 1950; STORMONT *et al.*, 1951).

A lista de fatores continuou a se expandir como resultado dos trabalhos do grupo de Wisconsin. STORMONT (1950) descreveu seis novos fatores antigênicos que foram designados por F, I', J', K', L' e Z'. Além disso ele demonstrou a ocorrência de subtipos serológicos dos fatores O (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> e O<sub>3</sub>), T (T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>), U (U<sub>1</sub> e U<sub>2</sub>), X (X<sub>1</sub> e X<sub>2</sub>) e E' (E'<sub>1</sub>, E'<sub>2</sub> e E'<sub>3</sub>) e estabeleceu a nomenclatura de subtipos dos fatores E e C, que passaram a ser designados por C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>, e dos fatores C' e Y, que passaram a ser designados por Y<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub>. Com esse trabalho, um total de 43 fatores antigênicos tinha sido descrito na membrana da hemácia bovina: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, F, G, H, I, J, K, M, N, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, P, Q, R, S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, V, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Z, A', D', E'<sub>1</sub>, E'<sub>2</sub>, E'<sub>3</sub>, F', G', H', I', J', K', L' e Z'.

A ocorrência de subtipos havia sido aventada por FERGUSON (1941) que comparou o padrão de reação entre os fatores C e E à relação serológica entre A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> do sistema ABO da espécie humana. Essa interpretação foi feita após sugestão de Wiener, especialista em grupos sanguíneos humanos, que revisou o trabalho para publicação no *Journal of Immunology* (cf. IRWIN, 1974). O conceito de subtipos surgiu com a descrição dos chamados subgrupos A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>, do sistema ABO, por Von Dungern e Hirzfeld, em 1911 (cf. ERSKINE & SOCHA, 1978, p. 60). Entretanto, pode-se dizer que STORMONT (1950) consagrou definitivamente o uso do termo subtipo para definir uma relação de dependência serológica entre fatores antigênicos da hemácia, ao descrever a ocorrência de inúmeros casos em bovinos. Tanto FERGUSON (1941) quanto STORMONT (1950) sugeriram que essas relações de subtipos

indicavam que as especificidades antigênicas correspondentes eram controladas por genes alélicos.

Segundo STORMONT (1973a), três descobertas fundamentais foram feitas ao longo das pesquisas com grupos sanguíneos de bovinos.

A primeira delas foi a descrição, feita por OWEN (1945), do quimerismo eritrocitário em gêmeos dizigóticos de bovinos. Nesse trabalho, assim como em outros que se seguiram, foi usado o termo mosaicismismo eritrocitário. A partir da observação, muito freqüente, de que gêmeos dizigóticos mostravam uma identidade de tipos sanguíneos quando testados com o painel de reagentes de Wisconsin, Owen concluiu que os gêmeos apresentavam, na verdade, duas populações de hemácias, uma referente ao seu próprio genótipo e a outra, ao genótipo de seu co-gêmeo. Dessa mistura resultava um fenótipo comum visto na tipagem sanguínea. A mistura de células sanguíneas foi explicada como sendo o resultado da passagem, durante a vida embrionária, de células precursoras do tecido hematopoiético de um gêmeo para o outro, através de anastomoses vasculares que se estabelecem com muita freqüência entre as placentas de gestações gemelares de bovinos. A ocorrência anatômica de tais anastomoses vasculares era conhecida de longa data. Visto que a transferência de células precursoras ocorria antes do mecanismo de tolerância imunológica haver se estabelecido, as células não eram rejeitadas, mas fixavam-se no tecido hematopoiético do gêmeo receptor, o qual passava a produzir as duas populações de células pelo resto da vida. Dessa forma, cada gêmeo passava a reconhecer a outra

população de células sanguíneas como própria, tornando-se tolerante, após o nascimento, a qualquer enxerto ou transplante oriundo de seu co-gêmeo. Nesse sentido, isso constituía um exemplo de indução natural de tolerância e foi bastante estudado por imunologistas com vistas a um entendimento dos mecanismos de estabelecimento da tolerância imunológica. Segundo STORMONT (1973b), a mistura de células é essencialmente a mesma e na mesma direção em ambos os gêmeos. Raramente, entretanto, a proporção é de 50:50, mas sim desviada para 65:35, 80:20, 90:10. Proporções maiores do que essas tornam difícil a detecção do quimerismo pelas técnicas utilizadas.

Essa descoberta foi também importante porque, a partir daí, dispunha-se de métodos para determinação do tipo de gemelaridade em gêmeos de mesmo sexo e para diagnóstico precoce da condição chamada de "freemartinismo" em vacas. A vaca "freemartin" é aquela que nasceu co-gêmea de um macho e, em consequência disso, tornou-se uma fêmea infértil. A demonstração de quimerismo eritrocitário em uma fêmea nascida co-gêmea de um macho é indicadora de que houve anastomoses vasculares entre as duas placentas e de que a fêmea será infértil na vida adulta. A determinação do tipo de gemelaridade tem importância na condução de experimentos em que se utilizam gêmeos (STORMONT, 1977).

Uma outra descoberta que merece ser ressaltada foi a descrição do que hoje é chamado grupo de inclusão BGK em bovinos, em que o fator K somente aparecia na presença de B e G juntos, enquanto B e G ocorriam juntos ou separados, na ausência de K (STORMONT et al., 1945). Essas associações foram interpretadas como sendo decorrentes de uma série de cinco alelos: um para a

ausência dos três fatores, um para a presença de B apenas, um para a presença de G apenas, um para BG em conjunto e mais um para BGK em conjunto. Os autores consideraram pouco provável que essas associações fossem resultado de ligação genética. A descoberta do grupo de inclusão BGK de bovinos foi importante por dois motivos: a) revelou a existência de substâncias antigênicas da hemácia capazes de se ligar a anticorpos de mais de uma especificidade e, b) contribuiu decisivamente para a elucidação de sistemas complexos, tais como o sistema B, descrito por STORMONT et al. (1951).

A terceira descoberta importante foi feita por STORMONT (1949) ao observar que o fator J, ao contrário do que era assumido para os demais fatores antigênicos, não era uma propriedade intrínseca à membrana da hemácia, mas era produzido por outro tecido e, após estar solúvel no plasma sanguíneo, era adsorvido na membrana. Esse trabalho mostrou pela primeira vez a ocorrência de substâncias solúveis nos grupos sanguíneos de bovinos.

Dois avanços técnicos foram importantes, segundo STORMONT (1978), na condução das pesquisas iniciais sobre grupos sanguíneos de bovinos. Como estivesse ocorrendo hemólise não específica, os pesquisadores de Wisconsin modificaram as concentrações da solução salina até chegarem à solução 0,91% que se mostrou satisfatória para a hemácia bovina. Um outro avanço técnico foi a mudança para soro de coelho como fonte de complemento em substituição ao soro de cobaia, classicamente empregado. Essa modificação ocorreu devido ao fato de que as

cobaias utilizadas estavam apresentando muito frequentemente lisinas naturais contra a hemácia bovina (FERGUSON, 1941). O soro de coelho, apesar de ser usado não diluído, mostrou-se mais efetivo do que o soro de cobaia, produzindo hemólise completa mais rapidamente e revelando reações que não apareciam na presença do soro de cobaia.

A produção de reagentes a partir de anti-soro de coelho contra a hemácia bovina foi iniciada por Stormont (cf. STORMONT, 1978) que começou a investigar as especificidades de anticorpos em anti-soros de coelhos produzidos com outros propósitos. Além de ser uma fonte importante e prática para alguns reagentes, os anti-soros de coelho têm sido fonte dos chamados reagentes de dosagem, que distinguem os genótipos homozigotos e heterozigotos de um fator sangüíneo.

Até 1950, não se sabia como os diversos fatores sangüíneos eram controlados geneticamente.

A análise de segregação dos fatores sangüíneos dentro de famílias de touros levou à demonstração de dois sistemas genéticos de grupos sangüíneos, os sistemas B e C (STORMONT et al., 1951). Esses foram os primeiros sistemas sangüíneos descritos em bovinos. Nesse trabalho, 38 fatores foram estudados: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, F, G, H, I, J, K, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, P, Q, R, S, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, V, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Z, A', D', E'<sub>1</sub>, E'<sub>2</sub>, E'<sub>3</sub>, I', J', K', L' e Z'. Com relação aos 43 fatores conhecidos no início da década de 50 (STORMONT, 1950), os fatores M<sub>1</sub>, N, F', G' e H', não foram incluídos nesse estudo porque não foi possível reproduzi-los ao longo do trabalho. Dos 38 fatores testados, 21 foram atribuídos ao sistema B, 7 ao sistema C, 9 foram excluídos desses

sistemas e 1 ficou sem definição. Essas análises levaram à demonstração de que os fatores, dentro de cada sistema, eram herdados em combinações não aleatórias, isto é, como blocos. Em 1955, STORMONT introduziu o termo fenogrupo para designar o produto de alelos individuais reconhecidos serologicamente pela combinação de diversos fatores sanguíneos. Segundo STORMONT (1972), esse termo foi empregado em substituição ao que estava sendo chamado de "complexos antigênicos", para descartar a idéia de que representavam um bloco de substâncias antigênicas molecularmente separadas. A descoberta dos fenogrupos reforçou a sugestão de STORMONT (1950), de que cada fator representava, na verdade, a identificação de propriedades serológicas parciais de estruturas mais amplas de grupos sanguíneos.

Os antígenos da membrana das hemácias constituem um arranjo impressionante de diferenças bioquímicas entre os indivíduos. Entretanto, não se sabe ao certo a razão biológica para a sua ocorrência e o vasto polimorfismo que exibem. Algumas explicações foram aventadas para o seu papel (MILLER, 1976):

- a) consequências fisiológicas, que podem ser evidenciadas pela observação de associação estatística entre um dado grupo sanguíneo e características, tais como, suscetibilidade a doenças, fertilidade, viabilidade, etc.
- b) vantagem do heterozigoto, que pode ser vista como uma ação independente do produto dos alelos, cada um sendo adaptativo concomitante ou alternadamente, ou como resultado de interação alélica.

- c) mimetismo molecular, que pressupõe o estabelecimento de interações antigênicas entre parasita e hospedeiro; do ponto de vista da espécie do hospedeiro seria vantajoso manter uma grande variabilidade para impedir a interação com um dado parasita; do ponto de vista da espécie do parasita, a grande variação de antígenos do hospedeiro significaria maior chance de mutação e adaptação a um deles.
- d) função de membrana, onde o antígeno é encarado como uma substância implicada em funções, tais como transporte e interação celular; nesse caso, permanece sem explicação a razão de tantas formas alternativas.

Com exceção do fator J, pouco se sabe sobre a estrutura química das substâncias que constituem os grupos sanguíneos da hemácia bovina. Thiele e Koch, em 1970 (apud SELLEI, 1975) obtiveram evidências de que a substância solúvel J é um glicosfingolipídio. Alguns trabalhos têm demonstrado que certos fatores são afetados pela ação de enzimas proteolíticas, o que sugere a associação de cadeias peptídicas em sua expressão antigênica (ZINK & HINES, 1974; SELLEI, 1975; HINES et al., 1976). Não foi possível determinar, entretanto, se o fator antigênico é de estrutura protéica em si, ou se é parte de um carboidrato associado a uma cadeia peptídica.

### 2.1.2. Sistemas de grupos sanguíneos de bovinos

Presentemente 11 sistemas de grupos sanguíneos, compreendendo 89 fatores, são conhecidos em bovinos. Os sistemas, com os fatores sanguíneos correspondentes, são mostrados na TAB. 1. A informação a respeito dos fatores sanguíneos foi extraída

dos resultados dos testes comparativos de 1983, 1985 e 1987, promovidos pela International Society for Animal Genetics (ISAG), em que participaram 31, 28 e 22 laboratórios filiados, respectivamente.

TABELA 1. Sistemas de grupos sanguíneos de bovinos.

Sistema	Fatores Sanguíneos
A	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> H Z'
B	B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> G <sub>1</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> I <sub>1</sub> I <sub>2</sub> K O <sub>1</sub> O <sub>2</sub> O <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> Q T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> Y <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> A' <sub>1</sub> A' <sub>2</sub> B' D' E' <sub>1</sub> E' <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> E' <sub>4</sub> F' G' I' <sub>1</sub> I' <sub>2</sub> J' <sub>1</sub> J' <sub>2</sub> K' O' <sub>1</sub> O' <sub>2</sub> P' Q' Y' A" B" D" F" G" I" J" O"
C	C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> E R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> W X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> C' L' X' C" <sub>1</sub> C" <sub>2</sub>
F	F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> V <sub>1</sub> V <sub>2</sub> N' V'
J	J
L	L
M	M <sub>1</sub> M <sub>2</sub> M'
S	S <sub>1</sub> S <sub>2</sub> U <sub>1</sub> U <sub>2</sub> H' U' <sub>1</sub> U' <sub>2</sub> H" S" U"
Z	Z
R'	R' S'
T'	T'

#### Sistema A

Ao tempo de sua descoberta, o sistema A foi considerado como um sistema com dois fatores (A e H), quatro alelos ( $A^{AH}$ ,  $A^A$ ,  $A^H$  e  $A^a$ ) e quatro fenótipos. A descoberta dos subtipos A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>, em 1951, pelo laboratório de Stormont, aumentou o número de alelos para seis,  $A^{A_1}$ ,  $A^{A_2}$ ,  $A^{A_1H}$ ,  $A^{A_2H}$ ,  $A^H$  e  $A^a$  (cf. STORMONT,

1962). Os estudos de tipagem sanguínea do bisão americano (*Bison bison*), feitos por STORMONT et al. (1961b) com reagentes de bovinos, mostraram que o fator D (STORMONT & SUZUKI, 1956) pertencia ao sistema A, e não a um sistema distinto. Logo em seguida foi verificado que o fator Z' também pertencia ao sistema A e foi descoberto o subtipo D<sub>2</sub> (cf. STORMONT, 1962). Assim, dez alelos passavam a ser reconhecidos: A<sup>A</sup><sub>1</sub>, A<sup>D</sup><sub>1</sub>, A<sup>H</sup>, A<sup>A</sup><sub>1</sub>D<sub>1</sub>, A<sup>A</sup><sub>2</sub>D<sub>1</sub>, A<sup>A</sup><sub>1</sub>H, A<sup>D</sup><sub>1</sub>H, A<sup>A</sup><sub>1</sub>D<sub>1</sub>H, A<sup>A</sup><sub>1</sub>D<sub>2</sub>Z' e A<sup>A</sup><sub>2</sub>D<sub>1</sub>H. Esses dados mostravam que o sistema A tornava-se fechado com a descoberta do fator D (STORMONT et al., 1960). O alelo A<sup>H</sup> foi observado apenas no gado Brahman americano (*Bos indicus*), junto com os alelos A<sup>A</sup><sub>1</sub>, A<sup>A</sup><sub>1</sub>D, A<sup>A</sup><sub>1</sub>H e A<sup>A</sup><sub>1</sub>D<sub>2</sub>Z', sendo que este último alelo ocorria em baixa frequência em Brahman e era extremamente raro ou ausente em raças taurinas dos Estados Unidos. É interessante mencionar que o primeiro reagente para o fator Z' foi obtido pela análise de um anti-soro de uma vaca Holandesa (*Bos taurus*) imunizada com hemácias de um touro Brahman (*Bos indicus*) (STORMONT, 1950).

### Sistema B

O sistema B foi descrito por STORMONT et al. (1951). Analisando a segregação de 38 fatores sanguíneos em cinquenta famílias de touros de quatro raças leiteiras (Guernsey, Holandesa, Jersey e Suíça Parda), com média de vinte filhos por família, os autores observaram que 21 fatores segregavam em um mesmo sistema, designado por sistema B. Os fatores atribuídos a esse sistema foram: B, G, I, K, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, P, Q, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>.

A', D', E'1, E'2, E'3, I', J' e K'. Verificou-se também, que esses fatores eram transmitidos em combinações particulares que se comportavam como alelos. Oitenta dessas combinações herdáveis (designadas como fenogrupos por STORMONT, em 1955) foram encontradas nas famílias estudadas, tais como: BGK<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>A'E'3, BGO<sub>1</sub>Y<sub>1</sub>, BO<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>D', GI, O<sub>1</sub>T<sub>1</sub>E'3, PI' e "-" (ausência de todos os fatores). Apesar de os autores não terem excluído a possibilidade de locos ligados, eles explicaram essa variação com base em alelos múltiplos, como se a "variedade de especificidades distintas representasse propriedades serológicas sobrepostas de uma série de antígenos relacionados controlados por alelos de um mesmo gene".

Um passo inicial para o estabelecimento do sistema B foi a descoberta do grupo de inclusão BGK por STORMONT et al. (1945). As associações serológicas entre esses três fatores sugeriam que eles pertenciam a um mesmo sistema genético. Das oito combinações possíveis entre eles, apenas BGK, BG, B, G e "-" eram encontradas.

A lista dos fatores pertencentes ao sistema B continuou a se expandir. STORMONT, em 1962, publicou uma lista que incluía treze fatores adicionais (B<sub>2</sub>, G<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>, O<sub>x</sub>, P<sub>2</sub>, A'2, B', E'x, F', G', O', Y' e NF7), onze dos quais descobertos em seu laboratório, mas que não haviam sido relatados na literatura. Atualmente, quarenta e sete fatores são reconhecidos internacionalmente nesse sistema: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, K, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, Q, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, A'1, A'2, B', D', E'1, E'2, E'3, E'4, F', G', I'1, I'2, J'1, J'2, K', O'1, O'2, P', Q', Y', A", B", D", F", G", I", J" e O".

Não há dúvida de que o sistema B é o sistema de grupos sanguíneos mais complexo já descrito em qualquer espécie. Como resultado da inclusão de novos fatores nesse sistema e estudos de outras raças por diferentes laboratórios, a lista dos fenogrupos também se expandiu. STORMONT (1981) relatou a ocorrência de aproximadamente 600 fenogrupos nas raças testadas em seu laboratório. Em uma lista divulgada pelo laboratório do Texas, Estados Unidos, em 1985, foram relacionados 691 fenogrupos para quinze raças criadas naquele país. Segundo STORMONT (1981), o número real deve passar de 1000 quando se agruparem as listas de diversos países que testam as várias raças. A comparação de fenogrupos detectados em locais diferentes tem, entretanto, o problema de que dificilmente dois laboratórios usam a mesma bateria de reagentes e, conseqüentemente, esse fato deve ser levado em conta ao se fazer esse levantamento de fenogrupos. Na TAB. 2 são mostrados os fenogrupos mais freqüentes em seis raças de bovinos.

A teoria de alelos múltiplos foi defendida por STORMONT (1955) para explicar a complexidade do sistema B. Para esse pesquisador, bem como para Cotterman (*apud* STORMONT, 1955), a complexidade serológica de um sistema de grupos sanguíneos é resultado do número de alelos daquele loco. "A medida que o número de alelos aumenta, maior o número de reações cruzadas ou sobrepostas que são reveladas entre seus produtos, de tal forma que se torna praticamente impossível desenvolver anticorpos que reajam com o produto de alelos individuais em exclusão aos produtos dos demais alelos".

TABELA 2. Os seis fenogrupos mais frequentes do sistema B em seis raças bovinas.

Cod. Fenogrupo	Freq.	Cod. Fenogrupo	Freq.	Cod. Fenogrupo	Freq.
Brahman					
78 I <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> E' 1Y'	0,0837	22 B <sub>0</sub> Y <sub>1</sub> E' 3G'P'Q'G"	0,1163	81 Y <sub>1</sub> D'I'	0,3703
568 BG <sub>2</sub> K <sub>0</sub> Y <sub>2</sub> E' 3F'G'O'A"	0,0833	68 PI'	0,1008	0 -	0,2458
233 E' 3O'G"	0,0828	16 B <sub>0</sub> Y <sub>2</sub> D'	0,0972	330 A'	0,1634
68 PI'	0,0645	406 O'	0,0968	306 I'	0,0739
45 O <sub>1</sub> Q'	0,0624	215 O <sub>3</sub> E' 2F'	0,0459	307 Q'	0,0214
206 I <sub>2</sub> E' 1	0,0490	0 -	0,0456	70 QI'Q'	0,0208
Jersey					
Suíça Parda					
28 BG <sub>2</sub> K <sub>0</sub> Y <sub>1</sub> A'B'E' 3G'K'O'Y'A"G"	0,2055	52 G <sub>3</sub> O <sub>1</sub> TY <sub>2</sub> E' 3F'	0,2864	39 GY <sub>2</sub> E' 1Q'	0,2832
74 G <sub>3</sub> TE' 3F'	0,1374	151 B <sub>0</sub> Y <sub>2</sub> E' 3G'P'Q'Y'	0,2013	84 D'E' 3F'G'O'	0,0882
33 G <sub>2</sub> D'A"	0,1333	366 BG <sub>2</sub> KQE' 2F'G'O'A"G"	0,0594	202 I <sub>2</sub>	0,0741
54 G <sub>3</sub> O <sub>1</sub> TE' 3F'K'	0,1215	7 BPY <sub>2</sub> G'Y'	0,0517	62 O <sub>3</sub> J'K'O'	0,0666
71 QD'E' 1G"	0,0708	307 Q'	0,0338	307 Q'	0,0628
19 BG <sub>2</sub> K <sub>0</sub> Y <sub>1</sub> A'B'K'O'A"	0,0631	230 E' 3F'O'	0,0278	232 E' 3G"	0,0520
Holandesa					

Fonte: Lista de fenogrupos do Laboratório do Texas, de 1985.

A descoberta de casos de anomalia de transmissão dos fenogrupos do sistema B, levantou questões importantes sobre o entendimento da região cromossômica correspondente. Os dois primeiros casos foram descritos por STORMONT (1955). Um deles foi o de uma vaca Holandesa de genótipo  $B_1O_1Y_2D'/B_1O_1B'$ , que produziu uma bezerra  $B_1O_1/PY_2$ , quando acasalada com um touro  $PY_2/E'_1$ . STORMONT (1964) relacionou dez casos descritos por vários laboratórios, comentando que havia um consenso entre os pesquisadores de que tais anomalias eram resultantes de recombinações genéticas que ocorriam nos limites do loco B.

A primeira tentativa de se usar os casos de recombinação para estabelecer um mapa genético da região B foi feita por Green, em 1966 (apud GROSCLAUDE et al., 1979). Posteriormente, essa mesma abordagem foi utilizada por Bouw e Fiorentini, em 1970 (apud STORMONT, 1972), que encontraram 57 casos de transmissão irregular no sistema B ao analisar 30.000 filhos comparados com os seus pais, em raças da Holanda. Destes, apenas 19 casos foram considerados úteis para a construção do mapa, que relacionou 21 fatores sanguíneos na seguinte sequência linear:

$$Y_1-Q-D'-E'_1-Y_2-E'_3F'-G-BGK-B-P-O_2K'-J'-O_XO'-I-O_XA'-I'$$

$$E'_3G' \qquad \qquad \qquad O_1$$

Com base em dados populacionais de raças taurinas sobre a não ocorrência de BGK com  $O_1$  ou T em um mesmo fenogrupos, STORMONT (1972) argumentou que os determinantes genéticos desses fatores deveriam localizar-se praticamente na mesma posição, ao contrário do que foi proposto por Bouw e Fiorentini, para BGK e  $O_1$ . O fator T não consta nesse mapa por aparecer muito raramente

nas raças holandesas.

Com dados adicionais, pesquisadores da Holanda (RUITERKAMP *et al.*, 1977) revisaram o mapa apresentado anteriormente. O novo mapa foi derivado de 122 casos de transmissão irregular observados em 100.000 filhos comparados com seus pais. Além dos 15 determinantes que foram alocados linearmente, o material analisado permitiu a localização referencial de outros 13 determinantes (FIG. 1).

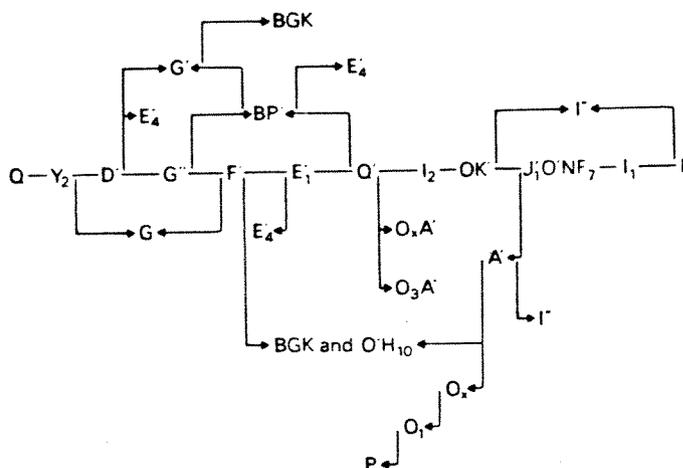


FIGURA 1. Mapa genético parcial do sistema B, segundo RUITERKAMP *et al.* (1977).

A análise dos fenogrupos recombinantes com vistas a elaboração de um mapa genético, baseou-se em quatro suposições importantes: a) cada caso de transmissão irregular é resultado de uma única recombinação dentro da região B; b) a recombinação é o resultado de uma permuta genética simples a qual é precedida por emparelhamento simétrico dos cromossomos homólogos na meiose; c) a permuta genética é restrita a um dos pais do animal que mostrou o fenogrupo recombinante; d) quando um determinante genético está presente no cromossomo, o seu produto sempre será detectado com o

reagente respectivo e vice-versa (RUITERKAMP et al., 1977).

A comparação entre os dois mapas mostra que, no segundo, alguns fatores foram retirados da ordem linear ( $Y_1$ ,  $E'_3$ , G, BGK, B, P,  $O_1$ ,  $O_X$  e  $A'$ ), outros fatores foram alocados linearmente ( $G''$ ,  $Q'$ ,  $K'$  e  $I_1$ ) e outros permanecem em posição indefinida. Esse mapa mostrou também que fatores de uma série de subtipos, como  $I_1$  e  $I_2$ , podem ser codificados por determinantes genéticos distintos.

GROSCLAUDE et al. (1979) elaboraram um mapa, baseando-se em quarenta casos de herança irregular de fenogrupos do sistema B, observados em 55.000 comparações de touro-vaca descendentes, em sete raças da França. Dados populacionais também foram utilizados para estabelecer a posição de alguns determinantes. Com a análise adicional de onze casos de recombinação, GROSCLAUDE et al. (1983) apresentaram um mapa revisado da região B (FIG. 2), que incluiu dezoito determinantes distribuídos linearmente. Nesse mapa revisado as posições referentes a Y e Y' e  $O_2$  e  $O_3K'$  ficaram mais definidas,  $E'_3G''$  e  $G''$  inverteram-se,  $O_1$  foi acrescentado ao mapa e  $E'_1$  passou para uma posição linear, enquanto  $E'_2$  foi retirado. A única discrepância importante desse mapa e daquele publicado por RUITERKAMP et al. (1977) está na posição de  $I_1$  que para aqueles autores está imediatamente à direita de  $J'O'NF7$  enquanto no mapa francês está imediatamente à esquerda.

Com base nesses mapas, os pesquisadores foram de opinião que o sistema B é controlado por uma série de locos ligados. As estimativas de taxas de recombinação e a distribuição de frequência de permuta genética ao longo da



múltiplos determinantes antigênicos por fenogrupos e, portanto, não mais do que um gene por fenogrupos.

### Sistema C

O sistema C foi descrito concomitantemente com o sistema B, por STORMONT et al. (1951). Sete fatores foram reconhecidos como membros desse sistema: C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, R, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e L'. A análise da segregação desses fatores em cinquenta famílias de touros levou à identificação de 22 combinações herdáveis de fatores (fenogrupos), tais como, C<sub>1</sub>, C<sub>1</sub>W, C<sub>1</sub>RW, C<sub>2</sub>RX<sub>1</sub>, X<sub>1</sub>, L' e "-" (ausência de todos os fatores).

Posteriormente, cinco fatores adicionais pertencentes ao sistema C foram descritos: E, por Neimann-Sorensen, em 1958 (apud LARSEN, 1981) e por Stormont, em 1959 (apud GROSCLAUDE et al., 1981a), R<sub>2</sub>, por BRAEND (1959), C', por Nasrat et al., em 1964 (apud GROSCLAUDE et al., 1981a), como H6, C", por DUNIEC et al. (1973), como P1B1 e, X', por LARSEN (1981). GROSCLAUDE et al. (1981a) descreveram quatro novos fatores, provisoriamente denominados F1, F6, F10 e F15 e sugeriram que F1 e C" passassem a ser denominados C"<sub>1</sub> e C"<sub>2</sub>, pelo fato de se comportarem como subtipos lineares. Em raças polonesas e holandesas DUNIEC et al. (1973) consideraram que C" fechava o sistema com C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>, da seguinte maneira: anti-C" nunca reagia com fenogrupos que tivessem C<sub>1</sub> ou C<sub>2</sub> e reagia com todos os demais, incluindo "-". Nesse trabalho, 2500 animais foram testados para os fatores C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, E, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, L', C' e C" (então chamado P1B1). GROSCLAUDE et al. (1981a) concluíram que C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C" não formam um sistema fechado dentro do sistema C, pelo fato de terem

encontrado alguns fenogrupos negativos para esses três fatores em raças francesas. Seus achados (em mais de 140.000 animais testados) concordaram, entretanto, que C" nunca aparecia juntamente com C<sub>1</sub> ou C<sub>2</sub>. Esses autores atribuíram essa incompatibilidade "às posições alélicas ou quase alélicas" de C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> com relação a C"<sub>1</sub> e C"<sub>2</sub>, ou seja, pela possibilidade de estarem localizados como alternativas em cromossomos homólogos, em uma mesma posição. A ocorrência dos poucos fenogrupos que não apresentavam C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> ou C" poderia ser explicada pela existência de outro subtipo (C<sub>3</sub> ou C"<sub>3</sub>) ou pela ocorrência de deleções. O fator X', descrito por LARSEN (1981), comporta-se como subtipo não linear de X<sub>1</sub>, permitindo distinguir o genótipo X<sub>1</sub>/X<sub>2</sub> de X<sub>1</sub>/X<sub>1</sub> ou X<sub>1</sub>/-.

O sistema C é considerado o segundo sistema mais complexo de grupos sanguíneos em bovinos. Com a inclusão do fator E, STORMONT (1962) publicou uma relação de 35 fenogrupos reconhecidos em seu laboratório, em oito raças criadas nos Estados Unidos. GROSCLAUDE *et al.* (1981a), utilizando reagentes para os fatores C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, E, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, C', L' e C" e para os novos fatores F1, F6, F10 e F15, identificaram 77 fenogrupos na raça Charolesa. Estudando as raças Dinamarquesa Vermelha, Dinamarquesa Preta e Branca e Jersey, da Dinamarca, LARSEN (1981) relatou a ocorrência de 41 fenogrupos. Uma inspeção na relação de fenogrupos apresentada nesses dois últimos trabalhos mostra que 20 fenogrupos são comuns, deixando, portanto, um total de 98 fenogrupos identificados nas quatro raças estudadas. Exceto para o fenogrupos E, encontrado na raça Jersey, LARSEN (1981) comenta

que C" comportou-se como antitético aos fatores C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>.

Com base em transmissões irregulares de fenogrupos do sistema C, foram feitas algumas tentativas de mapear essa região do cromossomo. Em 16.000 comparações de filhos com seus pais, BOUW et al. (1974) encontraram 43 casos de herança irregular no sistema C. Os fatores C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, E, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, W, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, C' e L' foram testados nesse trabalho. Devido à semelhança e sobreposição dos vários fenogrupos, os autores comentam sobre a dificuldade em se estabelecer o genótipo dos pais e descendentes, o que foi conseguido apenas em uma porcentagem dos casos analisados (56,5% no ano de 1974). Dos 43 casos, apenas 27 foram informativos, sendo que em vários deles, a transmissão irregular foi seguida por mais de uma geração, para confirmação do fenogrupos recombinante. O número de casos conclusivos limitou-se a seis. Os demais eram idênticos, recíprocos ou concordantes com eles. O modelo linear proposto foi o seguinte:

$$L' - (R_1W) - C - E - X - C'$$

Pelo fato de não ter havido recombinantes envolvendo membros de uma série de subtipos, estes foram representados apenas pela letra do fator, supondo-se que os subtipos sejam controlados por determinantes genéticos na mesma posição. Da mesma forma, por não ter havido recombinantes envolvendo R e W, as suas posições no mapa, entre parênteses, sugerem que estão muito próximos um do outro.

GROSCLAUDE et al. (1981b) analisaram 20 casos de herança irregular de fenogrupos do sistema C, em três raças da França, de onde derivaram o mapa mostrado na FIG. 3. Algumas conclusões foram baseadas em dados populacionais sobre os

fenogrupos observados em raças francesas. Esse mapa do sistema C assemelhou-se bastante àquele apresentado por BOUW et al. (1974), quando considerados os dez fatores testados em comum. Além dos fatores testados em comum, o mapa de GROSCLAUDE et al. (1981b) também incluiu os fatores  $C''_1$ ,  $C''_2$ , F6, F10 e F15.

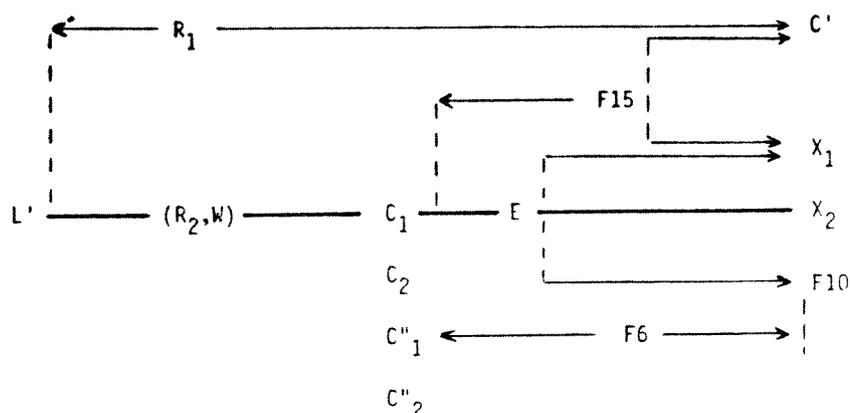


FIGURA 3. Mapa genético parcial do sistema C, segundo GROSCLAUDE et al. (1981b).

A parte esquerda dos dois mapas é idêntica, em particular com respeito à alocação de  $R_2$  e  $W$  em uma mesma posição (ou posições muito próximas), em virtude da não observação de permuta genética envolvendo esses fatores. Por outro lado, as conclusões a respeito da parte direita são diferentes nos dois mapas. No mapa francês os fatores  $X_2$  e  $C'$  foram assinalados na mesma posição terminal, pois nunca se observou um fenogrupa em que esses fatores ocorressem juntos. Da mesma forma, pela não ocorrência de  $C_1$  ou  $C_2$  com  $C''_1$  ou  $C''_2$ , esses autores concluíram que seus determinantes genéticos deveriam estar em uma posição muito próxima no mapa e por isso foram colocados juntos. Ambos os mapas mostram que todos os subtipos analisados são aparentemente controlados por determinantes alélicos ou posicionados muito

próximos um do outro. Essa situação é diferente daquela formulada para o sistema B, onde membros da mesma série de subtipos foram localizados em pontos distintos. A taxa de recombinação entre os determinantes terminais do sistema C foi calculada por GROSCLAUDE et al. (1981b) como sendo igual a 0,3 centimorgan.

#### Sistema F

O sistema F foi descrito por STORMONT (1952) como um sistema fechado, com dois fatores, F e V, cada um controlado por um alelo codominante. Analisando 1488 animais da raça Holandesa e 2024 da raça Guernsey, esse autor não encontrou nenhum animal que fosse negativo para ambos os fatores, o que caracterizou o sistema como fechado. A descrição desse sistema teve um aspecto interessante que foi a evidência serológica de alelismo entre os fatores, comprovada por testes de herança. A evidência serológica veio da observação de reagentes, obtidos por heteroimunização em coelhos, que mostravam dois tipos de reação (forte e fraca) com os animais testados, o que foi interpretado como sendo relativo a animais homozigotos e heterozigotos quanto ao fator.

A subdivisão do fator V em  $V_1$  e  $V_2$  foi descrita por Rendel, em 1958 (apud LARSEN, 1982). Em 1958, um subtipo linear de F, designado  $F_2$ , foi encontrado pelo laboratório da Dinamarca (cf. LARSEN, 1982). O fator F original passou a ser chamado  $F_1$ . Subtipos similares ( $F_1$  e  $F_2$ ) foram relatados por STORMONT (1962), que descreveu a ocorrência de quatro fenogrupos:  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $V_1$  e  $V_2$ , em raças norte-americanas. Para esses dois autores o reagente  $F_2$  reagia também com o fenogrupo  $V_2$ , tornando possível

distinguir os genótipos  $V_1/V_1$  de  $V_1/V_2$ . Entretanto, conforme mencionado por STORMONT (1962), as combinações  $F_2/V_2$  e  $V_2/V_2$  condicionavam o mesmo padrão de reações e só poderiam ser distinguidas por testes genéticos.

Nas raças européias esse sistema é usualmente considerado fechado. OSTERHOFF & POLITZER (1968) observaram, contudo, a ocorrência do alelo  $F^F$ , em raças zebuínas da África do Sul, quando testadas com reagentes para os fatores  $F_1$ ,  $F_2$  e  $V_2$ . HALL & ROSS (1981), considerando que não havia uma padronização internacional para o fator  $F_2$ , questionaram a ocorrência do alelo negativo descrito, sugerindo que os animais negativos fossem efetivamente homocigotos para o alelo  $F^F F_2$ . Além disso, esses autores, citando os resultados experimentais de Larsen, de 1965, consideraram a possibilidade de o fator  $V_1$  existir independentemente de  $V_2$ , não sendo, portanto, detectado pelo reagente  $V_2$ . Como no primeiro trabalho não foi utilizado reagente  $V_1$ , haveria a possibilidade de os animais negativos serem homocigotos desse alelo  $F^{V_1}$ . Os diferentes genótipos e o padrão de reação com os reagentes considerados são mostrados na TAB. 3. LARSEN (1982) comentou sobre a possibilidade de os fatores  $V_1$  e  $V_2$  não se comportarem como subtipos lineares em todas as raças, ao detectar onze animais de raças zebuínas do Egito, Chipre e Índia, que reagiram com  $F_1$ ,  $F_2$  e  $V_1$ , sem reagir porém, com  $V_2$ . Além disso, ao testar 300 animais dessas raças, 867 da raça Jersey e 7210 das raças Dinamarquesa Vermelha e Dinamarquesa Preta e Branca, esse autor não encontrou nenhum animal negativo para os quatro fatores

TABELA 3. Reações serológicas esperadas para os diversos genótipos do sistema F, de acordo com STORMONT (1962) e HALL & ROSS (1981).

Genótipo	Reagentes			
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>
F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> /F <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	+	+	-	- a
F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> /F <sub>2</sub>	+	+	-	- a
F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> /V <sub>1</sub> V <sub>2</sub>	+	+	+	+
F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> /V <sub>2</sub>	+	+	-	+
F <sub>2</sub> /F <sub>2</sub>	-	+	-	- d
F <sub>2</sub> /V <sub>1</sub> V <sub>2</sub>	-	+	+	+ b
F <sub>2</sub> /V <sub>2</sub>	-	+	-	+ c
V <sub>1</sub> V <sub>2</sub> /V <sub>1</sub> V <sub>2</sub>	-	-	+	+
V <sub>1</sub> V <sub>2</sub> /V <sub>2</sub>	-	+	+	+ b
V <sub>2</sub> /V <sub>2</sub>	-	+	-	+ c
F <sub>1</sub> F <sub>2</sub> /V <sub>1</sub>	+	+	+	- e
F <sub>2</sub> /V <sub>1</sub>	-	+	+	- d, e
V <sub>1</sub> /V <sub>1</sub>	-	-	+	- d, e

a, b e c: genótipos serologicamente indistinguíveis; d: fenótipo negativo, quando não testado com reagentes F<sub>2</sub> ou V<sub>1</sub> independente; e: genótipos que exibem o fator V<sub>1</sub> independente de V<sub>2</sub>.

testados (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub>). ROSS & LARSEN (1981) relataram o caso de um touro que, originalmente tipado como negativo no sistema F, mostrou ser F<sub>2</sub> após ser tipado com esse reagente. Os dados da literatura colocam, portanto, uma certa dúvida sobre a existência do alelo negativo no sistema F. Deve ser notado, contudo, que na descrição original de OSTERHOFF & POLITZER (1968), foram utilizados os reagentes F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e V<sub>2</sub>, sendo que F<sub>1</sub> e

F<sub>2</sub> abrangeriam todos os subtipos de F e o reagente V<sub>2</sub> detectaria tanto os fatores V<sub>2</sub> quanto V<sub>1</sub>, com exceção da reação atípica de V<sub>1</sub> mencionada anteriormente.

Mais recentemente, o fator N' foi descrito como um membro do sistema F, por Grosclaude, em 1966 (apud LARSEN, 1981) e por OLDENBROEK & BOUW (1974). Hall e Ross, em 1982, descreveram um sexto antígeno, V', nesse sistema (apud LARSEN, 1982). Nenhum dos dois parece afetar a relação antitética entre F e V.

### Sistema J

O sistema J, constituído por um único fator, apresenta características que o distinguem dos demais. Ao contrário do que ocorre nos outros sistemas, o fator J não é uma propriedade intrínseca à membrana da hemácia bovina. A hemácia, ao ser produzida pelo tecido hematopoiético, não apresenta o fator J em sua membrana, mas pode adquiri-lo após contato com essa substância solúvel no plasma. A substância J é produzida em outro tecido, excretada no plasma e posteriormente adsorvida na membrana da hemácia (STORMONT, 1949). O indivíduo de fenótipo J possui a substância J solúvel no plasma, o que é facilmente demonstrado por testes de inibição positiva de reagentes J pelo soro desses animais. STONE & IRWIN (1954) identificaram a existência de três classes de indivíduos com respeito à substância J: J<sup>CS</sup>, aqueles que possuem a substância J na hemácia e no soro, J<sup>S</sup>, aqueles que possuem a substância J apenas no soro e, J<sup>-</sup>, aqueles que não possuem a substância J na hemácia e no soro. Esses autores postularam a existência de três alelos, J<sup>CS</sup>,

J<sup>S</sup> e J<sup>J</sup>, em ordem decrescente de dominância, para explicar tais fenótipos. Foi demonstrado que, ao nascimento, a hemácia não apresenta quantidades detectáveis do fator J, mas começa a expressá-lo nas primeiras semanas de vida e, na vida adulta, os indivíduos mostram uma constância na quantidade da substância J na hemácia e no soro.

O comportamento singular da característica J, em não ser produto de um gene do reticulócito, permitiu explicar porque gêmeos com quimerismo eritrocitário poderiam diferir quanto ao fator J (STORMONT, 1949). A ocorrência de substâncias solúveis não foi demonstrada para outros fatores sanguíneos de bovinos.

Reagentes para o fator J são usualmente obtidos como anticorpos naturais presentes no soro de animais de fenótipo "-". Tentativas de se obter anticorpos anti-J por aloimunização em bovinos mostraram-se infrutíferas (STORMONT, 1949; STORMONT & SUZUKI, 1960; STONE & IRWIN, 1954). Uma exceção foi relatada por ELLIOT & FERGUSON (1956). Anticorpos anti-J podem também ser obtidos por heteroimunização de coelhos com hemácias humanas do tipo A (STORMONT & SUZUKI, 1960). Uma relação serológica entre as substâncias J de bovinos, R de carneiros e A de humanos foi verificada por NEIMANN-SORENSEN *et al.* (1954).

O título de anticorpo natural anti-J varia de indivíduo para indivíduo em uma mesma época, bem como em épocas diferentes em um mesmo indivíduo (STORMONT, 1949). A variação na concentração desse anticorpo durante o ano foi estudada por alguns autores. STONE (1956) e BRAEND (1959), analisando animais no hemisfério norte, observaram uma acentuada periodicidade,

comum a todos os animais, nos títulos de anticorpo natural anti-J. Os títulos maiores foram encontrados no final do verão e começo do outono e os títulos menores foram encontrados no final do outono e começo do inverno. MZEE & BRAEND (1979), analisando animais do sul do Equador, não encontraram uma periodicidade acentuada, mas sim, altos títulos durante o ano inteiro.

#### Sistema L

O sistema L compreende apenas um fator, o qual foi descoberto por Stormont, por volta de 1947. Um ano depois de ter sido identificado, o fator L foi colocado em um sistema independente (cf. STORMONT, 1962). De acordo com STORMONT (1978) esses achados nunca foram publicados. Dois fenogrupos ocorrem nesse sistema, L e "-", determinados pelos alelos correspondentes (STORMONT, 1962).

#### Sistema M

O sistema M é caracterizado por meio de três reagentes que detectam os fatores  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M'$ , sendo que os dois primeiros são subtipos lineares e o último é um subtipo não linear com relação aos anteriores. Essas relações serológicas detectam três alelos:  $M^{H1}$ ,  $M^{H'}$  (ou  $M^{H2}$ ) e  $M^{III}$ . O reagente  $M'$  permite distinguir o genótipo  $M_1/M_2$  de  $M_1/M_1$  e  $M_1/-$ . Quatro fenótipos são reconhecidos. O fator M foi descrito por Stormont, que identificou os dois subtipos  $M_1$  e  $M_2$  (cf. STORMONT, 1962). Esses dados não foram, contudo, publicados (STORMONT, 1978). Rendel, em 1958, definiu que os fatores  $M_1$  e  $M_2$  pertenciam a um sistema independente, designado sistema M (apud STORMONT, 1962). O

reagente M' foi descrito por MILLER *et al.* (1961).

### Sistema S

A descrição original do sistema S foi feita por STORMONT *et al.* (1961a) que, a partir das relações de subtipos entre os fatores S, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, H' e U', obtiveram evidências de que esses fatores pertenciam a um mesmo sistema. O passo inicial foi a descoberta de um reagente designado (SU<sub>2</sub>) por STORMONT (1950), que reagia com células que possuíssem um ou ambos os fatores S e U<sub>2</sub>. O parenteses indicava que as duas especificidades não eram fracionáveis. Esse padrão de reação foi interpretado com sendo devido a uma reação cruzada com os produtos de pelo menos dois genes e que esses genes provavelmente segregavam como alelos (cf. STORMONT, 1978).

Outro fato importante foi a descrição do reagente U' por STONE & MILLER (1961), obtido como anticorpo natural naquela oportunidade. Esse reagente detectava uma especificidade particular as células U<sub>2</sub>, sem reagir com células U<sub>1</sub>, e tinha grande utilidade na medida em que detectava U<sub>2</sub> na presença de U<sub>1</sub>, permitindo a identificação de genótipos que tivessem U<sub>1</sub> e U<sub>2</sub> como alternativas nos dois alelos. Nesse trabalho U<sub>2</sub> foi também obtido como anticorpo natural. Considerando esses cinco fatores, estudos familiares demonstraram a ocorrência de cinco fenogrupos ("-", U<sub>2</sub>, H', SH' e U<sub>1</sub>H') em cinco raças taurinas americanas (STORMONT, *et al.*, 1961a).

Atualmente, dez fatores são reconhecidos internacionalmente no sistema S: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, H', U'<sub>1</sub>, U'<sub>2</sub>.

H", S" e U" . Com a inclusão de novos fatores esse sistema tem revelado a ocorrência de um número maior de fenogrupos.

### Sistema Z

O sistema Z, constituído por um único fator, foi descrito em conjunto com o sistema F, por STORMONT (1952), que se baseou em evidências serológicas para concluir que o fator Z, ainda não assinalado a nenhum sistema, pertencia a um sistema próprio. Os aspectos quantitativos das reações com o reagente Z, preparado a partir de anti-soro de coelho, eram semelhantes aqueles vistos para o fator F e indicavam que as reações fortes e fracas correspondiam aos genótipos homozigotos e heterozigotos do alelo  $Z^Z$ . Dois alelos foram encontrados:  $Z^Z$  e  $Z^z$ . Diversos laboratórios possuem reagentes de dosagem que detectam o genótipo  $Z^z/Z^z$ .

### Sistema R'

O sistema R' foi descrito por Miller, em 1961 (*apud* STORMONT, 1962). É o único sistema fechado conhecido em bovinos, em que não há dúvidas sobre a inexistência de indivíduos com fenótipo negativo. Apresenta dois alelos codominantes,  $R'R'$  e  $R'S'$ , cada um controlando a presença do fator correspondente.

## 2.2. Polimorfismos bioquímicos do sangue

As proteínas são moléculas que exibem carga elétrica, a qual depende da composição de aminoácidos e do pH do meio em que se encontram. Quando o pH do meio é menor do que o seu ponto isoelétrico, a proteína apresenta carga positiva. Quando o pH do

meio é maior do que o seu ponto isoelétrico, a proteína apresenta carga negativa. No ponto isoelétrico a proteína não apresenta carga líquida. Devido a essa propriedade, proteínas diferentes podem ser separadas em um campo elétrico. Esse é o princípio do procedimento da eletroforese, idealizado por Tiselius, em 1937.

O método de Tiselius desenvolvia-se com as proteínas em solução, o que era tecnicamente difícil. Métodos subsequentes utilizaram um meio suporte estável para a separação das proteínas. O primeiro meio estável usado foi o papel de filtro, em meados da década de 50. Praticamente na mesma época, introduziu-se o uso de géis na eletroforese, envolvendo inicialmente géis de agar. A introdução do gel de amido foi feita em 1955, e somente no final da década desenvolveu-se a eletroforese em gel de poliacrilamida (cf. BREWER, 1970, p. 3). O emprego de géis, principalmente os de amido e de poliacrilamida, proporcionou uma maior resolução à separação das proteínas.

Com o advento da eletroforese em gel de amido (SMITHIES, 1955), e o seu emprego em grande escala, abriu-se um novo campo na Genética Bioquímica, com a investigação de formas geneticamente variantes de proteínas. Essa categoria de características, detectada por eletroforese, é tradicionalmente designada por polimorfismo bioquímico. Nos animais, a investigação desse polimorfismo tem sido feita principalmente no sangue, em termos das proteínas presentes no plasma e nas células sanguíneas, pela facilidade de obtenção desse material biológico e pela diversidade de proteínas que podem ser analisadas.

O princípio da eletroforese é o de que proteínas

diferentes migram diferentemente em um meio suporte, quando submetidas à passagem de corrente elétrica. A migração, ou separação, das proteínas depende de quatro propriedades: carga, ponto isoelétrico, tamanho e conformação. Com o propósito de transmitir a corrente elétrica, o meio suporte é preparado com uma solução-tampão. Quanto mais carga exibir a proteína, mais rapidamente ela migrará no meio suporte.

Além do efeito da carga, em géis como os de amido e de poliacrilamida, o tamanho da proteína tem um efeito fundamental na migração. Isso ocorre porque nesses géis formam-se poros na matriz de polímeros que constitui o gel, os quais funcionam como um verdadeiro filtro na passagem das proteínas. No gel de agar o tamanho dos poros é grande e esse efeito de filtração das proteínas é mínimo e, portanto, a separação ocorre principalmente pela carga. Ao contrário, nos géis de amido e de poliacrilamida, o efeito de filtração é pronunciado e os géis podem ser planejados para ter diferentes tamanhos de poros. Por esse efeito de filtração, as proteínas maiores são retardadas na migração com relação às menores, e proteínas de mesma carga podem ser separadas com base no tamanho. A conformação da proteína exerce também um pequeno efeito nesse aspecto (FERGUSON, 1980, p. 34).

Com relação ao tampão utilizado, os sistemas de eletroforese podem ser contínuos ou descontínuos. No sistema contínuo, a mesma solução-tampão é utilizada no gel e nas cubas onde são colocados os eletrodos. No sistema descontínuo, a solução-tampão do gel e das cubas dos eletrodos são diferentes (FERGUSON, 1980, p. 36).

Formas variantes de proteínas podem ser detectadas pela

técnica de eletroforese. A informação genética diferente no gene que codifica uma certa proteína pode levar a diferenças na seqüência de aminoácidos codificada por esse gene, determinando formas diferentes de uma mesma proteína coexistindo na população. Se essa diferença implicar em modificações na carga da proteína, isso poderá ser detectado por eletroforese. Geralmente, substituições de um ou poucos aminoácidos têm pouco efeito no tamanho e na conformação da proteína.

A técnica de eletroforese permite, portanto, detectar a variabilidade genética diretamente a partir da visualização do produto gênico. Há que se considerar, entretanto, que o total de locos polimórficos detectados por eletroforese representa uma subestimativa, uma vez que nem toda variabilidade gênica manifesta-se em variação protéica detectada eletroforeticamente. A análise do código genético mostrou que, considerando apenas as mudanças não redundantes de uma única base, de 399 mudanças possíveis, apenas 128, ou 32%, implicavam em alteração de carga (LEWONTIN, 1974, p. 113). O refinamento e a combinação de várias técnicas podem elevar esse valor (LEWONTIN, 1974, p. 113; BAKER & MANWELL, 1983, p. 369).

Como uma técnica que possibilita avaliar o grau de polimorfismo das populações, a eletroforese tem a vantagem de detectar tanto os locos polimórficos como os que não exibem polimorfismo. Uma outra vantagem dessa técnica é que, pelo fato de os polimorfismos bioquímicos serem geralmente controlados por alelos codominantes, o genótipo pode ser determinado diretamente a partir do fenótipo mostrado no gel.

A aplicação do método de eletroforese revelou uma grande quantidade de polimorfismo genético nas populações.

O primeiro sistema de polimorfismo bioquímico descrito em bovinos foi o da hemoglobina, em 1955, por Cabannes e Serain (*apud* BRAEND, 1971), ainda com a eletroforese em papel. O polimorfismo da transferrina foi descrito a seguir, em 1957, independentemente por Ashton (*apud* ASHTON, 1958) e por Hickman e Smithies (*apud* SMITHIES & HICKMAN, 1958), utilizando a eletroforese em gel de amido. A partir daí, diversas proteínas foram analisadas e diversos polimorfismos foram revelados.

A seguir serão descritos com maiores detalhes os sistemas protéicos do sangue de bovinos que foram estudados nesta pesquisa.

#### 2.2.1. Albumina

A albumina (Al) é a proteína que existe em maior quantidade no soro de mamíferos, onde constitui 43% do total de proteínas. Na eletroforese para separação dos vários componentes protéicos do soro, a pH 8,5, a albumina apresenta a mobilidade mais rápida. Apesar de não ser conhecida completamente, sua principal função fisiológica é o transporte de substâncias, uma vez que se liga facilmente a vitaminas, hormônios, ácidos graxos e íons metálicos.

O polimorfismo de albumina de bovinos foi descrito concomitantemente, em 1964, por ASHTON e por BRAEND & EFREMOV. Estudando raças européias, os últimos autores encontraram três fenótipos de albumina e sugeriram que a variabilidade era controlada por um loco autossômico com dois alelos codominantes.

que designaram  $Al^F$  e  $Al^S$ , cada um determinando uma zona no gel, em ordem decrescente de mobilidade. ASHTON (1964), estudando raças européias, zebuínas e africanas criadas na Austrália, observou o mesmo tipo de variação designando os alelos como  $Al^A$  e  $Al^B$ . Ele cita, porém, um trabalho que já havia sido feito em raças do leste africano, mas que foi publicado posteriormente (ASHTON & LAMPKIM, 1965), onde cinco fenótipos foram encontrados, referentes a três formas variantes de albumina ( $Al^A$ ,  $Al^B$  e  $Al^C$ , em ordem decrescente de mobilidade eletroforética). Os autores postularam a existência de três alelos autossômicos codominantes para explicar tal variação.

Em bovinos de Zâmbia foram descritas três novas variantes de albumina, denominadas  $Al^D$ ,  $Al^E$  e  $Al^F$ , de migração intermediária e decrescente entre  $Al^A$  e  $Al^B$  (CARR, 1966). SPOONER & OLIVER (1969), ao estudar diversas raças das ilhas britânicas, observaram a ocorrência de  $Al^D$  e relataram uma nova variante, designada  $Al^G$ , de migração mais rápida do que a  $Al^A$  e encontrada em quatro animais da raça Hereford, aparentemente em homozigose. Os autores comentaram que não havia evidências suficientes para considerar que ela fosse geneticamente determinada. DI STASIO et al. (1980) relataram na raça zebuina Boran, da Somália, a ocorrência de um animal com fenótipo GB, sem fazer, porém, nenhuma comparação da  $Al^G$  com dados da literatura. ABE et al. (1972) comentaram sobre a ocorrência de uma variante que chamaram  $Al^X$ , em dois animais da raça zebuina Taiwan Yellow, sem, entretanto, fazer qualquer comentário sobre sua mobilidade eletroforética. Como esses

autores não consideraram a existência da Al C, pode-se supor que a Al X seja na verdade a Al C, já descrita anteriormente em zebuínos.

O padrão de mobilidade eletroforética das variantes de albumina é apresentado na FIG. 4.

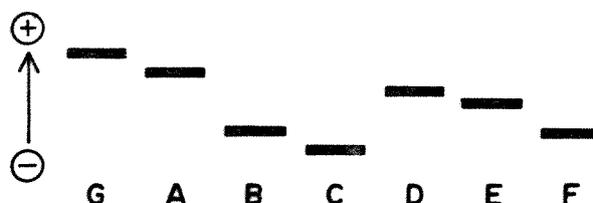


FIGURA 4. Mobilidade eletroforética da albumina em gel de amido, pH 6,5.

### 2.2.2. Anidrase carbônica

A anidrase carbônica (CA) é uma das enzimas importantes da hemácia, sendo depois da hemoglobina, a proteína mais abundante. Sua principal função é catalisar a hidratação reversível do dióxido de carbono em ácido carbônico, o que tem um papel importante na manutenção do equilíbrio ácido-básico do sangue e dos tecidos. Os vários estudos efetuados na espécie humana demonstraram que nessa espécie, do mesmo modo que em várias outras, existem dois tipos de anidrase carbônica, CAI e CAII, controladas por locos distintos. A CAI tem baixa atividade específica pelo dióxido de carbono e existe em maior concentração do que a CAII, que tem alta atividade específica. Em ruminantes, no gato e no golfinho, estudos bioquímicos têm demonstrado que apenas a CAII está presente na hemácia, pois em todos os casos, a enzima testada mostra alta atividade de hidratação do dióxido de carbono, parecendo homóloga à CAII (TASHIAN & CARTER, 1976).

Além de sua função como hidratase, ela também atua como esterase para certos produtos (a e B-naftil acetato). A atividade esterásica da anidrase carbônica possibilitou a sua demonstração em gel de amido e a investigação de formas variantes. Devido à sua concentração relativamente alta na hemácia, as bandas de anidrase carbônica também podem ser identificadas no gel pela coloração com corantes comuns de proteínas (SOOS, 1972). Para melhor visualização das variantes, a enzima pode ser extraída dos hemolisados com uma mistura de etanol e clorofórmio que precipita a hemoglobina (ROUGHTON & BOOTH, 1946). As zonas de anidrase carbônica também podem ser vistas no gel usando-se o substrato fluorogênico acetato de 4-metil umbeliferona, de acordo com método de Hopkinson *et al.* (*apud* TASHIAN & CARTER, 1976).

Em bovinos, o polimorfismo da anidrase carbônica foi primeiramente descrito por SARTORE *et al.* (1969). Os autores demonstraram uma região de atividade de esterase (hidrólise de a-naftil acetato e B-naftil acetato), que era inibida por acetazolamida, inibidor específico de anidrase carbônica. Nesse estudo, analisando amostras de bovinos e de bisão americano, encontrou-se variação intra-específica nessas duas espécies. As duas zonas de migração eletroforética encontradas em bovinos foram chamadas de CA S e CA F, sendo que a CA F migrava mais rápido. Essa variação foi atribuída a dois alelos autossômicos codominantes, designados  $CA^F$  e  $CA^S$ .

Posteriormente, algumas variantes raras foram descritas. Sartore, em 1970, encontrou uma variante na raça Piemontesa, designada CA S Piedmont, que migrava logo abaixo

da CA S (apud STORMONT et al., 1972). STORMONT et al. (1972) relataram a ocorrência de uma zona de migração mais rápida que CA F, que chamaram de CA C.

A maioria desses trabalhos foi feita com hemolisado comum como fonte de proteína. Utilizando extratos da enzima em álcool-clorofórmio, PENEDO et al. (1982) identificaram uma outra zona, com atividade de esterase e de anidrase carbônica, em raças zebuínas criadas no Brasil, que migra abaixo da CA S, logo após o ponto de inserção das amostras. Essa variante, designada CA Z, apareceu em vários animais, indicando que não se tratava de uma variante rara. Os autores sugeriram a existência de um alelo, CA<sup>Z</sup>, controlando o aparecimento desse tipo de anidrase carbônica. Sugeriram, também, que o procedimento de extração de anidrase em álcool-clorofórmio deve ser o método escolhido para tipagem desse sistema em zebuínos, uma vez que no hemolisado comum a hemoglobina migra na mesma posição, mascarando a zona da CA Z. Em um estudo com 3 raças indianas, SHANKER et al. (1983) observaram na raça Sahiwal uma variante de mobilidade um pouco inferior à CA S, denominada CA S Sahiwal, não tendo sido possível a comparação com CA S Piedmont. O que surpreendeu os autores do trabalho foi a ocorrência de quatro animais em aparente homozigose, apesar da raridade dessa forma variante. Como não foi utilizada a técnica de extração em álcool-clorofórmio para todas as amostras, a presença de hemoglobina pode ter mascarado a variante CA Z, fato não levado em conta pelos autores.

A posição relativa das variantes de anidrase carbônica é mostrada na FIG. 5. Cada alelo determina uma zona no gel e o heterozigoto apresenta as duas zonas.



FIGURA 5. Mobilidade eletroforética da anidrase carbônica em gel de amido, pH 7,3.

### 2.2.3. Hemoglobina

A hemoglobina (Hb) é a proteína mais abundante nas hemácias de mamíferos, constituindo mais de 95% do total de proteínas solúveis. Ela é formada de um grupo heme prostético e a apoproteína globina. A parte da globina normalmente consiste de um tetrâmero de duas cadeias polipeptídicas diferentes,  $\alpha$  e  $\beta$  (ou não- $\alpha$ ). Sua função é o transporte de gases no organismo.

O polimorfismo de hemoglobina em bovinos foi primeiramente descrito por Cabannes e Serain, em 1955 (*apud* BRAEND, 1971), que, pelo uso da técnica de eletroforese em papel, em pH alcalino, encontraram três fenótipos em gado algeriano da montanha. Essa variação foi atribuída ao controle genético de um loco autossômico com dois alelos codominantes. BANGHAM & BLUMBERG (1958) designaram esses alelos por  $Hb^A$  e  $Hb^B$ , cada um determinando uma zona de migração no gel, em ordem crescente de mobilidade. Nos anos seguintes vários estudos sobre formas variantes de hemoglobina em gado foram feitos, usando técnicas iguais ou melhoradas.

CROCKETT *et al.* (1963) relataram uma variante rara em gado Brahman, a que chamaram Hb C, de migração intermediária entre Hb A e Hb B. NAIK *et al.* (1965) relataram uma forma variante rara de hemoglobina com taxa de migração similar, em gado indiano das raças Khillari, Kankrej e Dangi. Eles a chamaram de Hb X, porém foram de opinião que ela devia ser a mesma Hb C reportada por CROCKETT *et al.* (1963) em gado Brahman. Outros autores reportaram uma variante de hemoglobina similar, isto é, de migração intermediária entre as zonas A e B, em outras raças: em Angoni, Barotse e Tonga, por Carr, em 1964; em Africander, Bonsmara e Drakensberg, por Osterhoff e Van Heerden, em 1965; em gado do Japão, Formosa e Coreia, por Oishi *et al.*, em 1968; em Hariana, por Khanna *et al.*, em 1970 (*apud* SCHWELLNUS & GUERIN, 1977); em Gudali e Red Bororo, por BRAEND & KHANNA (1968); em Malvi, Rathi e Kumaoni, por NAIK *et al.* (1969); e, em Zebu do leste africano, por BRAEND (1971).

Uma outra variante rara, migrando abaixo da Hb A, foi identificada por NAIK & SANGHVI (1964), que a designaram por Hb Khillari, devido à raça em que foi encontrada. Também em gado coreano foi relatada a ocorrência de uma forma mais lenta que a forma Hb A, designada como Hb H (HAN & SUZUKI, 1976). Uma variante lenta rara foi encontrada por Carr, em 1965, em gado Angoni, que a chamou de Hb D Zambia (*apud* BRAEND, 1972). EFREMOV & BRAEND (1965) e BRAEND *et al.* (1965) relataram o achado de uma variante que eles chamaram Hb D e que migrava um pouco abaixo da Hb A, em gado Muturu. Oishi *et al.*, em 1968 (*apud* BRAEND, 1972), encontraram duas variantes raras chamadas Hb X e Hb Y em gado coreano, mas de acordo com os autores elas devem corresponder à

Hb D e Hb Khillari relatadas por BRAEND *et al.* (1965) e por NAIK *et al.* (1965), respectivamente. Uma variante de migração mais lenta do que Hb D Zâmbia e Hb D foi observada por BRAEND (1971) em três animais de gado Zebu do leste africano, que a chamou de Hb G.

BRAEND (1971) efetuou um estudo comparativo com dados da literatura sobre mobilidades eletroforéticas relativas das diversas variantes encontradas. Uma das conclusões desse trabalho foi que havia duas Hb C diferentes descritas na literatura: uma em bovinos africanos e a outra em bovinos indianos. SCHWELLNUS & GUERIN (1977) testando ao mesmo tempo gado indiano e africano, comprovaram tratar-se de duas variantes distintas. Sugeriram que o nome Hb C fosse mantido para a variante encontrada em Brahman (CROCKET *et al.*, 1963) e que a variante encontrada posteriormente em gado africano fosse chamada Hb I. As zonas de Hb C e Hb I são intermediárias entre Hb A e Hb B, sendo que Hb I é de migração mais lenta que Hb C.

A estrutura primária das cadeias polipeptídicas da hemoglobina de animais adultos foi estudada por Schroeder *et al.*, em 1967, que demonstraram que a molécula é constituída por duas cadeias alfa e duas cadeias beta, com 141 e 145 aminoácidos, respectivamente (*apud* BRAEND, 1972). Comparando a Hb A e Hb B, os autores demonstraram que a cadeia alfa é idêntica entre as duas e que a variação entre elas é resultado de diferenças na cadeia beta. Nas posições 15, 18 e 119 da cadeia beta da Hb A estão os aminoácidos glicina, lisina e lisina, respectivamente, enquanto que na Hb B estão serina, histidina e asparagina.

respectivamente. Desde que se assume que cada cadeia polipeptídica é governada por um loco, então a variação de Hb A e Hb B é controlada pelo loco da cadeia beta. Segundo BRAEND (1971), as diferenças entre as variantes Hb C e Hb D devem igualmente ocorrer no loco da cadeia beta. A comparação da taxa de migração das cadeias alfa e beta das variantes Hb A, Hb B, Hb C e Hb I foi efetuada por SCHWELLNUS & GUÉRIN (1977), utilizando a técnica de eletroforese em gel de amido com uréia. Os resultados revelaram diferenças de mobilidade nas cadeias beta de todas as variantes enquanto nenhuma diferença foi detectada na taxa de migração de suas respectivas cadeias alfa.

A mobilidade relativa das variantes de hemoglobina está apresentada na FIG. 6. Cada alelo determina o aparecimento de uma banda no gel, sendo que o heterozigoto apresenta as duas bandas correspondentes a cada alelo.

Schroeder et al., em 1972 (apud NAMIKAWA et al., 1987), compararam a estrutura das cadeias beta da Hb A da raça Hereford e da Hb D Zâmbia da raça Angoni, verificando que elas diferiam em duas substituições de aminoácidos, na posição 20, onde a asparargina foi substituída por glicina e, na posição 43, onde a serina foi substituída por treonina. A substituição na posição 43 não teve efeito na carga elétrica da proteína, mas a outra reduziu a carga negativa da globina. Supondo que essas duas mutações de ponto em diferentes codons tenham ocorrido em dois estágios, NAMIKAWA et al. (1987) pesquisaram a estrutura da cadeia beta de Hb A de Hereford e de Ongole, as quais são eletroforeticamente indistinguíveis. Foi encontrado que elas efetivamente diferiam na posição 43, onde serina foi substituída

por treonina, concluindo-se que a cadeia designada como B<sup>A</sup> Zebu de Ongole (*Bos indicus*) era um tipo evolutivo intermediário entre a B<sup>A</sup> de Hereford (*Bos taurus*) e a B<sup>D</sup> Zâmbia de gado Zebu africano (*Bos indicus*).

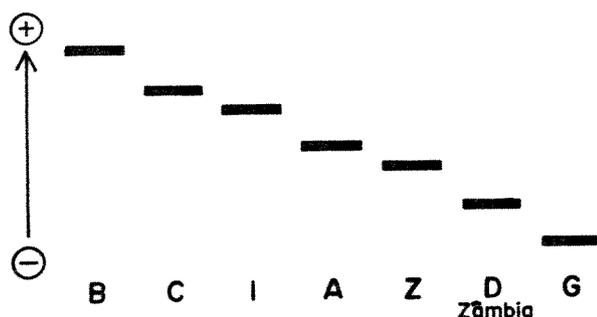


FIGURA 6. Mobilidade eletroforética da hemoglobina em gel de amido, pH 9,0 (adaptado de BRAEND, 1971).

#### 2.2.4. Transferrina

A transferrina (Tf) é uma proteína que faz parte da fração B-globulinica do soro e que tem por função o transporte de ferro no organismo. Dentre os vertebrados não humanos, as variantes de transferrina bovina foram as primeiras a serem descobertas e estudadas intensivamente (LUSH, 1966).

O polimorfismo da transferrina em bovinos foi descrito independentemente, em 1957, por Ashton (*apud* ASHTON, 1958) e por Hickman e Smithies (*apud* SMITHIES & HICKMAN, 1958) que, utilizando a técnica de eletroforese em gel de amido, encontraram cinco fenótipos em gado europeu. ASHTON (1958) e SMITHIES & HICKMAN (1958) postularam que a variação observada era atribuída a um loco autossômico com três alelos ( $Tf^A$ ,  $Tf^D$  e  $Tf^E$ ).

Posteriormente, ASHTON (1959), estudando gado Zebu, sugeriu a ocorrência de dois alelos adicionais ( $Tf^B$  e  $Tf^F$ ) para explicar fenótipos variantes encontrados nesse gado. Nesses trabalhos originais, a proteína estudada era designada genericamente como B-globulina. Giblett et al., em 1959 (apud ODGEN, 1961) demonstraram que o polimorfismo descoberto referia-se a um grupo especial de proteínas que ligavam ferro, denominadas transferrinas. O símbolo Tf, originalmente usado em humanos para designar o loco que controla a transferrina, passou a ser empregado daí por diante (GAHNE, 1961).

Modificações técnicas baseadas no sistema de tampão descontínuo de POULIK (1957), possibilitaram uma diferenciação na Tf D, a qual foi subdividida em Tf D<sub>1</sub> e Tf D<sub>2</sub>, com uma pequena diferença de mobilidade entre elas, e explicadas por dois alelos,  $Tf^{D_1}$  e  $Tf^{D_2}$  (KRISTJANSSON & HICKMAN, 1965). Uma variante rara, denominada Tf G, de migração mais lenta que Tf E, foi descrita por OSTERHOFF & VAN HEERDEN (1964), com frequência de 0,001. ASHTON & LAMPKIN (1965), quase concomitantemente, descreveram uma variante de migração mais rápida que Tf A, a qual também denominaram Tf G. Esta variante foi observada em três animais aparentados da raça Boran do leste africano. Estudos posteriores não detectaram essas duas variantes denominadas Tf G (JAMIESON, 1965; BRAEND & KHANNA, 1967; BRAEND & KHANNA, 1968).

Uma variante de migração mais rápida do que a Tf G (ASHTON & LAMPKIN, 1965) foi descrita na raça Piemontesa e denominada Tf H (SARTORE & BERNOCCO, 1966).

Uma variante denominada Tf N foi observada por BRAEND & KHANNA (1967) em gado da Noruega, com frequência de 0,004. Essa

variante, que os autores comentam ter sido observada anteriormente por GAHNE (1961), apresentou um padrão de migração similar a Tf F, porém, as bandas da Tf N tinham mobilidade ligeiramente menor do que as da Tf F.

TSUJI et al. (1981) observaram uma variante de migração mais lenta que a Tf E, em gado do Japão, que denominaram Tf J, comentando que correspondia a variante Tf X, observada por Abe et al. (1968), em gado coreano.

Em diferentes espécies os alelos do loco da transferrina são responsáveis por um número característico de bandas (JAMIESON, 1965). Em bovinos, cada alelo determina o aparecimento de quatro zonas de proteínas uniformemente espaçadas, das quais a mais rápida cora-se levemente, a seguinte cora-se moderadamente e, as duas mais lentas, coram-se intensamente (ASHTON, 1959). Uma série de seis alelos controla os tipos principais de transferrina bovina:  $Tf^A$ ,  $Tf^B$ ,  $Tf^{D_1}$ ,  $Tf^{D_2}$ ,  $Tf^E$  e  $Tf^F$ . A posição relativa da mobilidade eletroforética das zonas controladas por cada alelo é mostrada na FIG. 7. Os genótipos heterozigotos apresentam um padrão relativo a sobreposição dos padrões dos homozigotos correspondentes, sendo que nesses últimos, todas as bandas aparecem mais intensamente coradas do que as mesmas bandas no heterozigoto.

### 2.3. Aplicações dos estudos de grupos sanguíneos e de polimorfismos bioquímicos de bovinos.

Desde os primeiros trabalhos sobre grupos sanguíneos de bovinos ficou evidente a utilidade dessa característica em detectar erros de genealogia (FERGUSON, 1941; FERGUSON et al.,

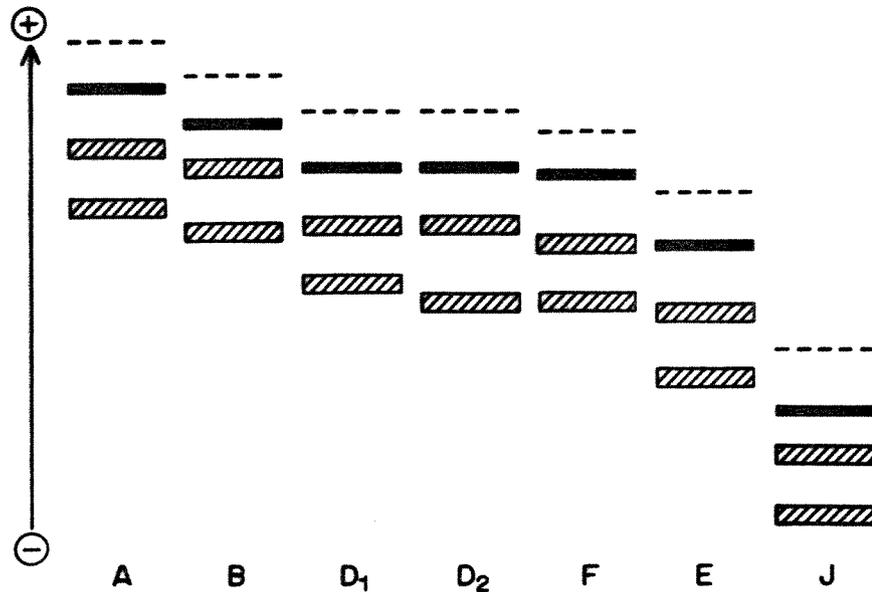


FIGURA 7. Mobilidade eletroforética da transferrina em gel de amido, pH 7,3.

1942). A descrição do polimorfismo de proteínas do sangue, que se sucedeu ao advento da eletroforese em gel de amido (SMITHIES, 1955), mostrou que essa classe de marcador genético complementaria o papel dos grupos sanguíneos nessa aplicação. Essa utilidade baseava-se na observação de que cada fator sanguíneo ou variante protéica aparecia em um indivíduo, somente quando presente em pelo menos um dos genitores e que, qualquer exceção a essa regra, seria motivo de ilegitimidade. A possibilidade de aplicação prática, por outro lado, contribuiu grandemente para o desenvolvimento das pesquisas nessas áreas.

O desenvolvimento dos testes de paternidade em bovinos, a partir da década de 40, foi de grande valia para os serviços de registro genealógico das associações de raças. STORMONT (1982) relatou que havia cerca de 30 laboratórios em todo o mundo

realizando a técnica de tipagem sanguínea para várias associações.

Do ponto de vista prático, a aplicação mais direta da tipagem sanguínea é o seu uso para identificar animais e, conseqüentemente, resolver casos de paternidade duvidosa, auxiliando assim a preservar a acurácia e a integridade dos registros genealógicos das raças. Ao contrário dos marcadores artificiais (tatuagem, brincos, etc.) ou naturais (cor de pelagem, redemoinhos, etc.), os marcadores genéticos detectados por tipagem sanguínea são inalteráveis e persistem durante toda a vida. Assim, tendo-se os dados de tipos sanguíneos de um animal, eles podem ser utilizados mesmo após a sua morte, o que tem especial importância nos casos de verificação de paternidade envolvendo semen de touros mortos. O uso da tipagem sanguínea como meio de identificar um animal baseia-se no grande número de combinações de tipos sanguíneos que são possíveis quando todos os sistemas são considerados em conjunto. Devido ao grande número de sistemas testados e à variabilidade existente em cada um, é extremamente improvável que dois animais não relacionados tenham os mesmos tipos sanguíneos (STORMONT, 1973b; 1977).

Com a introdução em grande escala da inseminação artificial, na década de 50 (cf. WARWICK & LEGATES, 1979), diversas associações de raças em todo o mundo tornaram obrigatória a tipagem sanguínea de touros doadores de semen. Assim é que, já em 1947, a Associação de Gado Leiteiro Puro dos Estados Unidos passou a exigir que todo touro, cujo semen fosse utilizado em programas de seleção leiteira, tivesse os seus tipos

sanguíneos identificados e arquivados (STORMONT, 1973b). No Brasil essa exigência partiu do Ministério da Agricultura, que, em 1985, baixou uma portaria regulamentando o assunto. Essa conduta visa assegurar a possibilidade de esclarecer dúvidas a respeito da paternidade de produtos nascidos por essa técnica, até mesmo depois de o touro estar morto. Mais recentemente, a prática da transferência de embriões, que permite uma maior propagação do germoplasma pelo lado materno, tem merecido exigências similares. No Brasil, existe regulamentação do Ministério da Agricultura determinando que todo produto de transferência de embrião, para ser registrado na associação de raça, deve ter a filiação verificada por tipagem sanguínea.

Com relação a essa aplicação, deve ser lembrado que o valor da prova consiste em demonstrar que o touro e/ou a vaca não podem ser os pais do produto em questão, concluindo-se, nesse caso, pela exclusão da filiação. Quando os pais se qualificam, essa não é uma prova incontestável de que eles sejam os pais verdadeiros. Qualquer pessoa familiarizada com a metodologia sabe que se fosse procurado extensivamente, poderiam ser encontrados outro touro e/ou vaca que se qualificassem como pais do produto. Entretanto, considerando-se todas as circunstâncias extenuantes do caso, pode ser assumido, com grande segurança, que as relações de paternidade verificadas por tipagem sanguínea são corretamente determinadas, quando todos os animais envolvidos no caso são tipados.

A eficácia dessa prova pode ser entendida como a probabilidade de exclusão de falsos pais. Considerando a tipagem para 60 fatores sanguíneos, pertencentes a 10 sistemas, e para 4

sistemas de proteínas, STORMONT (1977) relatou uma probabilidade maior do que 90% para a análise efetuada em seu laboratório. Uma eficácia de 100% é teoricamente inatingível. A possibilidade de resolver casos de paternidade duvidosa depende do grau de variação dos tipos sanguíneos em cada raça, sendo que, quanto maior a variação, maior a chance de se detectar erros de paternidade.

Uma outra aplicação da tipagem sanguínea à criação animal é o diagnóstico precoce da condição de "freemartinismo" nas fêmeas nascidas co-gêmeas de machos. Essa aplicação baseia-se no trabalho de OWEN (1945), que demonstrou a ocorrência de quimerismo eritrocitário em gêmeos dizigóticos, como consequência de anastomoses vasculares durante a vida intrauterina. A frequência de fêmeas "freemartin" é baixa e depende da prevalência de nascimentos gemelares em bovinos, a qual é geralmente tida como sendo de 1 a 3%. A frequência de "freemartinismo", expressa como a proporção de fêmeas inférteis entre gêmeos heterossexuais, gira em torno de 92% (MARCUM, 1974). Portanto, apenas 8% das fêmeas nascidas co-gêmeas de machos poderão ser normais na vida adulta. Apesar do pequeno número, muitas vezes é desejável, como no caso de plantéis de elite, o diagnóstico precoce e consequente descarte de fêmeas que serão improdutivas na vida adulta. A demonstração de quimerismo eritrocitário em gêmeos de sexo diferente, por tipagem sanguínea, é uma evidência conclusiva de que a fêmea será estéril na vida adulta.

A detecção do tipo de gemelaridade, uma outra aplicação

da tipagem sangüinea, baseia-se na demonstração de identidade dos tipos sangüneos entre os gêmeos. A não identidade ou ocorrência de quimerismo eritrocitário significa dizigosidade. Monozigosidade, entretanto, nunca é definitivamente provada. Apesar de muito pequena, existe a chance de gêmeos dizigóticos herdarem os mesmos tipos sangüneos. Com relação aos sistemas eritrocitários, uma possível causa de identidade é a substituição completa de uma das populações de células pela outra (STORMONT, 1967).

Um dos principais interesses da clinica veterinária nos grupos sangüneos de bovinos é a aplicação desse conhecimento na prevenção das reacões pós-transfusionais. O achado de doadores e receptores compatíveis é limitado pela grande variação nos grupos sangüneos. A tipagem sangüinea pode orientar na escolha de um doador que difira do receptor quanto a fatores com baixa imunogenicidade, evitando-se aqueles que sejam altamente imunogênicos, tais como, A<sub>1</sub>, U<sub>1</sub> e Z (STORMONT, 1982). A presença de anticorpos naturais também deve ser analisada. Sintomas de choque pós-transfusional foram observados em animais que apresentavam anti-J ou anti-V naturais, quando inoculados com hemácias positivas para um desses fatores (BRAEND, 1959). Testes cruzados com sangue do receptor e doador são recomendados. Em qualquer eventualidade, entretanto, é aconselhável proceder-se à injeção de pequeno volume de sangue, antes da transfusão propriamente dita (BRAEND, 1959).

A ocorrência de uma grande quantidade de polimorfismo nos marcadores genéticos do sangue tem levado muitos pesquisadores a procurarem associações genéticas entre esses

marcadores e características de interesse econômico. Uma questão que está embutida nessa linha de pesquisa é se os grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos são neutros ou se estão relacionados a alguma superioridade no valor adaptativo do indivíduo. A existência de associação poderia explicar como o polimorfismo é mantido. Associações genéticas entre tipos sanguíneos e características de interesse econômico podem surgir principalmente de três maneiras (JOHANSSON & RENDEL, 1968): a) pleiotropia, quando o gene que determina um tipo sanguíneo também influencia um caráter de interesse econômico; b) ligação entre dois locos, um dos quais controla um marcador genético e o outro, uma característica de produção; c) superioridade do heterozigoto em um dado loco que controla um tipo sanguíneo, o que teria um efeito positivo na viabilidade e conseqüentemente nas características de produção e reprodução.

A motivação para essa procura vem também do interesse em se poder usar marcadores genéticos para orientar e acelerar a seleção artificial. Essa expectativa, entretanto, não tem sido verificada. As características de produção são controladas por vários genes e, além disso, são grandemente influenciadas por fatores do ambiente. Por essas razões, uma alta correlação entre os tipos sanguíneos e caracteres de produção não é geralmente esperada (NEIMANN-SORENSEN & ROBERTSON, 1961; JOHANSSON & RENDEL, 1968).

A ausência de associações genéticas envolvendo caracteres importantes de produção seria esperada, pois a forte seleção praticada sobre eles tenderia a diminuir grande parte do

polimorfismo em qualquer loco relacionado. Os locos que permanecem polimórficos são aqueles, portanto, que estão fracamente relacionados a tais caracteres. Uma conclusão é que se esperaria encontrar associações com características que não foram objeto de muita seleção, porque não são de interesse econômico, porque não são facilmente incluídas em programas de seleção ou, simplesmente, porque não são observadas pelos produtores (CUNNINGHAM, 1976).

Vários pesquisadores têm examinado a associação entre tipos sanguíneos e características de interesse econômico. Dados conclusivos ainda não foram estabelecidos. Algumas associações, contudo, foram evidenciadas.

A principal delas foi a associação positiva entre o alelo  $B^B_1O_1Y_2D'$ , do sistema B de grupos sanguíneos e a porcentagem de gordura no leite, encontrada por NEIMANN-SORENSEN & ROBERTSON (1961), RENDEL (1961) e CONNEALLY & STONE (1965), em rebanhos leiteiros da Suécia, Dinamarca e Estados Unidos, respectivamente. Esses autores observaram que esse alelo proporcionava um acréscimo de 0,06, 0,16 e 0,33 unidades na porcentagem de gordura, respectivamente. Os últimos autores comentam que a associação deve ser resultado de pleiotropia, uma vez que seria improvável que outro efeito estivesse operando em rebanhos diferentes. DATTA et al. (1965) não encontraram diferença na produção de leite, porcentagem de gordura e fertilidade com relação ao genótipo da transferrina, estudando a raça Holandesa nos Estados Unidos. ASHTON & HEWETSON (1969), estudando 932 lactações, observaram, contudo, um efeito positivo do alelo  $Tf^D_2$  sobre produção de leite e duração da lactação.

mas não sobre porcentagem de gordura. O alelo  $Tf^{D1}$  não diferiu de  $Tf^A$ . Estudando dados de fertilidade, KUSHNER et al. (1973) verificaram no sistema de transferrina uma influência positiva do alelo  $Tf^E$ , em uma das duas raças estudadas. Como esse efeito ocorreu apenas em uma das duas fazendas analisadas, concluíram que se tratava de um efeito de ligação genética. Os alelos da hemoglobina não mostraram nenhuma influência. HARGROVE et al. (1980), analisando várias características de reprodução e locos de grupos sanguíneos e do sistema de transferrina, comentaram que os resultados observados mostram vários aspectos conflitantes, tais como, variação do fenótipo superior conforme o caráter considerado, raridade do fenótipo superior e diferença entre machos e fêmeas. Os autores concluíram que, com exceção do sistema S de grupos sanguíneos, que mostrou uma diferença de 13%, é improvável que a seleção com base nesses sistemas sanguíneos possa levar a um aumento na eficiência reprodutiva em bovinos.

ASHTON et al. (1968), estudando a amilase, uma proteína do soro, em várias raças da Austrália, encontraram uma associação positiva entre o alelo  $AmI^C$  e grau de infestação pelo carrapato *Boophilus microplus*. Concluíram que esse alelo confere uma desvantagem adaptativa nas áreas onde o carrapato é endêmico. Sabe-se que nessas áreas o gado Zebu é menos infestado do que o gado europeu. Em raças zebuínas, os alelos  $AmI^B$  e  $AmI^C$  ocorrem com frequências de 0,9 e 0,1, respectivamente. Em raças taurinas o alelo  $AmI^C$  ocorre com frequência maior, de 0,4 a 0,7 (cf. BAKER & MANWELL, 1980).

Uma outra aplicação dos dados de tipos sanguíneos é na

análise populacional. Grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos são marcadores genéticos de grande valia nesse tipo de análise, pois as estimativas de suas frequências gênicas representam parâmetros imparciais para o estudo da estrutura e da dinâmica das populações e das raças. Além de exibirem modo simples de herança, eles podem ser considerados praticamente neutros com respeito à viabilidade, produção e reprodução. Seguramente, não são objetos diretos da seleção artificial praticada pelos criadores, porque não são visíveis externamente. Embora algumas associações com características de interesse econômico tenham sido aventadas, os tipos sanguíneos parecem participar apenas com uma pequena fração na variabilidade total dessas características (RENDEL, 1967).

A caracterização racial pode ser feita pelo estudo dos tipos sanguíneos. A estrutura de uma determinada raça pode ser definida em termos dos desvios das proporções esperadas sob a hipótese de equilíbrio genético. Tais desvios servem de base para se especular sobre efeitos de seleção e sistemas de acasalamento. O estudo de comparação genética entre raças pode fornecer dados sobre a história evolutiva das mesmas e esclarecer suas origens comuns e áreas de formação (ASTOLFI et al., 1983).

#### **2.4. Estudos raciais**

Estudos das frequências dos grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos do sangue foram feitos em várias raças. Antes de apresentar dados da literatura a respeito desses marcadores genéticos, é conveniente analisar algumas informações sobre raças.

#### 2.4.1. Raças

O conceito de raça diz respeito à existência de grupos distintos dentro de uma espécie. Antes do conhecimento das bases genéticas da variabilidade dos indivíduos e das populações, as raças eram conceituadas estritamente do ponto de vista tipológico. Com o entendimento da variabilidade exibida pelas populações, ganhou-se uma maior compreensão sobre esse fenômeno biológico designado raça.

Raça é um conceito populacional. Assim, a raça não diz respeito a indivíduos, nem a genótipos particulares, mas a populações mendelianas geneticamente distintas. DOBZHANSKY (1973, p. 238) definiu raças como sendo populações que diferem entre si quanto às frequências de alelos ou variantes estruturais dos cromossomos. É importante compreender que as mesmas características que definem diferenças individuais estão envolvidas nas diferenças raciais. Os grupos sanguíneos são exemplos clássicos de polimorfismos intrapopulacionais e também de variabilidade interpopulacional. Pessoas de grupos sanguíneos diferentes (A e B, por exemplo) não são necessariamente de raças diferentes; entretanto, as raças diferem na prevalência desses caracteres (DOBZHANSKY, 1973, p. 239).

Em geral as raças são alopátricas, isto é, vivem em locais separados, o que explica, em grande parte, suas diferenças genéticas. Raças de animais domésticos, contudo, são geralmente simpátricas. A manutenção de sua separação é resultado de um esforço deliberado do criador (DOBZHANSKY, 1973, p. 238).

As espécies de animais domésticos estão basicamente

divididas em raças. Um grande número de raças é reconhecido entre os bovinos. FRIEND (1978, p. 26) relaciona 100 raças diferentes de bovinos, enquanto BAKER & HANWELL (1980) mencionam 216.

Segundo SANTIAGO (1985, p. 25), raça é o grupo fundamental da zootecnia e da pecuária, sendo, sob certos aspectos, resultado de convenções estabelecidas pelos criadores, que a definem por um padrão ou conjunto de características fenotípicas e aptidões de interesse econômico, e pelo fato de apresentar uma origem comum. Animais de uma mesma raça apresentam essas características em comum, assemelhando-se entre si e transmitindo-as aos seus descendentes.

As raças podem apresentar variedades. Na raça Gir, criada no Brasil, por exemplo, existem a variedade de chifre e a variedade mocha, que diferem quanto à presença desse apêndice. São ainda reconhecidas nessa raça, a variedade de corte e a variedade leiteira. A presença de chifres nas raças taurinas é considerada uma característica controlada por um gene autossômico recessivo, sendo que o alelo dominante condiciona a sua ausência, conferindo ao animal a característica mocha. Em zebuínos, locos adicionais parecem controlar a presença de chifres (WARWICK & LEGATES, 1979, p. 123).

Na história do melhoramento animal, um desenvolvimento notável foi alcançado como fruto dos trabalhos do criador inglês Robert Bakewell, que, em meados do século 18, estabeleceu os fundamentos para a formação das raças modernas melhoradas e o conceito de animais puros de raça. No período de 1870 a 1900 surgiram várias associações que mantinham livros de registro genealógico, com a finalidade de garantir a pureza racial (cf.

WARWICK & LEGATES, 1979, p. 18).

O conhecimento das diversas raças de bovinos deve levar em conta a existência de dois grandes grupos, taurinos (ou gado europeu) e zebuinos, que recebem designação de espécies diferentes, *Bos taurus* e *Bos indicus*, respectivamente. Zeuner & Mourant, em 1963, prepararam uma nomenclatura revisada para bovinos, na qual *taurus* e *indicus* são referenciadas como *forma domestica* (apud MANWELL & BAKER, 1980). Essa alteração foi justificada com base na ausência de isolamento reprodutivo entre esses dois grupos, e na existência de "clines" em alguns caracteres morfológicos e nas frequências gênicas de certos locos. Os seguintes grupos foram classificados:

*Bos primigenius* Bojanus (auroque selvagem europeu, extinto em 1627).

*Bos primigenius* f.d. *taurus* L. (gado doméstico, sem cupim, da Europa).

*Bos primigenius* f.d. *longifrons* Owen 1843 (gado europeu de chifre pequeno; sinônimo de *Bos brachyceros* Rutimeyer 1864).

*Bos primigenius* f.d. *indicus* L. (gado doméstico com cupim, zebuinos).

A maioria dos pesquisadores, entretanto, continua usando a denominação de *Bos taurus* e *Bos indicus*. MANWELL & BAKER (1980), ao comparar dados de literatura sobre polimorfismos bioquímicos de diversas raças, foram de opinião de que se trata de espécies distintas.

BAKER & MANWELL (1980) apresentaram um sistema de organização das raças de bovinos, considerando 10 grupos raciais

principais, que são os seguintes :

- a) Norte da Europa: Islândica, Norueguesa Vermelha e Sueca Preta e Branca; Aberdeen-Angus e Ayrshire; Shorthorn, Hereford, Devon, etc.
- b) Gado malhado das terras baixas (para alguns considerado como grupo *primigenius*): Holandesa, etc.
- c) Europeu vermelho (grupo *brachyceros*): Dinamarquesa Vermelha, etc.
- d) *Brachyceros* das Ilhas do Canal da Mancha: Guernsey, Jersey, Normanda, etc.
- e) *Brachyceros* das montanhas: Bruna Alpina, Montbeliard, Pinzgau, Simental, Suíça Parda, etc.
- f) Mistura de *primigenius* e *brachyceros*: Charolesa, Limousine, Piemontesa, etc.
- g) *Primigenius* (basicamente do sul da Europa, apresenta certas características do extinto auroque): Alentejana, Chianina, Marchigiana, etc.
- h) Zebu (*Bos indicus*): Dangi, Gir, Hariana, Kankrej, Ongole, Rathi, Sahiwal, Sindhi, etc.
- i) Gado africano sem cupim: Kuri, Muturu, N'Dama, etc.
- j) Gado africano, com cupim, com mistura de Zebu (Angoni, Boran, Nganda, Tanganika) e do tipo Sanga (Africander, Bapedi, Barotse, Mashona, Tuli).

#### 2.4.2. Estudo de tipos sanguíneos em raças de bovinos

##### 2.4.2.1. Grupos sanguíneos

O primeiro trabalho utilizando dados de grupos

sangüíneos para caracterização e comparação de raças bovinas foi feito logo após as descobertas dos grupos sangüíneos nessa espécie, por pesquisadores do grupo da Universidade de Wisconsin, Estados Unidos. As raças Guernsey e Holandesa foram comparadas quanto a frequência dos 30 fatores sangüíneos conhecidos até então. Mostrou-se que 25 dentre os 30 fatores diferiam significativamente entre as duas raças. Segundo os autores, "apesar de a frequência de cada fator não ser uma medida direta da frequência de um alelo, ela reflete a frequência global dos alelos que exibem aquele antígeno em comum". (OWEN et al., 1947).

Desde então, muitos estudos de caracterização racial por meio dos grupos sangüíneos foram feitos com raças variadas, principalmente tendo como objetivo as raças taurinas criadas na Europa e América do Norte. Alguns desses estudos serão apresentados a seguir. Quando polimorfismos protéicos forem estudados em conjunto com os grupos sangüíneos, serão mencionados aqui com o intuito de dar uma idéia global sobre as avaliações feitas nas populações estudadas. Dados sobre frequências gênicas dos polimorfismos bioquímicos são apresentados posteriormente.

MORTON et al. (1956), estudando um experimento de endocruzamento na raça Holandesa, dos Estados Unidos, não encontraram diferenças significativas entre a heterozigosidade observada e a esperada em 10 locos de grupos sangüíneos, em uma amostra de 187 vacas que apresentavam coeficiente médio de endocruzamento igual a 25%.

Tres raças leiteiras da Suécia foram estudadas por RENDEL (1958), a Sueca Vermelha e Branca, a Frisia Sueca e a

Sueca Mocha, com 649, 183 e 100 animais, respectivamente. Não foi mencionado o número de fatores sanguíneos testados, mas foram considerados 11 locos de grupos sanguíneos, 2 dos quais não haviam sido corretamente assinalados naquela época (H' e Z'). As três populações mostraram-se em equilíbrio genético para os locos F e Z, onde foi possível distinguir os três genótipos (no sistema Z foi utilizado um reagente de dosagem). O autor concluiu que a condição de equilíbrio poderia ser assumida para os locos restantes. Diferenças marcantes nas frequências gênicas foram observadas entre as três raças e diferenças entre linhagens dentro de raças foram observadas na Vermelha e Branca e na Frisia. Utilizando 20 reagentes para o sistema B, identificaram-se 23 fenogrupos na raça Sueca Vermelha e Branca, 22 na Frisia Sueca e 18 na Sueca Mocha. As frequências dos fenogrupos do sistema B foram estimadas pelo método de alocação de Neimann-Sorensen (*apud* RENDEL, 1958). O grau de homozigosidade, medido no sistema B, variou de 11,2% na Sueca Mocha a 24,8% na Sueca Vermelha e Branca. Esses valores foram comparados com os 16% encontrados por Neimann-Sorensen, na raça Dinamarquesa Vermelha, considerada uma das raças mais homogêneas já conhecida.

NEIMANN-SORENSEN & SPRYSZAK (1959) estudaram 262 animais da raça Polonesa Vermelha, pertencente ao grupo *brachyceros*, utilizando 42 reagentes para 10 sistemas de grupos sanguíneos (sendo que um deles, o sistema Z', ainda estava incorretamente assinalado). Pelo estudo dos acasalamentos, 42 fenogrupos foram determinados no sistema B e 22 no sistema C, com

o emprego de 21 e 8 reagentes, respectivamente. Comparando com dados da literatura, concluiu-se que a raça Polonesa Vermelha tem relação genética com a Holandesa, a Suíça Parda e a Guernsey, porém, essa relação é maior com a raça Dinamarquesa Vermelha.

Um estudo de bovinos da Holanda foi feito por BOUW (1960), com 1200 touros da raça Frisia Holandesa Preta e Branca e 538 touros da raça Meuse-Rhine-Yssel (MRY). Sem mencionar quais reagentes foram utilizados, o autor relata para o sistema B, a ocorrência de 42 fenogrupos na raça Preta e Branca e 27 na MRV. Destes, 23 ocorreram exclusivamente na raça Preta e Branca e 8 exclusivamente na MRV. As frequências genotípicas no sistema F mostraram que a população de Preta e Branca estava em equilíbrio genético, o mesmo não ocorrendo para a população de MRV. Nenhuma conclusão geral foi feita sobre a comparação entre as duas raças. O autor ressaltou, porém, particularmente para a raça Frisia Holandesa Preta e Branca, a alta variabilidade existente nos grupos sanguíneos, apesar da grande uniformidade existente nos caracteres de interesse econômico, resultado da seleção intensa praticada nesse gado.

O gado da Islândia foi caracterizado e comparado com outras raças taurinas, por estudos dos grupos sanguíneos e dos sistemas Hb e Tf, por BRAEND et al. (1962). Quarenta e quatro fatores sanguíneos foram testados. Dados históricos assumiam que esse gado era originário de animais da Noruega levados com os primeiros colonizadores noruegueses, há cerca de 1000 anos. Exceto pela importação de um pequeno número de animais da Dinamarca e da raça Jersey, das Ilhas Britânicas, esse gado era considerado totalmente isolado durante esse longo período de

tempo. Curiosamente, dados sobre o sistema ABO levaram Mourant, em 1954, a concluir que a população humana da Islândia assemelhava-se muito mais às populações da Escócia e da Irlanda, diferindo bastante da população da Noruega (cf. BRAEND et al., 1962). Esse dado foi interpretado como sendo devido a duas possibilidades: ou a população humana da Islândia descendia em sua maior parte de pessoas das Ilhas Britânicas, sendo que apenas uma pequena parcela, os governantes, vieram da Noruega, ou a população atual da Noruega era diferente daquela que colonizou a Islândia. Esses dados paralelos na espécie humana incentivaram a investigação quanto à origem do gado da Islândia. Os resultados obtidos de uma amostra de 922 animais, especialmente quanto ao sistema B, revelaram que o gado da Islândia é muito mais similar ao gado nativo da Noruega, que a qualquer outra raça estudada, entre elas a Jersey e a Guernsey (originárias das Ilhas Britânicas), as quais foram as menos semelhantes. No sistema B foram encontrados 20 fenogrupos, sendo que o maior número (16) é compartilhado com as raças norueguesas. O grau de homozigosidade estimado no sistema B foi de 11,9%. Sob a suposição de origem comum do gado da Islândia e das raças nativas modernas da Noruega, o que foi corroborado por esse estudo, o autor comentou que a identidade de tantos alelos do sistema B sugeria um alto grau de estabilidade dos alelos desse sistema na população da Islândia.

KIDD & CAVALLI-SFORZA (1974), utilizando os dados de frequências alélicas em oito sistemas de grupos sanguíneos obtidos no trabalho mencionado anteriormente (BRAEND et

al., 1962), dados obtidos em outros trabalhos e dados demográficos das populações bovinas, calcularam valores de distância genética entre o gado da Islândia e três raças nativas da Noruega, com o objetivo de averiguar a natureza das diferenças observadas. Os dados genéticos e demográficos (ou "bosográficos", como os autores ressaltam em um dado momento) mostraram que as diferenças observadas entre o gado da Islândia e as raças nativas da Noruega podiam ser explicadas apenas por deriva genética ao acaso, não havendo evidências de forças seletivas operando sobre os caracteres estudados.

A raça Jersey, originária da Ilha de Jersey, no Canal da Mancha, foi caracterizada e comparada com o Jersey da Dinamarca por LARSEN et al. (1974). Um total de 467 animais da Ilha de Jersey foi estudado, enquanto os dados da Dinamarca representaram até 1300 vacas. As amostras foram testadas para 58 fatores de 11 sistemas de grupos sanguíneos e para os sistemas de anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina, entre outros. Nos 8 sistemas em que as frequências alélicas foram estimadas, as duas populações apresentaram diferenças significativas em 7 deles (F, J, L, M, Z, Hb e CA), o que não ocorreu no sistema Tf. No sistema B, 17 alelos foram identificados na Ilha de Jersey, sendo que o alelo negativo ocorreu com frequência igual a 0,010. Dois fenogrupos da Ilha não apareceram na Dinamarca, enquanto que três presentes na Dinamarca não apareceram na Ilha. Outra diferença notável é que o fenogrupo mais frequente nas duas populações tem frequência três vezes maior na Ilha do que na Dinamarca. No sistema A, o fator Z' ocorreu no alelo  $AZ'$ , com frequência de 0,069. Deve-se notar a não ocorrência dos alelos negativo ( $F^f$ ) e

$F^F_2$  nas populações estudadas, uma vez que foram utilizados reagentes para todos os subtipos conhecidos ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $V_1$  e  $V_2$ ); os alelos observados foram  $F^F_1$ ,  $F^V_1$  e  $F^V_2$ , sendo este último pouco freqüente na Ilha de Jersey (0,078), diferentemente da Dinamarca onde, além de ter uma freqüência maior (0,328), essa freqüência foi mais que o triplo da freqüência do alelo  $F^V_1$ . Testes para os sistemas codominantes, mostraram que a população da Ilha de Jersey não se encontrava em equilíbrio quanto aos locos F e Tf, o que foi atribuído ao método de cruzamento em linhagem, que deve levar à subdivisão da população e ao aumento dos homozigotos. Considerando que o Jersey da Ilha esteve bastante isolado e que o Jersey da Dinamarca não demonstrava sinais de mistura com outras raças, os autores concluíram que as diferenças observadas entre as duas populações devem ser atribuídas a diferenças nas populações básicas e a sua separação por cerca de 70 anos.

KIDD et al. (1974) utilizaram dados de freqüências gênicas de oito sistemas de grupos sanguíneos e 2 sistemas protéicos (Hb e Tf) das raças South Devon, da África do Sul e Gelbvieh, da Alemanha, junto com outras 8 raças européias, incluindo Black Angus e Red Angus, para avaliar as relações genéticas entre elas. Esse estudo foi motivado pelo interesse da Sociedade de Criadores de Gado South Devon da África do Sul, que pretendia formular um programa de cruzamento de South Devon com Gelbvieh. De todas as comparações entre as raças, os menores valores de distância genética foram estimados entre as raças Black Angus e Red Angus (0,039) e entre South Devon e Gelbvieh (0,045). As demais comparações foram da ordem de 0,072 a 0,252.

Os valores muito próximos entre as duas comparações indicaram que as raças South Devon e Gelbvieh são tão similares geneticamente quanto Red Angus e Black Angus, que representam praticamente a mesma raça. Devido a essa similaridade genética, os autores concluíram que a introdução de genes da raça Gelbvieh na raça South Devon da África do Sul, poderia ser feita, pois "a variação dentro do South Devon seria apenas moderadamente (mas provavelmente o suficiente) aumentada, sem que as qualidades singulares da raça fossem completamente destruídas".

Oito anos após, BAKER (1982) publicou na mesma revista um artigo onde ela reexaminou as conclusões aventadas pelo trabalho de KIDD *et al.* (1974). Com base em dados históricos, a autora examinou 5 raças da Inglaterra (Guernsey, Hereford, Jersey, North Devon e South Devon) e a raça Gelbvieh, da Alemanha. A raça North Devon não havia sido incluída no trabalho de KIDD *et al.* (1974). Foram utilizados apenas 3 locos de polimorfismos bioquímicos (amilase, hemoglobina e transferrina). A utilização de dados de grupos sanguíneos foi considerada inapropriada para esse tipo de análise. Três métodos de comparação entre as raças foram empregados: tabelas de contingência, distância e identidade genética, e substituição gênica. A comparação entre as populações de South Devon da Inglaterra e da África do Sul demonstrou que existem diferenças significativas entre elas. Pelas análises feitas, as menores distâncias genéticas e as maiores identidades genéticas ocorreram entre North Devon e Hereford, seguida de North Devon e South Devon, e South Devon e Hereford. A autora concluiu, com base nessa análise, que a melhor estratégia para os criadores de South

Devon da Africa do Sul seria, em primeiro lugar, a importação de animais da mesma raça da Inglaterra ou da Austrália, por exemplo. A próxima opção seria a utilização da raça North Devon, considerada seu parente mais próximo, sob os pontos de vista histórico, geográfico e bioquímico.

BRAEND (1975) estudou 584 animais da raça Norueguesa Vermelha, utilizando 45 reagentes de grupos sanguíneos. Foram determinados 43 fenogrupos no sistema B e 19 no sistema C. No sistema B o fenogrupo "-" (negativo) foi o mais frequente (37,7%). O grau de homozigosidade medido nos sistemas B e C foram 19,4% e 13,5%, respectivamente. Os resultados foram comparados com dados obtidos previamente em duas raças extintas da Noruega (Red Tronder e Red Poll), na raça Norueguesa Vermelha antiga e, também, em raças estrangeiras (Ayrshire da Finlândia, Sueca Vermelha e Shorthorn), para se verificar a influência dessas raças na Norueguesa Vermelha. Os resultados no sistema B indicaram que somente 5 a 10% dos fenogrupos podem ser originários das raças extintas da Noruega, 20% do Ayrshire da Finlândia, 33% do Shorthorn e a maior parte dos demais, da raça Sueca Vermelha. O equilíbrio genético na raça Norueguesa Vermelha foi constatado nos dois locos testados para esse fim, F e Tf.

A raça Guernsey dos Estados Unidos foi caracterizada quanto a 9 sistemas de grupos sanguíneos, pela análise de 6082 vacas de 77 rebanhos diferentes (HAENLEIN et al., 1980). No sistema B foram identificados 67 alelos, dos quais 35 apresentaram frequências menores do que 0,0010. O alelo negativo ( $B^d$ ) ocorreu com frequência de 0,0171 e a maior frequência foi

igual a 0,0039. No sistema C foram identificados 36 fenogrupos, sendo o alelo negativo ( $C^c$ ) o mais freqüente (0,37). Nos sistemas A, J, L, M e Z, o alelo negativo predominou, enquanto que no sistema S ele é o segundo mais freqüente; essa situação, segundo os autores, pareceu ser a mesma que para outras raças européias dos Estados Unidos. A ocorrência do fator Z' (em associação com A) e do alelo  $Hb^B$  nessa raça foi interpretada como indicativa de alguma ancestralidade de *Bos indicus*.

LARSEN (1981) caracterizou as raças Dinamarquesa Vermelha, Dinamarquesa Preta e Branca e Jersey da Dinamarca, quanto aos fenogrupos do sistema C. Utilizando 12 reagentes para esse sistema, o autor encontrou 24, 28 e 19 fenogrupos, respectivamente, para cada raça. Em trabalho anterior, LARSEN et al. (1974) haviam relatado 15 fenogrupos na raça Jersey da Dinamarca, sendo que dois deles não aparecem no estudo mais recente. Esse fato foi interpretado como sendo devido a diferenças nas amostras utilizadas nos dois trabalhos.

Algumas referências ao estudo de grupos sanguíneos em raças zebuínas foram encontradas na literatura estrangeira, uma delas com a raça Gir.

SUZUKI & AMANO (1973) estudaram uma pequena amostra de Zebu brasileiro, com a finalidade de comparar com as raças da Ásia oriental, tais como Japonesa Parda, Japonesa Preta, Shorthorn Japonês, Mishima, Formosa Yellow e gado coreano. Nove sistemas de grupos sanguíneos (compreendendo 33 fatores) foram testados em 65 animais da raça Nelore e 16 da raça Gir, do Brasil. Nenhuma diferença significativa entre as freqüências dos fatores foi encontrada entre as duas raças zebuínas. A freqüência

do fator Z' nas raças zebuínas foi maior do que nas raças asiáticas, com exceção da Japonesa Preta. Com relação aos fatores L e Z, a semelhança maior foi com a raça Formosa Yellow, onde as frequências desses fatores foram maiores do que nas demais. Usando apenas a diferença absoluta entre frequências dos fatores e dos alelos de três sistemas eletroforéticos (Al, Hb e Tf), os autores concluíram que a menor diferença das raças zebuínas foi com a Formosa Yellow, a qual tem sido influenciada por gado zebuino da Índia.

O gado da Nigéria foi estudado por BRAEND (1979), utilizando 37 reagentes para 10 sistemas de grupos sanguíneos. Os dados das raças da Nigéria foram comparados com os de raças taurinas. Foram estudadas as raças zebuínas Gudali, Red Bororo e Shuwa Arab com 55, 26 e 20 animais, respectivamente, e as raças sem cupim Muturu e N'Dama, com 78 e 63 animais, respectivamente. As raças taurinas incluíram amostras da França, Espanha, Alemanha, Hungria e as raças Holandesa, dos Estados Unidos, e Telemark e Norueguesa Vermelha, da Noruega. O número médio de fatores calculado sobre todos os sistemas em conjunto não diferiu significativamente entre as três raças zebuínas e nem entre as duas raças sem cupim, mas o valor médio das raças zebuínas (20,4) foi significativamente maior que o valor médio das raças sem cupim (16,5), o qual, por sua vez, foi significativamente maior que o valor médio das raças taurinas (13,4). A significância foi medida por testes t convencionais. Entre as raças taurinas houve algumas diferenças significativas. No sistema B em particular, no qual testaram-se 15 fatores, não foram observadas diferenças

quanto ao número médio de fatores entre os vários grupos raciais. O sistema B, portanto, não manifestou a mesma tendência vista para os fatores em conjunto. No sistema B não foi encontrado nenhum animal com fenótipo negativo. Muitos fatores apresentaram frequências altas nas raças zebuínas, entre eles, A, H, W, X<sub>1</sub>, F, Z e R<sub>2</sub>. Com o emprego dos reagentes F e V, no sistema F, foi encontrado um animal com o fenótipo negativo na raça Gudali. As raças da Nigéria estavam em equilíbrio genético, testado no loco F. O autor concluiu que o Zebu tem maior grau de polimorfismo nos grupos sanguíneos do que o gado europeu, mas perguntou-se se isso indicaria o mesmo para a variação genética total. Em sua opinião, isso deve ocorrer devido, entre outras coisas, à ausência de seleção artificial naquele gado.

FIorentini et al. (1980) estudaram zebuínos do Quênia, com a mesma bateria de reagentes utilizada no trabalho mencionado anteriormente (BRAEND, 1979), com exceção do reagente para Y<sub>1</sub>, que não foi testado. O grupo racial foi classificado como Zebu do leste africano, sendo analisados 146 animais. Vinte e quatro animais resultantes de cruzamento desse gado zebuino com a raça Ayrshire da Noruega foram incluídos no estudo. O número médio de fatores com relação a todos os sistemas em conjunto foi 20,1, que não diferiu da média dos zebuínos da Nigéria, encontrado por BRAEND (1979). O valor de 20,1 foi significativamente maior que o valor de 12,5 dos animais cruzados. Nesse trabalho o número médio de fatores no sistema B diferiu significativamente entre os dois grupos, sendo maior entre os zebuínos. Nesse sistema foram testados 14 fatores. Entre os zebuínos não foi observado nenhum animal negativo para todos os fatores do sistema B. Famílias de

quatro touros Zebu, com 36 pares mãe-filho, foram incluídas na análise com a finalidade de determinação dos fenogrupos do sistema B. Segundo os autores, o grande número de fatores no sistema B torna mais difícil encontrar acasalamentos informativos, tornando necessário a análise de um maior número de dados familiares em zebuínos do que em taurinos. Oito fenogrupos foram determinados. Nessas famílias os dois casos de desacordo com a segregação dos fatores, envolveram a perda de um fator. Como as mães nesses dois casos eram cruzas de Hereford com Zebu, os autores aventaram a possibilidade de ocorrência de um maior número de permutas genéticas em animais cruzados, resultante de diferenças físicas entre os cromossomos de *Bos taurus* e *Bos indicus*. Testando para os fatores F e V, dois animais com fenótipo negativo foram encontrados, o que determinou a frequência de 0,12 para o alelo  $F^f$ . A população estava em equilíbrio genético para os sistemas F e R'. O maior número de fatores sanguíneos visto nas raças zebuínas foi explicado por esses autores, bem como por BRAEND (1979), em termos de um possível valor adaptativo nas condições de ambiente da África.

DI STASIO et al. (1980) estudaram gado Zebu da Somália, utilizando 40 reagentes de 10 sistemas de grupos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos nos sistemas Al, CA, Hb e Tf. Foram analisados 143 animais da raça Boran e 34 da raça Dawara, raças que pertencem ao grupo chamado de Zebu Shorthorn do leste africano. Os autores concluíram que as duas raças eram bastante similares quanto à frequência dos fatores. Com relação às frequências alélicas nos sistemas F, Hb, Al e Tf não houve

diferenças significativas entre as duas raças e, exceto para o sistema Hb na raça Boran, para os demais sistemas as duas populações estavam em equilíbrio genético.

Alguns trabalhos feitos na Índia sobre grupos sanguíneos de raças zebuínas, tais como o de NAIK et al. (1965), não puderam ser aproveitados com finalidade de comparação porque os reagentes utilizados, além do número ser pequeno, não possuíam padronização internacional.

#### 2.4.2.2. Polimorfismos bioquímicos

##### Albumina

Dos três alelos,  $A1^A$ ,  $A1^B$  e  $A1^C$ , apenas os dois primeiros ocorrem nas raças européias (*Bos taurus*), sendo a  $A1^A$  a variante mais freqüente. Nas raças Aberdeen-Angus, Ayrshire, Devon, Galloway, Hereford, Lincoln Red, Norueguesa Vermelha e Shorthorn (do norte da Europa), Jersey e Guernsey (das Ilhas do Canal da Mancha) e nas raças Holandesa, Limousine, Piemontesa e Simental (da Europa), e Muturu, da África, a freqüência do alelo  $A1^A$  variou de 0,993 a 1,0 e do alelo  $A1^B$ , de 0,007 a zero (BRAEND & EFREMOV, 1965; SPOONER & OLIVER, 1969; KRAAY, 1972). A raça Holandesa é considerada monomórfica quanto ao alelo  $A1^A$  (1671 animais foram estudados por ABE et al., 1972, KRAAY, 1972 e MITAT et al., 1975). SPOONER & OLIVER (1969) encontraram, entretanto, o alelo  $A1^B$  com freqüência de 0,004 em uma amostra da raça Holandesa da Inglaterra; os autores aventaram a possibilidade de esse alelo ter sido introduzido no passado, por um touro importado da África do Sul. A raça Charolesa, da França, apresentou freqüências de 0,86 e 0,14, em relação aos alelos  $A1^A$

e  $Al^B$ , respectivamente (SPOONER & OLIVER, 1969; MITAT *et al.*, 1975). A raça Sussex distinguiu-se das demais raças britânicas (Devon, Hereford e Lincoln Red) por apresentar frequência maior de  $Al^B$  (0,12). Entre as doze raças estudadas por SPOONER & OLIVER (1969), apenas duas mostraram outras variantes de albumina:  $Al^D$ , na raça Ayrshire, e  $Al^G$ , na raça Shorthorn, com frequências alélicas de 0,003 e 0,001, respectivamente.

O alelo  $Al^C$  foi descrito na raça zebuina Tanganika do leste africano (ASHTON & LAMPKIN, 1965). Os trabalhos posteriores não relatam, entretanto, a sua ocorrência. CARR (1966) estudou as raças zebuinas Angoni e Boran da África, tendo encontrado frequências de 0,62 e 0,41 em relação ao alelo  $Al^A$  e, 0,35 e 0,55, quanto ao alelo  $Al^B$ , respectivamente. A variante  $Al^C$  não ocorreu nessas amostras, tendo ocorrido, porém, as formas  $Al^D$  e  $Al^F$ , em baixas frequências. Também nas raças Africander e Barotse não foi verificada a  $Al^C$ , mas sim  $Al^D$  e  $Al^E$ , na primeira delas. A frequência do alelo  $Al^A$  nessas duas raças foi 0,87 e 0,70, respectivamente. MITAT *et al.* (1975), ao estudar gado Zebu, sem especificar a raça, notaram que os alelos para  $Al^A$  e  $Al^B$  estavam com frequência de 0,27 e 0,73, respectivamente; não foi encontrada  $Al^C$ .

Dados sobre polimorfismo da albumina em raças zebuinas da Índia são raros. PENEDO (1981) estudou a raça Guzera criada no Brasil, tendo reconhecido apenas os alelos  $Al^A$  e  $Al^B$ , nas frequências de 0,08 e 0,92, respectivamente. DI STASIO *et al.* (1980), estudando a raça Boran da Somália, relataram frequências de 0,01, 0,30, 0,69 e 0,01 para os alelos  $Al^G$ ,  $Al^A$ ,  $Al^B$  e  $Al^C$ ,

respectivamente, sem, entretanto, comentarem a respeito do padrão de migração da variante A1 G.

#### Anidrase carbônica

Nas raças européias apenas os alelos  $CA^F$  e  $CA^S$  são comumente encontrados, sendo  $CA^S$  o mais freqüente. Em estudos realizados por SARTORE *et al.* (1969) e STORMONT *et al.* (1972), em animais criados nos Estados Unidos, a freqüência do alelo  $CA^F$  foi a seguinte: de 0,02 a 0,07, nas raças Aberdeen-Angus, Guernsey e Suíça Parda e de 0,11 a 0,25 nas raças Ayrshire, Hereford, Holandesa e Polled Hereford. As raças Charolesa e Jersey apresentaram os maiores valores para  $CA^F$ , 0,38 e 0,41, respectivamente. Em 900 animais da raça Piemontesa a freqüência desse alelo foi 0,19, não tendo sido observada a ocorrência da variante CA S Piedmont, descrita anteriormente nessa raça (RONDOLINI *et al.*, 1973). Em uma amostra maior da raça Charolesa (n=500), KRAAY (1972) relatou freqüência de 0,22 para esse alelo. Os dados da literatura mostram que o alelo  $CA^F$  é infreqüente. Dados sobre o polimorfismo de anidrase carbônica em raças zebuínas são raros. DI STASIO *et al.* (1980), estudando hemolisados de animais das raças Boran e Dawara da Somália, relataram a ocorrência de um único alelo,  $CA^S$ , em 134 e 34 animais, respectivamente. As raças zebuínas Guzerá, do Brasil (PENEDO, 1981) e Sahiwal, da Índia (SHANKER *et al.*, 1973) apresentaram os alelos  $CA^S$  e  $CA^F$ , sendo a freqüência do primeiro igual a 0,99 e 0,95, respectivamente, nas duas raças. Os últimos autores encontraram quatro animais aparentemente homocigotos da variante CA S Sahiwal, que não foram incluídos no cálculo da

frequência. Esses autores comentaram que para algumas amostras utilizaram a técnica de extração de anidrase carbônica. Todos os outros trabalhos mencionados até aqui utilizaram hemolisado comum como fonte da enzima.

PENEDO *et al.* (1982), utilizando a técnica de extração da anidrase carbônica em álcool-clorofórmio demonstraram a ocorrência da variante CA Z nas raças Gir, Guzera e Nelore, criadas no Brasil. Estudando 120 animais da raça Nelore, do Brasil, PANEUCCI (1988) relatou frequências de 0,008, 0,750 e 0,242 para os alelos  $CA^F$ ,  $CA^S$  e  $CA^Z$ , respectivamente. BICALHO (1985), com a mesma técnica de extração, observou as formas CA S e CA F em animais Caracu, raça naturalizada brasileira, com frequências alélicas de 0,86 e 0,14, respectivamente. Um animal da amostra apresentou, em heterozigossidade, a variante de mobilidade similar à CA S Sahiwal ou CA S Piedmont e outro animal apresentou, em heterozigossidade, a variante CA Z. Esses casos foram interpretados como sendo resultado da introdução de raças zebuínas durante o desenvolvimento da raça Caracu.

### Hemoglobina

Vários estudos têm mostrado que os alelos da Hb A e Hb B possuem ampla distribuição racial, enquanto que as demais formas aparecem com frequências muito baixas (menor do que 0,1) e apenas em algumas raças (BAKER & MANWELL, 1980). Apesar disso, a raça africana Muturu apresentou o alelo  $Hb^D$  com frequência igual a 0,20 em associação com  $Hb^A$  (BRAEND *et al.*, 1965). O alelo  $Hb^J$ , na raça africana Angoni, apresentou a mesma frequência, só que em

associação com  $Hb^A$  e  $Hb^B$  (SCHWELLNUS & GUERIN, 1977).

HUISMAN (1966) relatou a seguinte distribuição racial das variantes de hemoglobina (atualizada com dados de BRAEND, 1972, KRAAY, 1972, SCHWELLNUS & GUERIN, 1977, BAKER & MANWELL, 1980 e KIDD et al., 1980):

- Hb A exclusivamente: raças do norte da Europa (Holandesa, Dinamarquesa Vermelha, gado Islândico), raças do norte da Alemanha, da Inglaterra (Hereford e Shorthorn) e da França (Normanda) e a raça N'Dama da África.

- Hb A e Hb B (com Hb A predominante): várias raças da Inglaterra (Guernsey e South Devon), da França (Charolesa e Limousine), da Suíça (Suíça Parda), da península ibérica (Alentejana, Mertolenga, De Lidia e Retinta) e da África (Africander, Bapedi, Mashona, Nguni e Tuli, classificadas como tipo Sanga).

-Hb A e Hb B (com Hb B predominante): nenhuma raça.

-Hb A e Hb B (com frequências próximas): a raça Jersey (das Ilhas do Canal da Mancha) e raças zebuínas da Ásia (Dangi, Kankrej, Khillari, Malvi e Rathi) e da África (Angoni, Red Bororo e Sudam).

-Hb B exclusivamente: nenhuma raça .

-Hb C: em raças zebuínas, com baixa frequência.

-Hb I: em raças africanas, com baixa frequência.

A observação de que nenhuma raça apresenta predominância do alelo  $Hb^B$  é contestada pelos dados de BANGHAM & BLUMBERG (1958) e LARSEN et al., (1974), estudando a raça Jersey da própria ilha de origem, que encontraram frequências de 0,61 e 0,62 para o alelo  $Hb^B$ , em 182 e 467 animais, respectivamente, em associação com o alelo  $Hb^A$ .

A raça Gir criada na Índia, foi estudada por NAIK *et al.* (1969), que encontraram as frequências de 0,51 e 0,49 para os alelos  $Hb^A$  e  $Hb^B$ , respectivamente, em 404 animais. Nas demais raças zebuínas, Dangi, Kankrej, Khillari, Malvi e Rathi, a frequência de  $Hb^A$  variou de 0,51 a 0,59. Com exceção da raça Gir, todas as demais apresentaram variantes, então designadas como Hb X e Hb Khillari, com frequências de 0,002 a 0,007. A Hb X foi posteriormente designada por Hb C, por SCHWELLNUS & GUERIN (1977), que a encontraram no Brahman, da África do Sul, com frequência de 0,008, mas não em raças como Africander, Bapedi, Nguni, Mashona e Tuli, do tipo Sanga, que apresentaram, por outro lado, a variante Hb I, com frequências de 0,03 a 0,11. DI STASIO *et al.* (1980) estudaram as raças Boran e Dawara, da Somália, do tipo Zebu africano, onde encontraram os alelos  $Hb^A$ ,  $Hb^B$  e  $Hb^C$ , nas frequências de 0,54 e 0,49, 0,42 e 0,50 e, 0,04 e 0,01, respectivamente.

A raça Guzerá, criada no Brasil, foi estudada por PENEDO (1981), que relatou os valores de frequência de 0,51 e 0,49, para os alelos encontrados,  $Hb^A$  e  $Hb^B$ , respectivamente. Uma amostra de 2072 animais da raça Nelore, do Brasil, foi analisada por ABREU-FILHO *et al.* (1982), que observaram os alelos  $Hb^A$ ,  $Hb^{B1}$ ,  $Hb^{B2}$ ,  $Hb^I$  e  $Hb^C$ , nas frequências de 0,56, 0,19, 0,22, 0,02 e 0,01, respectivamente. Segundo esses autores  $Hb^I$  não havia sido descrito anteriormente em gado Zebu indiano.

### Transferrina

Dos seis alelos mais comumente encontrados nas várias

raças, os alelos  $Tf^A$ ,  $Tf^{D_1}$ ,  $Tf^{D_2}$  e  $Tf^E$ , estão presentes nas raças taurinas (os trabalhos feitos até 1966 não diferenciavam  $Tf^{D_1}$  de  $Tf^{D_2}$ ). Em gado zebuino da Índia e da África as variantes  $Tf^B$  e  $Tf^F$  aparecem com frequências apreciáveis. Essas variantes são consideradas típicas de Zebu e apenas ocasionalmente têm sido verificadas em raças européias (BAKER & MANWELL, 1980). ASHTON (1958) estudou diversas raças da Europa. As raças Aberdeen-Angus, Guernsey, Jersey e Shorthorn apresentaram os maiores valores para o alelo  $Tf^A$  (0,53 a 0,68); nessas raças a frequência de  $Tf^D$  foi de 0,20 a 0,47. A raça Holandesa apresentou valores equiparáveis desses dois alelos (0,49 e 0,47, respectivamente). Nas raças Ayrshire e Hereford a frequência de  $Tf^A$  foi menor que a de  $Tf^D$ . Com exceção das raças Aberdeen-Angus e Ayrshire, onde  $Tf^E$  apareceu com frequência de 0,12 e 0,11, respectivamente, nas demais raças esse alelo ocorreu com frequências muito baixas, de 0,02 a 0,04, estando ausente na Guernsey e Jersey. A ausência da  $Tf^E$  nessas raças foi confirmada por OSTERHOFF & VAN HEERDEN (1964), estudando animais na África do Sul e por BRAEND (1972). As raças Charolesa e Hereford, do Canadá, não apresentaram, também, a variante  $Tf^E$  (KRAAY, 1972). As raças Aberdeen-Angus, do Canadá (KRAAY, 1972), Norueguesa Vermelha (BRAEND & KHANNA, 1967) e Sueca Preta e Branca (GAHNE, 1961) apresentaram alta frequência do alelo  $Tf^E$  (0,25, 0,26 e 0,29, respectivamente). As raças Islândica (BRAEND et al., 1962) e Piemontesa (RONDOLINI et al., 1973) apresentaram distribuições similares dos alelos  $Tf^A$ ,  $Tf^D$  e  $Tf^E$  (em torno de 0,34, 0,62 e 0,02, respectivamente).

Cinco raças zebuinas do leste africano (Boran, Nganda,

Sahiwal, Tanganika e Teso) e a raça Ankole (do tipo Sanga) foram estudadas por ASHTON & LAMPKIN (1965). Em todas elas, exceto Nganda, os alelos  $Tf^E$  e  $Tf^F$  representaram de 58 a 66% da frequência total, tendo ambos valores apreciáveis. Em Nganda, o alelo  $Tf^A$  foi o mais freqüente (0,42), tirando a posição de  $Tf^E$  e  $Tf^F$ . A frequência do alelo  $Tf^B$  nessas raças foi baixa, de 0,04 a 0,10. Nesse trabalho não se distinguiu entre  $Tf D_1$  e  $Tf D_2$ , que foram designados por  $Tf D$ .

A raça Angoni (Zebu africano) apresentou uma distribuição homogênea dos alelos  $Tf^A$ ,  $Tf^D$ ,  $Tf^E$  e  $Tf^F$  (0,25, 0,27, 0,24 e 0,22, respectivamente) e 0,02 de  $Tf^B$  (CARR et al., 1966). Nesse mesmo trabalho foram analisadas as raças do tipo Sanga, da Africa (Africander, Manguni, Mashona e Tuli), onde as frequências variaram de 0,17 a 0,38, para  $Tf^A$ , 0,01 a 0,06, para  $Tf^B$ , 0,28 a 0,47, para  $Tf^D$ , 0,19 a 0,29, para  $Tf^E$  e 0,004 a 0,11, para  $Tf^F$ . Com exceção da raça Tuli, que apresentou frequência de 0,11 do alelo  $Tf^F$ , as duas raças do tipo Sanga apresentaram esse alelo com frequências baixas.

Na raça zebuina Boran, da Somália, as seguintes frequências alélicas foram encontradas: 0,01 para  $Tf^G$ , 0,20 para  $Tf^A$ , 0,05 para  $Tf^B$ , 0,15 para  $Tf^{D2}$ , 0,41 para  $Tf^F$  e 0,18 para  $Tf^E$  (DI STASIO et al., 1980). O alelo  $Tf^{D1}$  não foi observado. O padrão eletroforético mostrado para a  $Tf G$  foi o de mobilidade mais rápida do que para a  $Tf A$ .

Na raça Guzerá, do Brasil, PENEDO (1981), utilizando metodologia que permitia identificar apenas os alelos  $Tf^A$ ,  $Tf^{D1}$ ,  $Tf^{D2}$  e  $Tf^E$ , encontrou as seguintes frequências: 0,06, zero, 0,59

e 0,35, respectivamente. Nesse estudo foi observado um padrão similar à TF D<sub>2</sub>, porém um pouco mais lento, que deve corresponder à Tf F.

## 2.5. Dados sobre a raça Gir

Os bovinos da raça Gir pertencem à classe *Mammalia*, super-ordem *Ungulata*, ordem *Artiodactyla*, sub-ordem *Ruminantia*, infra-ordem *Pecora*, super-família *Bovidea*, família *Bovidae*, sub-família *Bovinae*, gênero *Bos*, espécie *Bos indicus* L., a qual é frequentemente designada como gado Zebu. Na infra-ordem *Pecora*, ou ruminantes verdadeiros, ambos os sexos possuem chifres, que são ocos e surgem dos ossos frontais. Os animais possuem cascos (ungulados) e apresentam número par de dedos (artiodáctilos).

O local de origem do gado Zebu (*Bos indicus*), ou gado com cupim, foi o subcontinente indiano, de onde se espalhou subsequentemente para a África e Ásia (NAIK, 1978). Apesar da data e local exatos de sua origem não serem conhecidos, achados arqueológicos indicam que por volta de 2500-2250 A.C. já havia gado zebuino por toda a Índia. De acordo com Zeuner (apud NAIK, 1978), o gado Zebu é descendente do *Bos nomadicus*, um bovino selvagem que viveu na Índia durante o Pleistoceno. A teoria da origem africana do Zebu não tem apoio devido à falta de evidências paleontológicas sobre a existência de animais selvagens do gênero *Bos* na África durante o Pleistoceno. Dados arqueológicos indicam a presença de gado sem cupim em uma das antigas civilizações da Índia, que se desenvolveu no norte do país. Esses animais, que, pelas gravuras encontradas, assemelhavam-se ao *Bos primigenius*, foram provavelmente trazidos

por pastores nômades arianos que vieram da Ásia Ocidental. As evidências sobre esses animais são encontradas apenas no período inicial dessa civilização, indicando que os mesmos devem ter perecido por não estarem adaptados ao ambiente tropical e, portanto, não chegaram ao sul do país, onde não há evidências sobre sua presença (NAIK, 1978).

As diferenças notáveis entre gado zebuino e europeu, em termos anatômicos, fisiológicos e bioquímicos, explicam o fato desses dois grupos terem sido designados taxonomicamente como espécies diferentes, *Bos indicus* e *Bos taurus*, respectivamente. Alguns autores, como NAIK (1978), são de opinião de que se tratam efetivamente de dois grupos com origens e ancestrais distintos. Entretanto, animais zebuinos e taurinos entrecruzam-se livremente e seus descendentes são férteis, não havendo, portanto, qualquer isolamento reprodutivo entre eles. Devido a esse aspecto, que é de importância fundamental à conceituação de espécie para muitos sistematas, alguns pesquisadores, no Brasil, têm designado esses dois grupos como variedades diferentes de uma mesma espécie, chamando o gado europeu e zebuino, respectivamente de *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* (JORGE, 1974; TAMBASCO, 1976).

Hoje o Zebu é encontrado apenas em regiões tropicais, como o subcontinente indiano, África, partes do sudoeste asiático e vários países do continente americano, para onde foram trazidos em épocas mais recentes. O gado Zebu originário da Índia representa um tipo distinto, não relacionado, tanto quanto se saiba, a qualquer gado selvagem existente ou aos ascendentes do gado sem cupim. Suas características distintas são a pele muito

solta, barbela e umbigo pendulosos e um cupim pronunciado. Como resultado de gerações incontáveis de seleção natural, o gado Zebu se tornou adaptado ao clima tropical, desenvolvendo a habilidade de suportar altas temperaturas e diversas doenças que exterminariam as raças européias. Pode-se dizer que o Zebu vive nas regiões em que os taurinos não se adaptam e vice-versa. Acredita-se que a maioria dos bovinos africanos tenha se originado de gado Zebu que migrou da Índia para a África seguindo as populações humanas, com alguma mistura de gado sem cupim. O gado Zebu, incluindo tipos como o Sanga da África e Criollo da América Latina, provavelmente constituem a maior parte de gado bovino do mundo (CARTWRIGHT, 1980).

Os zebuinos criados no Brasil são de origem indiana, resultado de diversas importações de reprodutores daquele país. As primeiras viagens à Índia, com a finalidade de trazer animais zebuinos para o Brasil, foram feitas no final do século passado e começo desse século. Segundo SANTIAGO (1985, p. 114), "a história do Zebu no Brasil, em seus primórdios, pode ser resumida no relato das importações". Esse autor, em seus dois livros, "A epopéia do Zebu", de 1960 e "O Zebu", de 1985, faz um relato valioso das viagens dos primeiros brasileiros que se interessaram pelo gado de cupim da Índia e das várias importações que ocorreram a partir daí.

O primeiro ciclo das grandes importações encerrou-se em 1921, devido ao aparecimento da peste bovina entre animais trazidos da Índia, o que levou o Ministério da Agricultura a proibir as importações. Até 1940 ainda ocorreram algumas entradas de animais, em caráter excepcional. Na década de 50 houve uma

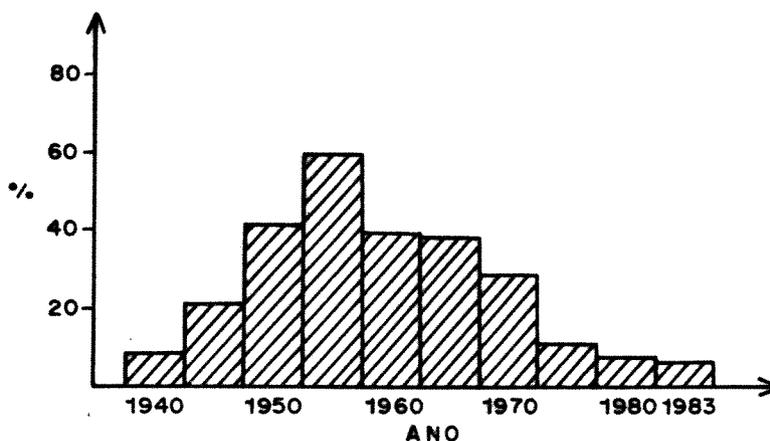
importação de um lote de gado Gir, não autorizada pelo governo, que acabou entrando ilegalmente no país pela fronteira com a Bolívia (cf. SANTIAGO, 1985, p. 148). Na década de 60 o governo brasileiro suspendeu a proibição de importação, estabelecendo a obrigatoriedade de quarentena na ilha de Fernando de Noronha. Várias importações ocorreram nesse período.

E difícil precisar a data em que cada raça zebuina entrou pela primeira vez em nosso país, isso porque, naquela época, era dada uma atenção maior ao fato de ser gado Zebu, do que propriamente à sua etnografia.

A raça Gir foi oficialmente introduzida no Brasil, em 1918, com a importação de 5 animais que foram levados para a região do Triângulo Mineiro, no estado de Minas Gerais. A partir daí ocorreram outras entradas desses animais. Apesar de ter se tornado o grupamento étnico mais numeroso em determinada fase da pecuária zebuina, a raça Gir foi a última a entrar em escala apreciável no Brasil. Isso ocorreu na década de 60, quando cerca de 223 cabeças foram importadas (SANTIAGO, 1985, p. 191).

O apogeu da raça Gir ocorreu nas décadas de 50 e 60. Atualmente, ela constitui o segundo grupamento étnico mais numeroso dentro do rebanho zebuino brasileiro, perdendo apenas para a raça Nelore em termos de animais registrados no Serviço de Registro Genealógico, da Associação Brasileira de Criadores de Zebu, com sede em Uberaba, MG. O Registro Genealógico, criado oficialmente em 1936, manteve seus livros abertos até agosto de 1971, quando ocorreu o fechamento dos mesmos. Os animais registrados em Livro Fechado são classificados como PO, isto é,

puros de origem e, para tal, devem ser filhos de pais portadores de registro genealógico definitivo. A porcentagem do número de registros da raça Gir em relação ao total de zebuínos registrados por essa associação no período de 1940 a 1983, pode ser vista na FIG. 8.



**FIGURA 8.** Porcentagem do número de registros da raça Gir na Associação Brasileira de Criadores de Zebu em relação ao total de zebuínos registrados no período de 1940 a 1983 (adaptado de SANTIAGO, 1985, p. 185).

A raça Gir criada no Brasil corresponde fielmente à raça homônima da Índia, tendo atingido um alto grau de pureza racial, como resultado de uma seleção em que foi dada muita atenção aos caracteres puramente étnicos (SANTIAGO, 1985, p. 189). Esse autor, em viagem que fez à Índia, em 1983, observou que, com exceção da raça Nelore (Ongole), os melhores representantes daquele país são inferiores aos bons animais que comparecem às nossas feiras e exposições nacionais. Isso pode ser atribuído à política do governo indiano de melhorar o gado nativo (zebuíno) com a introdução de raças europeias, o que estaria levando à extinção das raças indianas. Nesse sentido, o

melhoramento e a preservação de raças zebuínas no Brasil, pode algum dia representar uma fonte de germoplasma para a restauração dos rebanhos da própria Índia.

A raça Gir é originária da península de Kathiavar, provavelmente das florestas e montanhas de Gir, na costa oeste da Índia. Segundo a classificação de zebuínos da Índia feita por Joshi e Philips, em 1954 (cf. SANTIAGO, 1985, p. 65), a raça Gir está incluída no Grupo III, juntamente com as raças Dangri, Deoni, Nimari, Sahiwal e Sindi. Representantes dessa última raça também foram trazidos para o Brasil. Nesse grupo, a raça Gir foi considerada a raça tronco por ser a que apresentava maior grau de pureza racial e por ter influenciado nas demais raças. Nessa classificação de seis grupos, temos no Brasil outros três representantes: a raça Guzerá (ou Kankrej), do Grupo I, a raça Nelore (ou Ongole), do Grupo II e a raça Kangayan, do Grupo IV.

O Gir é um tipo bovino totalmente distinto dos demais zebuínos, caracterizado de uma maneira geral pelo perfil craniano ultraconvexo, chifres tipicamente curvos, corpo compacto, barbela e umbigo pendulosos e pelagem variegada, cuja aparência impressiona bastante.

A cabeça é a característica mais notável da raça. A testa, proeminente e larga, forma uma saliência lisa e arredondada, que se projeta para trás entre as saídas do chifre, dando-lhe um perfil ultraconvexo. A testa projeta-se sobre as sobrancelhas, de tal modo que o animal parece ter os olhos parcialmente fechados (olhos amendoados), o que lhe dá uma aparência plácida e sonolenta. O chanfro é reto, médio e largo nos machos e mais comprido e estreito nas fêmeas. Os chifres são

caracteristicamente encurvados. Partindo da base da marrafa eles saem para baixo e para trás, em seguida dirigem-se para cima e para frente, na forma de uma espiral voltada para dentro. As orelhas são compridas e pendentes, parecendo uma folha enrolada virada para a frente. Na base são enroladas como um cilindro e abrem-se na ponta com um corte característico na extremidade (SANTIAGO, 1985, p. 219).

A pelagem é bastante variada. As cores básicas são o vermelho, mais ou menos escuro, o marrom achocolatado (ou roxo) e o branco. A cor amarela não é muito apreciada. Essas cores, mescladas com manchas e pintas bem definidas, dão origem aos seguintes tipos de pelagem: a) vermelha uniforme; b) vermelha "chitada", que é o fundo vermelho com manchas e pintas brancas; c) "chita" de vermelho, de roxo ou de preto, que é o fundo branco com manchas de uma dessas cores e d) "moura" de vermelho, de roxo ou de preto, quando manchas dessas cores aparecem nas orelhas, cabeça ou extremidades (SANTIAGO, 1985, p. 219).

O cupim é de tamanho médio, sendo considerado um defeito quando está tombado para o lado. A barbeta é moderadamente desenvolvida e o umbigo, nos machos, é penduloso. A pele é fina, solta e flexível, de cor preta ou escura, permitindo-se ligeira despigmentação nas áreas sombreadas. A cauda é comprida, com a extremidade geralmente preta ou escura, tolerando-se a cor branca ou mesclada em alguns tipos de pelagem. O focinho, olhos, pálpebras e cascos são pretos ou escuros (SANTIAGO, 1985, p. 220).

A raça possui uma conformação mediana para corte. O

temperamento é dócil. Na Índia, onde as proibições impedem o abate de animais para o consumo da carne, a raça Gir é considerada uma raça leiteira, embora a produção das vacas varie muito. Os machos castrados são usados para tração, porém, apesar de grandes e fortes, são vagarosos e letárgicos (SANTIAGO, 1985, p. 224).

No Brasil, a criação da raça Gir foi, desde o início, orientada para a finalidade de produção de carne. Os próprios padrões estabelecidos para a raça denotam esse propósito. A exploração de leite, tida como atividade secundária, passou a interessar mais de perto técnicos e pecuaristas, na medida em que se observavam, nessa raça, vacas de elevada produção e ao mesmo tempo se questionava o desempenho leiteiro de raças européias e crioulas nas condições de criação e manejo do nosso país (SANTIAGO, 1985, p. 270).

Como fruto da iniciativa do poder público, três núcleos de criação e seleção de Gir leiteiro podem ser citados: o núcleo da Fazenda Experimental de Criação "João Pessoa", em Umbuzeiro, PB (atualmente pertencente à EMBRAPA), fundado em 1938; o núcleo da Fazenda de Criação "Getúlio Vargas", em Uberaba, MG (atualmente pertencente à EPAMIG), fundado em 1948; e o núcleo do Posto Experimental de Criação, em Ribeirão Preto, SP (atualmente pertencente ao Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo), fundado em 1957. Na iniciativa privada, os seguintes rebanhos podem ser considerados fundadores da linhagem leiteira: Fazenda Santana da Serra, em Mococa, SP, formado por volta de 1930; Fazenda Campo Alegre, em Casa Branca, SP, formado por volta de 1932; Fazenda Calciolândia, em Arcos, MG, formado por volta de

1960; Fazenda Brasília, em São Pedro dos Ferros, MG, formado por volta de 1960; e Fazenda da Derrubada, em Rio das Flores, RJ, formado por volta de 1967 (VILLARES, 1979).

Para a seleção do Gir leiteiro muito contribuiu o Serviço de Controle Leiteiro da Associação Brasileira de Criadores, reconhecido oficialmente pelo Ministério da Agricultura. A partir de 1964, diversos criadores passaram a controlar as lactações de suas vacas. Baseado em dados de lactações controladas pela Associação Brasileira de Criadores no período de 1964 a 1977, VILLARES (1979) verificou um aumento na produção média de 1.659 para 2.808 kg de leite e de 78,6 para 120,0 kg de gordura, os quais representaram um ganho de 40,9% e 39,1%, respectivamente, em 13 anos. Segundo esse mesmo autor, não há Gir leiteiro em outra parte do mundo para ser importado pelo Brasil. A posição relevante do Gir leiteiro na pecuária brasileira é interpretada por esse autor como sendo "não o resultado de milagre ou acaso, mas sim, da combinação do trabalho de gente pertinaz, de material biológico adequado e de métodos zootécnicos apropriados".

De acordo com SANTIAGO (1985, p. 323), a raça Gir deve ser considerada uma raça mista, produtora de carne e de leite. Contudo, uma questão ainda permanece em debate. O padrão da raça Gir, estabelecido pela Associação Brasileira dos Criadores de Zebu, descreve um animal do tipo para corte. Essa Associação, em 1975, definiu algumas exigências de produção para que um animal Gir leiteiro seja registrado com a inscrição "Aptidão Leiteira" (cf. SANTIAGO, 1985, p. 327), sem, entretanto, ter alterado

qualquer item no que se refere ao padrão racial. Esse tipo de inscrição no registro, contudo, ainda não foi oficializado pelo Ministério da Agricultura (informação fornecida pela Associação Brasileira dos Criadores de Zebu). Segundo SANTIAGO (1985, p. 328), a solução dada pela Associação à questão do Gir leiteiro não atendeu aos interesses da pecuária zebuina porque, ao conservar a mesma exigência de padrão racial do Gir de corte, desconsiderou o fato de que a conformação de um bovino reflete grandemente a sua aptidão econômica e o seu grau de especialização. Assim, enquanto a vaca leiteira tem a clássica forma de cunha, a vaca de corte apresenta fartas massas musculares e conformação diferente da primeira.

Em conjunto com a variedade de Gir de corte, perfeitamente estabelecida e contando com um grande contingente de criadores, a variedade de Gir leiteiro inegavelmente constitui um patrimônio genético na pecuária nacional, com perspectivas para a produção de leite em regiões tropicais, tanto como uma raça pura quanto em cruzamento com outras raças (VILLARES, 1979; SANTIAGO, 1985, p. 334).

Além da variedade leiteira, existe na raça Gir criada no Brasil, a variedade mocha, de padrão para carne. Essa variedade passou a ser reconhecida oficialmente pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu, no início de 1976, com registro genealógico em Livro Aberto, após os estudos de uma comissão designada pelo Ministério da Agricultura, que reconheceu a inegável existência dessa variedade dentro da raça Gir (SANTIAGO, 1985, p. 256). A partir de fevereiro de 1986, o registro genealógico passou a ser feito em Livro Fechado.

Segundo SANTIAGO (1985, p. 247), não há registros, na Índia, de raças ou variedades de zebuínos sem chifres, o que indicaria a não ocorrência de mutação para o gene mocho, nos mais de dois milênios em que esse gado se desenvolveu naquele país. Ainda segundo esse autor (p. 254), a hipótese mais provável para a origem do Gir mocho no Brasil seria a miscigenação ocorrida nas primeiras décadas desse século, entre gado zebuino e gado crioulo mocho, que por vez, adquirira essa característica pelo cruzamento com reprodutores importados da Inglaterra. Apesar da suposta origem taurina dessa característica introduzida na raça Gir, as várias gerações de cruzamentos absorventes com animais registrados, de comprovado padrão racial, levaram à aceitação dessa variedade.

### 3. MATERIAL E METODOS

#### 3.1. Amostra

Os bovinos da raça Gir (*Bos indicus*) foram classificados no grupo de leite quando procediam de fazendas em que se pratica seleção para leite, inclusive com vacas sob controle leiteiro, e no grupo de corte se procediam de fazendas onde se pratica a criação tradicional da raça Gir.

A amostra estudada inclui animais provenientes de onze fazendas e sete exposições nacionais. Em dez fazendas e em uma exposição nacional as amostras de sangue foram coletadas estritamente para fins desta pesquisa. O restante refere-se a amostras de sangue enviadas ao laboratório para tipagem sanguínea de rotina. De cada animal foram obtidas informações sobre identificação, sexo, data de nascimento e, sempre que possível, filiação. A procedência, número de animais e o grupo a que pertencem podem ser vistos na TAB. 4. Um total de 1280 animais foi testado, sendo 714 do grupo de leite e 566 do grupo de corte. No grupo de corte estão incluídos animais da variedade Gir mocha, que se desenvolve no Brasil. Na amostra estudada, eles são provenientes de uma das fazendas (Fazenda Tangará, de Uberaba, MG) e de uma parte dos animais das exposições nacionais. Essa amostra total incluiu uma parte chamada de amostra casual e uma parte com estrutura familiar.

A amostra casual foi constituída de matrizes e touros sem a estrutura familiar referida acima. Essa amostra, menor que a amostra total coletada, foi utilizada para o cálculo das estimativas populacionais. Para se chegar a essa amostra casual

TABELA 4. Procedência, classificação e número de animais da amostra total coletada<sup>1</sup>.

Fazenda	Grupo	Número de animais
Estação Experimental de Zootecnia de Ribeirão Preto (Ribeirão Preto, SP)	leite	125
Faz. Santana da Serra (Mococa, SP)	leite	328
Faz. Campo Alegre (Casa Branca, SP) e Faz. Tabarana (Santa Cruz das Palmeiras, SP)	leite	102
Faz. Calciolândia (Arcos, MG)	leite	127
Faz. Brasília (São Pedro dos Ferros, MG)	leite	32
	subtotal	714
Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho (Sertãozinho, SP)	corte	111
Faz. Americana (Avaré, SP)	corte	110
Faz. Cachoeira (Sertãozinho, PR)	corte	39
Estância Boa Sorte (Barretos, SP)	corte	27
Faz. Tangará (Uberaba, MG)	corte	152
Exposições nacionais	corte	127
	subtotal	566
	Total	1280

1: inclui uma parte com estrutura familiar, não utilizada para as estimativas populacionais.

foram adotados dois critérios com relação às fazendas colaboradoras. Um deles, foi o de coletar sangue apenas de touros e vacas (matrizes) em idade reprodutiva, evitando-se, de certa maneira, a sobreposição de gerações. O outro, foi o de retirar da amostra os descendentes de touros incluídos nas famílias. Com relação às outras fontes, tem-se vacas doadoras de embriões e

animais de exposições nacionais que constituem uma amostragem casual dos rebanhos. Evidentemente, em consequência da estrutura natural dos rebanhos de bovinos, uma certa sobreposição de gerações existe na amostra casual, ou seja, ocorrem relações do tipo pai-filho e mãe-filho. Ao invés de se pretender impedir essas relações, preferiu-se aceitá-las como um reflexo da estrutura natural da população estudada.

A distribuição da amostra casual de acordo com a procedência e o grupo está apresentada na TAB. 5. Essa amostra foi constituída de 922 animais, sendo 476 no grupo de leite e 446 no grupo de corte.

Uma parte da amostra total coletada nas fazendas colaboradoras foi planejada de forma a exibir uma estrutura familiar. Essa parte foi constituída de famílias de touros, em que o touro, diversos produtos desse touro e respectivas mães foram tipados. A inclusão dessa amostra familiar teve por finalidade o estudo da segregação genética dos fatores dentro do sistema B de grupos sanguíneos, ou seja, a determinação dos fenogrupos desse sistema. Foram planejadas famílias de meio-irmãos paternos em virtude desta ser a estrutura mais comum na criação de bovinos, onde um ou poucos touros, seja por monta natural ou inseminação artificial, deixam os descendentes da próxima geração. Dessa forma, no grupo de leite e no de corte foram estudadas, respectivamente, 15 e 14 famílias. A média de filhos por família foi 12,3 com valores extremos de 6 e 27. Um certo número desses filhos não pode ser utilizado na análise pretendida, porque os dados de tipos sanguíneos apontaram erros de paternidade.

**TABELA 5. Distribuição da amostra casual de acordo com a procedência e o grupo.**

<b>Procedência</b>	<b>Grupo</b>	<b>Número de animais</b>
Est. Experimental de Ribeirão Preto	leite	71
Faz. Santana da Serra	leite	195
Faz. Tabarana e Campo Alegre <sup>1</sup>	leite	77
Faz. Calciolândia	leite	101
Faz. Brasília	leite	32
	subtotal	476
Est. Experimental de Sertãozinho	corde	71
Faz. Americana	corde	74
Faz. Cachoeira	corde	39
Estância Boa Sorte	corde	19
Faz. Tangará	corde	116
Exposições nacionais	corde	127
	subtotal	446
	<b>Total</b>	<b>922</b>

<sup>1</sup>: as amostras das fazendas Campo Alegre e Tabarana estão agrupadas porque se trata de um mesmo núcleo de criação.

### 3.2. Coleta de sangue

A coleta de sangue foi feita em tubos fechados a vácuo (sistema Vacutainer, da Beckton-Dickson), comercializados ou preparados no próprio laboratório. Com o auxílio desses tubos a coleta é feita facilmente da veia jugular do animal diretamente para dentro do tubo, por meio de uma agulha de dupla extremidade, que permite perfurar, ao mesmo tempo, a veia e a rolha de

borracha que fecha o tubo.

De cada animal foram coletados dois tubos de cerca de 10ml, um deles com e o outro sem anticoagulante. Os tubos comprados apresentavam heparina sódica como anticoagulante enquanto que nos tubos preparados pelo laboratório foi utilizada a solução Alsever. Durante as coletas os tubos eram devidamente rotulados com o nome e/ou número do animal coletado.

As amostras eram transportadas refrigeradas para o laboratório, em mãos ou pelo correio (via Sedex). O período de tempo entre a coleta e a chegada ao laboratório não excedeu a três dias na maioria dos casos, mas atingiu seis dias em alguns casos. No laboratório as amostras eram codificadas e catalogadas.

Os tubos com sangue total não coagulado serviram como fonte de hemácias para os testes hemolíticos, os quais foram realizados no máximo até três dias após a chegada ao laboratório. Durante todo o tempo, esses tubos foram mantidos em geladeira a cerca de 4°C. Os tubos sem anticoagulante, após a chegada ao laboratório, foram centrifugados para separação do soro. Tanto as hemácias lavadas quanto os soros eram estocados em tubos devidamente rotulados a cerca de -20°C, para serem utilizados nos testes eletroforéticos.

### 3.3. Testes serológicos

A amostra total coletada (n=1280) foi submetida a testes serológicos para a identificação dos grupos sanguíneos em nove sistemas analisados. Na tipagem dos grupos sanguíneos de bovinos usa-se exclusivamente o teste hemolítico, tendo-se como fonte de complemento o soro de coelho. A hemácia bovina, ao

contrário da de outras espécies, não é facilmente aglutinável. Os vários aspectos relacionados à serologia dos grupos sanguíneos serão considerados a seguir.

### 3.3.1. Testes hemolíticos

Todos os animais da amostra foram submetidos a testes hemolíticos para a detecção de 33 fatores sanguíneos da hemácia, controlados por 9 sistemas genéticos. Os sistemas testados foram: A, B, C, F, J, L, M, S e Z. Os fatores sanguíneos foram identificados com o auxílio de 49 reagentes, alguns dos quais estavam duplicados ou triplicados para um mesmo fator. A relação dos fatores testados, de acordo com o sistema e informações sobre os reagentes utilizados estão na TAB. 6. Os reagentes foram produzidos pelo Laboratório de Imunogenética, da Universidade Federal de São Carlos, onde esta pesquisa foi realizada.

Os testes hemolíticos foram realizados de acordo com técnicas descritas por FERGUSON (1941) e STORMONT et al. (1951), com algumas modificações.

As hemácias de cada animal foram lavadas convenientemente e diluídas a 2,5% em salina fisiológica (NaCl 0,91%), para serem testadas. Como complemento utilizou-se soro normal de coelho, não diluído e descongelado poucos minutos antes do uso.

Para a montagem dos testes foram utilizadas placas de microtitulação com 8 x 12 cavidades de fundo em U (Cooke Laboratory Products). Em cada cavidade foram adicionados 50µl de um reagente específico, 25µl de suspensão de hemácias e 25µl de

complemento, nesta ordem. Esse três componentes foram colocados nas placas com uma pipetadora automática de 96 canais (Cooke Laboratory Products), que libera 25µl por canal, e foram misturados com um micro-agitador de placas (Dynatech Products).

TABELA 6. Fatores sangüíneos testados por sistema e informações sobre os reagentes correspondentes.

Fator	Reagente <sup>1</sup>	Fator	Reagente <sup>1</sup>
Sistema A		Sistema F	
A <sub>1</sub>	a(2);b(1)	F <sub>1</sub>	a(1)
H	a(3)	V <sub>1</sub>	a(1)
Z'	a(2);b(1)	V <sub>2</sub>	a(1);c(1)
Sistema B		Sistema J	
B <sub>1</sub>	a(1)	J	c(2)
G <sub>2</sub>	a(1)	Sistema L	
I <sub>1</sub>	a(1)	L	a(2)
K	a(1)	Sistema M	
O <sub>1</sub>	a(1)	M'	a(2)
Q	a(2)	Sistema S	
T <sub>1</sub>	a(1)	U <sub>1</sub>	a(2)
Y <sub>2</sub>	a(2)	U'	a(2)
B'	a(1)	H''	a(2)
D'	a(1)	Sistema Z	
E' <sub>2</sub>	a(1)	Z	a(1)
I' <sub>2</sub>	a(1)		
J'	a(2)		
O'	a(2)		
P'	a(1)		
Q'	a(1)		
B''	a(1)		
Sistema C			
R <sub>1</sub>	a(2)		
W	a(1)		
X <sub>1</sub>	a(1)		

1: informações dadas nesta coluna referem-se às fontes de obtenção dos reagentes, sendo, a= soro bovino aloimune, b= soro de coelho anti-hemácia bovina e c= soro bovino normal. Os números entre parênteses referem-se ao número de réplicas para cada reagente.

As placas assim montadas foram mantidas à temperatura ambiente (25±2°C) para a leitura dos resultados. Foram feitas três leituras das reações, a primeira, 30 minutos após a montagem

do teste e as seguintes, com intervalos de 90 minutos. Após as leituras as placas eram novamente agitadas. As leituras foram feitas a olho nu, com o auxílio de um espelho e foram anotadas em protocolos adequados. Os resultados dos testes serológicos foram anotados de acordo com o grau de hemólise das células, variando de 0 (nenhuma hemólise visível) a 4 (hemólise completa). Graus intermediários foram registrados como tr (traços de hemólise), 1 (10 a 30% de hemácias lisadas), 2 (40 a 60% de hemácias lisadas) e 3 (70 a 90% de hemácias lisadas). Dois operadores revezaram-se nas três leituras, com uma pessoa lendo o teste e a outra anotando no protocolo. A interpretação do grau de reação para determinar se um animal é positivo ou negativo para um dado fator depende grandemente da experiência do pesquisador com o painel de reagentes e, quando necessário, foram feitas repetições e absorções na tentativa de se confirmar um resultado duvidoso. Reações que continuaram questionáveis foram excluídas individualmente da análise, ou seja, não foi excluído o animal como um todo, mas apenas o dado referente àquele(s) fator(es).

### 3.3.2. Produção de reagentes

Os reagentes usados nos testes hemolíticos não são comercializados e foram produzidos pelo próprio laboratório, para a realização desta pesquisa.

Reagentes operacionalmente monoespecíficos podem ser obtidos pela análise de anti-soros aloimunes, anti-soros heteroimunes ou soro bovino normal. Como exemplo deste último tem-se que o reagente para o fator J não é obtido por imunização, mas sim como anticorpo natural no soro de animais

negativos para esse fator na hemácia e no soro. Nas heteroimunizações, as hemácias de um ou mais bovinos são inoculadas usualmente em coelhos. A maior parte dos reagentes é obtida por aloimunização, uma pequena parte por heteroimunização e apenas alguns como anticorpo natural. Isso pode ser verificado na TAB. 6, onde se tem que, com exceção dos reagentes para os fatores J e V<sub>2</sub>, que foram obtidos como anticorpo natural e de um reagente para os fatores A<sub>1</sub> e Z', que foram obtidos por heteroimunização, os reagentes para os demais fatores foram obtidos por aloimunização.

Os procedimentos de aloimunização e heteroimunização foram baseados em métodos descritos por FERGUSON (1941) e STORMONT (1950), com algumas modificações. Nas aloimunizações, resumidamente, foram feitas de 4 a 5 injeções endovenosas, uma por semana, de 50ml de uma suspensão de hemácias a 50% em salina fisiológica. Nas primeiras séries de imunizações realizadas, a primeira injeção era feita com 50ml de sangue total, porém, a fim de se evitar a ocorrência de choque anafilático, modificou-se para a suspensão a 50%. Quando a resposta de produção de anticorpo do animal receptor indicava um título de, no mínimo, 1/16 (ou menos, se fosse monoespecífico), 2 a 3l de sangue eram coletados do receptor. O soro era separado, colocado em banho de água a 56 °C por 30 minutos para inativação do complemento e estocado em congelador para as análises posteriores. O anti-soro obtido era submetido a análises de titulação e absorção para a separação dos anticorpos de várias especificidades que porventura tivessem sido produzidos e a preparação de reagentes

operacionalmente monoespecíficos. Essas técnicas foram feitas de acordo com métodos descritos por FERGUSON (1941), FERGUSON et al. (1942) e STORMONT & CUMLEY (1943).

Os reagentes obtidos de anti-soros aloimunes utilizados nesse trabalho são o resultado de procedimentos de imunização realizados em vacas das raças Canchim e Mestica Leiteira Brasileira, da EMBRAPA/UEPAE - São Carlos (SP), em vacas da raça Nelore, do CIZIP (Centro de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa" - USP, Pirassununga, SP) e em vacas da raça Holandesa, da Fazenda da Toca, Itirapina (SP).

O trabalho de produção de reagentes tem sido feito principalmente com a colaboração da EMBRAPA/UEPAE - São Carlos, que tem cedido animais como receptores de imunizações e também como doadores de sangue para a análise dos anti-soros. Esse trabalho teve início em 1979 com a tipagem de um lote de vacas (lote referência) com reagentes para 57 especificidades distintas gentilmente cedidos pelo Dr. Clyde Stormont, do Serology Laboratory, da Universidade da Califórnia em Davis. Ao longo desse trabalho, oito séries de aloimunizações foram feitas na UEPAE/São-Carlos, com um total de 156 receptoras imunizadas.

Nas unidades do CIZIP e Fazenda da Toca foi realizada apenas uma série de aloimunizações em cada uma, com um total de 12 e 19 vacas imunizadas, respectivamente.

Apesar das aloimunizações terem sido planejadas de forma a se esperar a produção de anticorpos contra todos os fatores para os quais o lote referência foi tipado, a resposta imune do animal receptor é imprevisível e em algumas imunizações nem se obteve produção de anticorpo contra hemácia. Devido a

isso, o painel de reagentes usados nessa pesquisa é menor do que o conhecido internacionalmente. E conveniente lembrar que nem todos os laboratórios possuem a bateria completa de reagentes.

Os reagentes obtidos de anti-soros heteroimunes utilizados nesse trabalho são o resultado de procedimentos de imunização realizados em coelhos da raça Nova Zelândia, de uma colônia de coelhos mantida pelo Laboratório de Imunogenética.

A padronização dos reagentes foi feita através de testes comparativos internacionais promovidos pela International Society for Animal Genetics (ISAG), que contam com a participação de laboratórios de várias partes do mundo que fazem tipagem sanguínea de bovinos. A nomenclatura utilizada para designação dos reagentes e os respectivos fatores sanguíneos é aquela adotada internacionalmente por essa sociedade científica.

### 3.3.3. Obtenção de complemento

O complemento, um dos componentes do teste hemolítico, consiste de uma série de 11 enzimas encontradas no soro normal. A sua ação no teste hemolítico é a de promover lesões na membrana da hemácia nos locais onde o anticorpo ligou-se ao antígeno. A formação do complexo do anticorpo com o antígeno de membrana desencadeia a ativação do sistema complemento, que leva à lise da hemácia. A ocorrência de lise é indicativa, portanto, de que o animal é positivo para o fator testado, ou seja, de que ele expressa esse fator na membrana da hemácia.

Na tipagem dos grupos sanguíneos de bovinos usa-se soro de coelho como fonte de complemento. Em comparação com a cobaia,

que é a fonte tradicional de complemento, o coelho, além de fornecer maior volume de soro por animal, apresenta complemento que produz lise mais rápida e completa de hemácias bovinas sensibilizadas com anticorpos e não apresenta comumente anticorpo anti-hemácia bovina.

O complemento utilizado nos testes hemolíticos foi obtido de coelhos da raça Nova Zelândia, de uma colônia de 40 coelhos mantida pelo Laboratório de Imunogenética. As coletas de sangue foram realizadas nos mesmos coelhos em intervalos de um mês. De cada coelho eram coletados 50ml de sangue por punção cardíaca. O soro obtido de vários coelhos era misturado e dividido em aliquotas de 10ml e estocado em congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Antes de ser liberado para uso, esse soro era testado quanto à presença de anticorpos heterófilos contra a hemácia bovina e quanto à atividade lítica. Em virtude de ambos (coelhos e bovinos) serem negativos para o antígeno Forssman, não houve necessidade de se absorver o anticorpo anti-Forssman do soro de coelho (STORMONT & SUZUKI, 1958).

#### 3.4. Testes eletroforéticos

Os animais da amostra casual (n=922) foram tipados em relação a quatro sistemas de proteínas do sangue: albumina (Al) e transferrina (Tf) presentes no soro, e hemoglobina (Hb) e anidrase carbônica (CA) presentes nas hemácias. Esses quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos foram estudados por eletroforese horizontal em gel de amido.

### 3.4.1. Aspectos gerais da eletroforese em gel de amido

**Preparação do gel:** Os géis foram preparados de acordo com o método descrito por KRISTJANSSON (1963), com algumas modificações. Para a confecção dos géis foi usado amido hidrolisado de batata de duas fontes (Connaught Medical Research Laboratories e Sigma Chemical Company). O uso de amido de marcas diferentes, ou mesmo de lotes diferentes de uma mesma marca, impôs, muitas vezes, algumas adaptações.

O gel foi preparado pelo cozimento de uma certa quantidade de amido em um dado volume de solução-tampão. A concentração de amido no gel, o pH e o tipo da solução-tampão variaram de acordo com o sistema de proteína analisado. Havendo amostras suficientes para serem testadas, os géis eram feitos em lotes de três placas de cada vez. Para isso preparavam-se 500ml de solução-tampão em um balão volumétrico. Cerca de 100ml eram separados e o restante era colocado para ferver sobre uma placa de aquecimento. O amido era pesado e colocado em um frasco de Kitasato. Um pouco antes da solução-tampão entrar em ebulição, esse amido era dissolvido com o volume que havia sido separado. Quando a solução fervia, ela era adicionada ao amido dissolvido, rápida e cuidadosamente, mantendo-se, então, vigorosa agitação do frasco, para que todo o amido fosse uniformemente cozido sem formar grumos. Muitas vezes foi necessário dar-se continuidade ao cozimento, agitando-se o frasco sobre a placa de aquecimento por alguns minutos, até se obter um gel de menor viscosidade. Para que não ficassem bolhas de ar no gel, o frasco era conectado por cerca de 30 segundos a um aspirador ligado a uma bomba de vácuo.

mantendo-se sempre a agitação. Após a retirada do ar, interrompia-se a agitação e o gel estava pronto para ser despejado nas três placas de vidro previamente montadas. A preparação de apenas um gel era feita proporcionalmente com 200ml de solução-tampão.

Os géis foram montados em placas de vidro medindo 260 x 180 x 5mm, com molduras de acrílico de 5mm de espessura e medidas internas de 215mm x 140mm, que eram colocadas sobre a placa de vidro.

Após o gel ter solidificado e esfriado na placa, ele era coberto com uma folha de plástico para evitar a ressecção e deixado à temperatura ambiente para ser usado 1 a 2 horas depois.

**Corrida eletroforética:** Para a colocação das amostras no gel fazia-se um corte transversal ao longo da largura da placa, a uma distância da extremidade catódica que variava conforme o sistema de proteína analisado. As amostras de cada animal eram colocadas no gel por meio de pedaços retangulares de papel de cromatografia (Whatman nº 3) embebidos na amostra contendo a proteína (soro ou hemolisado). Cada gel acomodava 15 amostras, com um espaço de 1mm entre si. Esses papéis foram inseridos verticalmente ao longo do corte feito no gel. O corte era cuidadosamente fechado para que não ficassem bolhas de ar que impedissem a passagem de corrente elétrica. A folha de plástico que recobria o gel era dobrada a fim de deixar expostos 2cm em cada extremidade. A corrente elétrica era aplicada nas cubas por meio de eletrodos e transmitida ao gel por pontes de tecido Perfex (Johnson & Johnson) conectando cada cuba a uma das extremidades expostas do

gel.

As cubas dos eletrodos, feitas de acrílico, mediam 15cm de comprimento, 7cm de largura e 6cm de altura, e nelas eram despejadas cerca de 175ml de solução-tampão apropriada. Fios de platina de 8cm de comprimento foram usados como eletrodos, conectados a fonte de eletricidade de voltagem constante (Heath Company, Modelo SP 2717).

Os pedaços de papel foram deixados no corte apenas o tempo suficiente para as proteínas alcançarem o gel, o que variava com o sistema analisado, sendo então retirados. Após a retirada dos papéis o corte era novamente fechado com cuidado.

Os géis, cobertos com uma placa de vidro, foram corridos à temperatura ambiente. Para a anidrase carbônica e albumina o gel foi resfriado durante a corrida com um pacote de gelo colocado sobre o vidro.

A duração da eletroforese dependeu da proteína em questão. A corrida era interrompida quando um determinado marcador atingia uma distância previamente estabelecida para cada proteína.

**Coloração do gel:** A coloração do gel para os quatro sistemas de proteínas foi feita com Amido Black, que é um corante inespecífico de proteínas, dissolvido a 1% em solução descorante.

Terminada a corrida eletroforética, a moldura de acrílico era retirada e o gel era cortado longitudinalmente em duas partes, com o auxílio de um fio de nylon esticado entre as mãos, que corria sobre duas hastes laterais de 2mm de espessura. A parte superior era desprezada e a inferior era corada por 30

segundos com a solução de Amido Black, sendo lavada com água corrente para retirar o excesso de corante. Em seguida, o gel era transferido cuidadosamente para cubas com solução descorante e fixadora (5 volumes de metanol: 5 volumes de água destilada: 1 volume de ácido acético glacial). A solução descorante era trocada uma a duas vezes nas 12 horas seguintes, até que se tivesse um gel com o fundo ligeiramente azulado e as zonas de proteínas intensamente coradas. Os géis corados e fixados eram embrulhados em plástico e guardados para posterior leitura do padrão de separação eletroforética.

#### **3.4.2. Métodos de separação**

**Albumina (Al):** A separação de variantes de albumina foi feita usando-se o sistema descontinuo de KRISTJANSSON (1963), com uma pequena modificação no tampão do gel, constituído de ácido cítrico 0,0048M e Tris-Sigma 7-9 0,0137M, pH 6,5. O tampão borato, pH 8,7 (ácido bórico 0,30M e hidróxido de sódio 0,10M), foi usado nas cubas dos eletrodos. A concentração de amido no gel foi 12%.

As amostras de soro foram diluídas em água destilada na proporção de 1:2 e colocadas no gel com papéis Whatman nº 3, espessura simples. Os papéis foram removidos da linha de inserção após um minuto, durante o qual foi aplicada uma voltagem de 100V. A corrida continuou com uma voltagem de 200V até que a frente visível do tampão borato atingisse 6cm de migração além do corte. Esse gel foi coberto com um pacote de gelo durante a corrida eletroforética para a dissipação do calor.

**Anidrase carbônica (CA):** O polimorfismo da anidrase carbônica foi

pesquisado de acordo com técnicas descritas por SARTORE *et al.* (1969), empregando-se o sistema descontínuo de tampões descrito por KRISTJANSSON (1963). No gel foi usado o tampão Tris-Sigma 7-9 0,0144M e ácido cítrico 0,0042M, pH 7,3. Nas cubas foi usado o tampão borato descrito para o sistema de albumina. A concentração de amido no gel foi 11,2%.

Ao invés de hemolisados, usou-se extratos da enzima em álcool-clorofórmio. A extração da anidrase foi feita segundo procedimentos descritos por ROUGHTON & BOOTH (1946). Para 1ml de hemácias lavadas, adicionava-se 0,9ml de etanol a 40%, agitando-se em seguida para que ocorresse hemólise completa. Adicionava-se 0,6ml de clorofórmio e agitava-se novamente até a precipitação da hemoglobina. Antes de ser centrifugado, o tubo era mantido em geladeira a 4°C durante 30 minutos. O sobrenadante, que continha o extrato da enzima, foi utilizado na eletroforese para ser possível a identificação da variante CA Z descrita por PENEDO *et al.* (1982).

As amostras de anidrase carbônica foram colocadas no gel com papéis Whatman nº 3 de espessura dupla e foram deixadas no gel por 15 minutos, a uma voltagem de 150V. Após a retirada dos papéis a voltagem era aumentada para 300V. A corrida era interrompida quando a frente do tampão borato atingia 6cm.

**Hemoglobina (Hb):** A detecção do polimorfismo de hemoglobina foi feita de acordo com o método de GAHNE *et al.* (1960), usando-se o sistema contínuo de tampão Tris-EDTA-borato, pH 8,9. A solução tampão era composta de Tris-Sigma 7-9 0,1668M, EDTA-sal tetrassódico 0,0045M e ácido bórico 0,0242M. Nas cubas dos

eletrodos foi usado tampão não diluído. No gel o tampão foi diluído na proporção de 3 em 10. A concentração de amido no gel foi 10,4%.

Os hemolisados, onde a hemoglobina foi pesquisada, foram preparados com hemácias lavadas, concentradas e lisadas com água destilada na proporção de 1 : 3. Para a colocação das amostras de hemoglobina no gel, foi utilizado papel Whatman nº 3, espessura simples. Por ter sido usado um sistema contínuo de tampão pode-se fazer até três cortes no gel para inserção das amostras. Usando-se pedaços menores de papéis (6x6mm) foi possível acomodar-se 20 amostras por corte e, portanto, 60 amostras por gel. Os papéis ficaram no gel por 30 segundos, durante os quais foi aplicada uma voltagem de 300V. Após a retirada dos papéis, a mesma voltagem foi mantida. Por ser um pigmento, a hemoglobina podia ser vista diretamente no gel, mas o método de coloração descrito anteriormente foi empregado.

**Transferrina (Tf):** As variantes de transferrina foram estudadas com o mesmo sistema de gel e tampões empregados para a anidrase carbônica, de acordo com o método descrito por KRISTJANSSON (1963).

As amostras de soro não diluído foram colocadas no gel com papéis Whatman nº3, espessura simples. Uma voltagem inicial de 160 V foi aplicada por 15 minutos, após os quais os papéis foram retirados e a voltagem aumentada para 300 V até que a frente visível do tampão borato atingisse 10 cm de migração além do corte.

### 3.5. Análise dos dados.

A partir dos resultados dos fatores relativos a nove sistemas de grupos sanguíneos (A, B, C, F, J, L, M, S e Z) e das variantes protéicas relativas a quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos, foram obtidos alguns dados e efetuadas análises estatísticas para os grupos de leite e de corte.

**Número médio de fatores sanguíneos:** Esse dado foi obtido pela média aritmética da contagem do número de fatores sanguíneos apresentados pelos indivíduos da amostra casual. O número médio de fatores foi obtido para o sistema B em particular, para todos os sistemas com exceção do B e para todos os sistemas em geral. O número médio de fatores será apresentado junto com o erro padrão da média calculado como  $s/\sqrt{N}$ , onde  $s$  é o desvio padrão e  $N$  é o tamanho da amostra.

**Frequência dos fatores sanguíneos:** Esse dado foi obtido, na amostra casual, para os 33 fatores testados nos nove sistemas de grupos sanguíneos, contando-se o número de indivíduos positivos para cada fator e dividindo-se pelo total de indivíduos. Nos sistemas A, C e S, em que não foi possível estimar as frequências alélicas, a frequência dos fatores é a única medida de caracterização do sistema.

**Determinação dos fenogrupos do sistema B:** A determinação dos fenogrupos do sistema B foi feita pela análise da segregação dos fatores desse sistema em famílias poligâmicas de touros e pela observação de sua ocorrência serológica na amostra. Nas famílias de touros, os descendentes foram tipados para todos os sistemas

de grupos sangüneos e antes de se analisar a segregação dentro do sistema B, verificou-se se o produto qualificava como filho dos pais em questão. Apenas os que qualificaram foram incluídos nessa análise.

**Freqüências alélicas:** As freqüências alélicas foram estimadas, na amostra casual, para os sistemas B, F, J, L, M e Z, de grupos sangüneos e para os sistemas Al, CA, Hb e Tf, de polimorfismos bioquímicos. Nos sistemas A, C e S, nos quais não foi possível identificar os genótipos dos animais amostrados, as freqüências alélicas não foram calculadas. Nesses sistemas serão descritos os alelos que foram identificados nas análises das famílias.

Nos sistemas controlados por dois ou mais alelos codominantes (Al, CA, Hb e Tf) as freqüências alélicas foram estimadas pelo método de contagem direta do número de alelos na amostra, que fornece uma estimativa de verossimilhança máxima. Para dois alelos, as freqüências são estimadas por

$$p = (2A+H)/2N \quad \text{e} \quad q = (2B+H)/2N$$

onde, A : nº de indivíduos homocigotos do alelo A;

B : nº de indivíduos homocigotos do alelo B;

H : nº de indivíduos heterocigotos;

N : total de indivíduos, e

$$s_p = s_q = (pq/2N)^{1/2}$$

sendo também uma estimativa de verossimilhança máxima do desvio padrão das estimativas de freqüência alélica (cf. LI, 1976, p. 16). Para os sistemas com mais de dois alelos codominantes, as estimativas das freqüências alélicas foram feitas pelo mesmo procedimento de contagem direta do número de alelos. Nesse caso,

o desvio padrão das estimativas é dado pela variância da binomial (cf. LI, 1976, p. 85), considerando um alelo em contraposição à soma de todos os outros. A fórmula é dada por

$$s_{p_1} = (P_1(1-P_1)/2N)^{1/2}$$

onde,  $s_{p_1}$  : desvio padrão da estimativa do 1-ésimo alelo;  
 $P_1$  : frequência do 1-ésimo alelo;  
 $N$  : total de indivíduos.

Para estimar as frequências alélicas nos sistemas dominantes simples J, L, M e Z, foi empregado o método da raiz quadrada, que pressupõe a população em equilíbrio genético. Em todos esses sistemas, dois fenótipos foram observados: dominante (D) e recessivo (R). Para o sistema M, essa consideração é resultado de uma simplificação adotada nessa análise, onde apenas um fator, M', foi testado. Internacionalmente, dois fatores são reconhecidos e esse sistema não é considerado um sistema dominante simples. A estimativa da frequência alélica é dada por

$$q = (R/N)^{1/2}$$

e o desvio padrão é estimado como

$$s_q = ((1 - q^2)/4N)^{1/2}$$

(cf. LI, 1976, p. 20).

O sistema F, na população estudada, apresentou quatro alelos,  $F^{F1}$ ,  $F^{V1}$ ,  $F^{V2}$  e  $F^f$ , onde  $F^{V2}$  é recessivo com relação a  $F^{V1}$ , e  $F^f$  é recessivo com relação aos demais. Com a finalidade de se estimar as frequências alélicas foi feita uma simplificação nesse sistema, que consistiu em agrupar os fatores  $V_1$  e  $V_2$  sob um fator V genérico. Dessa forma, o método desenvolvido por Bernstein, em 1930, para o sistema ABO (cf. BEIGUELMAN, 1981, p. 250), que também assume a população em equilíbrio genético, pode

ser aplicado ao sistema F. Considerando-se:

Fenótipo	F <sub>1</sub>	V	F <sub>1</sub> V	-	Total
Nº observado	A	B	C	D	N
Freq. esperada	$p^2 + 2pr$	$q^2 + 2qr$	$2pq$	$r^2$	1

as frequências dos alelos  $F^{F_1}$ ,  $F^V$  e  $F^f$  são calculadas como:

$$p' = 1 - ((B+D)/N)^{1/2}, \quad q' = 1 - ((A+D)/N)^{1/2} \quad \text{e} \quad r' = (D/N)^{1/2},$$

respectivamente.

Essas estimativas são consideradas estimativas preliminares cuja soma raramente é igual a um. As estimativas corrigidas são então calculadas da seguinte maneira:

$$p = p'(1+d/2), \quad q = q'(1+d/2) \quad \text{e} \quad r = (r'+d/2)(1+d/2)$$

onde,  $d = 1 - (p' + q' + r')$ .

Os desvios padrões são dados por (cf. LI, 1976, p. 92),

$$s_p = ((1 - (q+r)^2)/4N)^{1/2}, \quad s_q = (1 - (p+r)^2)/4N)^{1/2} \quad \text{e} \quad s_r = ((1 - r^2)/4N)^{1/2}.$$

**Frequência dos fenogrupos do sistema B:** A frequência dos fenogrupos do sistema B na amostra casual foi estimada de acordo com o método de BRAEND (1963), com algumas modificações.

No trabalho de BRAEND (1963), a estimativa das frequências dos fenogrupos (alelos) baseia-se no método da raiz quadrada. Como existem vários alelos, o cálculo da frequência de cada alelo é feito dividindo-se a amostra em duas categorias de indivíduos - os que têm o alelo e os que não têm. Dessa forma, a frequência  $p$  do alelo em questão é dada por  $p = 1 - (\text{nº de indivíduos que não apresentam o alelo})^{1/2}$ . No presente trabalho utilizou-se o método de contagem direta dos alelos, em virtude da não ocorrência do alelo negativo na população estudada.

Esse método pressupõe que os fenogrupos da raça tenham

sido determinados. A partir do conhecimento dos fenogrupos, tenta-se determinar o genótipo de cada indivíduo da amostra. Como resultado desse procedimento, a amostra pode ser dividida em quatro classes de indivíduos:

1. Ambos os alelos determinados (homozigotos e heterozigotos).
2. Somente um alelo determinado.
3. Fenótipos que podem originar-se de mais de uma combinação de alelos conhecidos.
4. Fenótipos não classificados (ambos os alelos desconhecidos).

Para os alelos que se enquadram estritamente nas classes 1 e 2, isto é, aqueles que podem ser definitivamente estabelecidos em todos os animais, a frequência é calculada diretamente.

Para os alelos que se enquadram na classe 3 e na parte indeterminada da classe 2, a contagem do número de indivíduos que possuem o alelo não pode ser feita diretamente, pois alguns alelos não estão determinados em indivíduos dessas categorias. Essa indeterminação ocorre em três casos:

- a) fenótipos onde um alelo é conhecido e está mascarando outros alelos a serem determinados (classe 2).
- b) fenótipos onde um alelo é conhecido e pode estar mascarando ele próprio ou outros a serem determinados (classe 2).
- c) fenótipos onde nenhum dos alelos está determinado e que comportam mais de uma combinação de dois alelos (classe 3).

Nos casos a e b, a determinação de um dado alelo, em conjunto com os demais envolvidos, é feita distribuindo-se, proporcionalmente, o número de indivíduos aos alelos envolvidos, de acordo com suas frequências relativas estimadas por contagem

direta nas classes 1 e 2. Em outras palavras, a frequência relativa dos alelos nas classes 1 e 2, onde eles poderiam ser efetivamente contados, servia como base para se inferir a proporção de suas ocorrências nos casos em que estavam indeterminados. No método citado, o autor utiliza apenas a classe 1 como referencial para a estimativa preliminar das frequências dos alelos a serem determinados. No presente trabalho utilizou-se a classe 1 e a classe 2 por duas razões. Em primeiro lugar, esse expediente proporcionou uma amostra maior para a estimativa preliminar das frequências. Em segundo lugar, na amostra estudada, alguns alelos apareceram apenas em indivíduos da classe 2 e, se esse expediente não fosse adotado, não seria possível estimar-se suas frequências.

No caso c, tendo em vista um fenótipo que mascarava vários alelos a serem determinados, identificavam-se os alelos envolvidos, tomavam-se suas frequências na classe 1 e 2 e encontravam-se as frequências dos genótipos possíveis, esperadas sob a suposição de equilíbrio genético. A partir dessas frequências esperadas dos genótipos, encontravam-se as frequências relativas para se distribuir, proporcionalmente, o número de indivíduos aos alelos envolvidos.

Há ainda um outro caso na classe 2, que são aqueles fenótipos em que um alelo é determinado e outro é desconhecido. Nesse caso, o número de indivíduos é colocado na classe 4, sob a condição de serem heterozigotos.

Tendo-se todos os alelos alocados ao conjunto de indivíduos das classes 1, 2 e 3, as frequências alélicas são estimadas. A frequência do alelo  $B^D$ , se for detectado na

população, é obtida tomando-se a raiz quadrada da frequência de animais negativos nesse sistema.

Os indivíduos da classe 4, mais aqueles que possuem o alelo desconhecido na classe 2, são utilizados para se estimar a frequência dos alelos desconhecidos ou indeterminados.

**Testes de equilíbrio genético:** A hipótese de equilíbrio genético foi testada no sistema F e nos sistemas codominantes (Al, CA, HD e Tf).

No sistema F o teste de equilíbrio foi feito pela avaliação do desvio ( $d$ ) da soma das frequências alélicas não corrigidas com relação à unidade. A investigação do equilíbrio foi feita por meio de um teste de qui-quadrado adotando-se o nível de significância de 5%, sob a hipótese nula de que  $d = 0$  (cf. BEIGUELMAN, 1981, p. 250). Tal qui-quadrado tem apenas 1 grau de liberdade, ou seja, 4 classes fenotípicas menos 1 do tamanho da amostra e menos 2 das frequências de dois alelos, e é estimado como  $2N(1 + r'/p'q')d^2$ .

Nos sistemas codominantes, as frequências alélicas foram utilizadas para se calcular as frequências genotípicas esperadas sob a hipótese de equilíbrio genético. A magnitude dos desvios entre as distribuições genotípicas observada e esperada foi verificada por um teste de qui-quadrado de aderência, com nível de significância de 5%. Os graus de liberdade foram calculados como o número de classes fenotípicas menos o número de alelos, o que representa, na verdade, o número de classes fenotípicas menos 1 e menos o número de parâmetros funcionalmente independentes ( $k-1-s$ ). No caso de frequências

alélicas, o número de parâmetros funcionalmente independentes é igual ao número de alelos menos 1, pois a soma de todas as frequências é igual à unidade (cf. ELANDT-JOHNSON, 1971, p. 359 e 375).

Nos sistemas dominantes simples, as frequências alélicas foram estimadas sob a suposição de equilíbrio genético e, portanto, não podem ser utilizadas para o teste de equilíbrio. Posto de outra forma, não há graus de liberdade suficientes para tal (duas classes fenotípicas menos um grau de liberdade da amostra e menos um grau de liberdade da frequência de um alelo).

Para o sistema B não foi feito teste de equilíbrio genético.

**Coefficiente de heterozigosidade:** O coeficiente de heterozigosidade foi calculado por loco, para todos os sistemas em que se estimaram as frequências alélicas, da seguinte forma (cf. FERGUSON, 1980, p. 163):

$$H = 1 - \sum p_1^2$$

onde  $p_1$  é a frequência do 1-ésimo alelo do loco.

O coeficiente de heterozigosidade média por loco foi calculado com relação aos dez sistemas. A heterozigosidade média (H) é a soma dos H de cada loco, dividida pelo número total de locos examinados.

**Comparação dos grupos de leite e de corte:** Os grupos de leite e de corte foram comparados quanto aos diversos dados obtidos. Testes estatísticos foram aplicados em algumas comparações para avaliar se as diferenças entre os dois grupos foram

significativas. Em todos os testes adotou-se o nível de significância de 5%.

A comparação quanto ao número médio de fatores sanguíneos foi feita por meio de um teste *t* de comparação entre duas médias, com número desigual de observações (cf. BEIGUELMAN, 1988, p. 141 a 148). A hipótese nula foi a de que as duas médias, em cada comparação, procediam de uma mesma população, ou seja, eram iguais.

A diferença das frequências dos fatores sanguíneos entre os dois grupos foi avaliada individualmente para cada fator por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade (ou de heterogeneidade), com 1 grau de liberdade. O número de graus de liberdade foi calculado como  $(m-1)(k-1)$ , onde *m* é o número de populações e *k* é o número de classes (cf. ELANDT-JOHNSON, 1971, p. 362). Para cada fator comparado os animais foram agrupados em duas classes, os que apresentaram o fator e os que não apresentaram. A hipótese nula foi a que os dois grupos são homogêneos com respeito a cada fator comparado. Nas comparações em que um dos números observados foi igual a zero, não foram feitos testes estatísticos. Nos casos em que o valor de qui-quadrado obtido foi maior do que o valor crítico, aplicou-se a correção de continuidade, ou correção de Yates, para se evitar conclusões erradas (cf. BEIGUELMAN, 1981, p. 192). O teste de qui-quadrado de homogeneidade para *m* populações classificadas em *k* classes diferentes e o teste de qui-quadrado de associação em tabelas de contingência  $m \times k$ , são idênticos (cf. ELANDT-JOHNSON, 1971, p. 366).

Nenhum teste foi feito para avaliar as diferenças nas

freqüências alélicas no sistema B.

Nos sistemas F, J, L, M e Z as diferenças nas freqüências alélicas entre os dois grupos não foram avaliadas diretamente. Essa diferença foi verificada indiretamente através da comparação das distribuições fenotípicas entre os grupos, por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade. Os valores esperados em cada classe fenotípica foram calculados sob a suposição de equilíbrio genético, pela estimativa de freqüências alélicas médias na amostra total, isto é, desconsiderando-se a divisão entre os grupos. O número de graus de liberdade foi calculado como  $m(k-1)-s$ , onde  $m$  é o número de populações,  $k$  é o número de classes fenotípicas e  $s$  é o número de parâmetros funcionalmente independentes.

Nos sistemas codominantes com dois alelos (Hb e CA), as diferenças nas freqüências alélicas entre os dois grupos foram avaliadas por um teste de qui-quadrado idealizado por Snedecor e Irwin (cf. SNEDECOR & COCHRAN, 1973, p. 240), denominado teste de variância para homogeneidade da distribuição binomial. Nesse caso, o espaço amostral é constituído pelo número de genes e não pelo número de indivíduos. O teste de qui-quadrado teve 1 grau de liberdade, calculado da mesma forma que para uma tabela de contingência  $m \times k$ , que seria  $(m-1)(k-1)$ .

Nos sistemas codominantes com mais de dois alelos (Al e Tf), a comparação das freqüências alélicas entre os dois grupos não foi feita diretamente. Isso foi feito indiretamente através da comparação das freqüências genotípicas dos dois grupos, por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade, com

$m(k-1)$ -s graus de liberdade. Os valores esperados de cada classe genotípica foram calculados, sob a suposição de equilíbrio, pela estimativa de frequências alélicas médias na amostra total.

**Considerações sobre os testes de qui-quadrado:** Em qualquer tipo de teste em que se utiliza a distribuição qui-quadrado é recomendado que a amostra seja suficientemente grande para que o número esperado de observações em cada classe seja maior do que 3 (cf. ELANDT-JOHNSON, 1971, p. 354). Em algumas comparações, entretanto, houve classes em que o número esperado foi menor que 3, o que será mencionado.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos grupos de leite e de corte são apresentados em conjunto, considerando-se inicialmente os grupos sanguíneos e depois os polimorfismos bioquímicos. Como um dos objetivos desse trabalho é verificar se existem diferenças entre esses dois grupos, a apresentação dos resultados é geralmente acompanhada da comparação das diferenças entre eles. Na apresentação de alguns resultados, são feitas considerações sobre a raça Gir como um todo. No final deste capítulo é feita uma avaliação global das diferenças existentes entre os dois grupos e a apresentação dos dados para a raça Gir como um todo, bem como as considerações sobre coeficiente de heterozigossidade.

##### 4.1. Grupos sanguíneos

As seguintes análises envolvendo os grupos sanguíneos foram feitas:

- a) cálculo do número médio de fatores testados;
- b) cálculo das frequências dos fatores testados;
- c) determinação dos fenogrupos dos sistemas A, B, C e S;
- d) cálculo das frequências alélicas dos sistemas B, F, J, L, M e Z;
- e) teste de equilíbrio genético quanto ao sistema F.

No geral, os 922 animais da amostra casual e mais os 358 da amostra familiar foram testados para 33 fatores relativos a 9 sistemas de grupos sanguíneos, que estão apresentados na TAB. 6. Entretanto, os reagentes para os fatores B<sub>1</sub>, O<sub>1</sub>, D',

I', J' e L não foram utilizados em alguns testes, porque seus estoques terminaram e não foram repostos imediatamente. Assim, as análises envolvendo esses fatores foram feitas com um número menor de animais, os quais foram, entretanto, incluídos nas demais análises.

#### 4.1.1. Número médio de fatores sanguíneos

A contagem do número de fatores apresentados por cada animal foi feita para o sistema B separadamente, para os oito sistemas restantes e para todos os sistemas em conjunto. As médias e erros padrão estão apresentados na TAB. 7. Para essa estimativa foram considerados apenas os animais tipados para todos os 33 fatores, o que totalizou 765 animais, sendo 424 no grupo de leite e 341 no grupo de corte. Foi feita a contagem separada para o sistema B em virtude deste sistema ser o mais complexo e que envolveu praticamente a metade dos fatores testados nesse trabalho (17 dos 33). O dado individual desse sistema pode indicar, de forma mais direta, possíveis diferenças entre os dois grupos.

TABELA 7. Número médio de fatores sanguíneos nos dois grupos da raça Gir.

Sistema	Leite (n=424) X ± ep	Corte (n=341) X ± ep	Diferença <sup>1</sup>
B (17) <sup>2</sup>	6,700 ± 0,095	7,449 ± 0,125	significativa
Todos - B (16)	7,858 ± 0,067	7,974 ± 0,081	n-significativa
Todos (33)	14,559 ± 0,116	15,422 ± 0,153	significativa

1: nível de significância de 5%.

2: entre parênteses está indicado o número de fatores testados.

As diferenças entre os grupos foi avaliada por meio do teste  $t$  de Student para comparação de duas médias. A comparação preliminar das variâncias através do teste F da razão de variâncias, mostrou que nas três estimativas as variâncias dos dois grupos diferiram entre si. Apesar disso, as médias foram também comparadas e a significância das diferenças está mostrada na TAB. 7.

Essa análise mostrou que existe uma diferença significativa entre os animais do grupo de leite e do grupo de corte quanto ao número de fatores sanguíneos. Além disso, essa diferença, vista no total de fatores, parece ser um reflexo da diferença existente no sistema B em particular, onde o mesmo efeito foi verificado, ao contrário dos demais sistemas, em que a diferença não foi significativa.

Tratando-se dessa estimativa, seja para o sistema B individualmente ou para todos os sistemas em conjunto, há que se considerar, entretanto, que, em sua natureza, o número médio de fatores não tem um valor em si mesmo. O seu valor é, em grande parte, apenas comparativo, pois depende de se considerar os mesmos fatores ou um número semelhante de fatores testados ao se comparar com resultados de outros estudos. Neste caso, porém, os dois grupos foram testados quanto aos mesmos fatores e as diferenças observadas entre eles podem ter algum significado.

Com relação ao sistema B, o grupo de corte apresentou maior número de fatores, o que indica que os fenogrupos exibidos por esse grupo possuem, em média, mais fatores do que os fenogrupos do grupo de leite. No conjunto dos oito sistemas restantes não houve diferença significativa. No geral, portanto,

o número médio de fatores apresentados pelo grupo de corte foi maior do que o do grupo de leite.

BRAEND (1979) publicou dados sobre número médio de fatores, comparando raças zebuínas e africanas (da Nigéria) e raças taurinas, utilizando reagentes para 37 fatores. Verificando-se os reagentes utilizados tem-se que, com relação ao presente trabalho, houve uma concordância de 22 fatores e uma discrepância de 26 fatores, 15 para mais e 11 para menos. Apesar de ter observado diferenças quanto ao número médio de fatores entre os três grupos de raças, essas diferenças manifestaram-se apenas no total de fatores e não no sistema B, ao contrário do que se verificou no presente trabalho. Na verdade, houve diferenças quanto ao sistema B, porém, sem nenhuma tendência entre os três grupos de raças. Apesar de o autor ter estudado um número menor de animais em cada raça (cerca de 40), um número razoável de raças foi incluído (12), o que dá valor aos seus dados. Em sendo assim, e tendo em vista que no presente trabalho não se trata de raças diferentes, mas apenas de dois grupos dentro de uma mesma raça, as diferenças observadas no sistema B devem ser encaradas com certo cuidado.

A comparação do número médio de fatores com dados da literatura é dificultada pela diferença no número e especificidade dos reagentes utilizados nos vários trabalhos. BRAEND (1979) e FIORENTINI et al. (1980), testando praticamente os mesmos fatores, forneceram evidências de que raças zebuínas (criadas na África) possuem um número médio de fatores maior do que as raças taurinas. No primeiro trabalho, médias de 20,4, 16,6

e 13,4 foram obtidas para as raças zebuínas, africanas e taurinas, respectivamente. BICALHO (1985) verificou uma média de 13,8 fatores na raça taurina Caracu, criada no Brasil, testando para 38 fatores e concluiu que, com respeito a essa característica, a raça Caracu posicionava-se como as raças taurinas e diferentemente das raças africanas e zebuínas. No presente trabalho foram estudados 33 dos 38 fatores mencionados por BICALHO (1985) e o valor obtido para a raça Gir foi 14,6 e 15,4 nos grupos de leite e corte, respectivamente. A diferença no número de fatores estudados dificulta as comparações. No entanto, apesar do menor número de reagentes testados, a raça Gir apresentou, na média, um número médio de fatores maior do que as raças taurinas mencionadas nesses três trabalhos, indicando que deve realmente apresentar um número maior do que as raças taurinas. Esse fato tem sido empiricamente observado nas leituras de testes de tipagem sanguínea de rotina feitas no Laboratório de Imunogenética, quando se tem que ler e anotar muito mais reações positivas para raças zebuínas do que para as taurinas. Essa mesma diferença no número de reagentes testados, por outro lado, não parece ser capaz de posicionar a raça Gir próxima à média relatada na literatura para raças zebuínas (20,4).

#### **4.1.2. Frequências dos fatores sanguíneos**

As frequências estimadas dos 33 fatores sanguíneos testados nos grupos de leite e de corte estão mostradas na TAB. 8, separadas por sistema. A diferença entre os dois grupos foi avaliada por um teste de qui-quadrado de associação, com um grau de liberdade, em tabelas 2 x 2. Para cada fator comparou-se o

número de animais positivos e negativos nos dois grupos. Com relação aos fatores  $V_1$  e Z, não foi feita nenhuma comparação, porque a frequência de  $V_1$  foi nula no grupo de corte e o número de animais Z-negativos foi menor do que 3 no grupo de leite, não comportando, portanto, esse tipo de teste.

Os testes estatísticos indicam que 17 dentre os 31 fatores comparados apresentaram diferenças significativas entre os grupos de leite e de corte, sendo indicado na tabela o grupo que apresentou maior frequência. A maior parte destes (12 contra 5) foi mais frequente no grupo de corte, o que era de certa forma esperado, pois este grupo apresentou maior número médio de fatores. A ocorrência dessas diferenças indicou que tais fatores não se distribuíram independentemente nos dois grupos, mas que mostraram algum tipo de associação com um dos dois. Em outras palavras, a ocorrência desses fatores foi estatisticamente diferente entre os dois grupos. Para 14 fatores, as diferenças não foram significativas.

Com relação aos sistemas A, C e S, onde não foi possível calcular frequências gênicas, as frequências dos fatores apresentadas na TAB. 8 são as únicas estimativas feitas.

No sistema A, o fator  $A_1$  mostrou-se mais frequente no grupo de leite, enquanto que os fatores H e Z' não apresentaram diferenças entre os dois grupos. Considerando os dois grupos em conjunto, sobressaem as altas frequências dos fatores  $A_1$  e H (acima de 87%) e de Z' (em torno de 35%). Nas raças taurinas esses três fatores aparecem em frequências menores, sendo que Z' tem sido observado somente em raças do sul da Europa (HAENLEIN *et al.*

1980), mas em baixa frequência. No grupo de leite não foi observado nenhum animal negativo para os três fatores do sistema A, enquanto que no grupo de corte esse fenótipo foi observado.

TABELA 8. Frequência dos fatores sanguíneos nos dois grupos da raça Gir.

Fator	Leite <sup>1</sup>	Corte <sup>2</sup>	Freq. Maior <sup>3</sup>	Fator	Leite	Corte	Freq. Maior
A <sub>1</sub>	0.935	0.886	leite	R <sub>1</sub>	0.282	0.361	corte
H	0.903	0.870	dns	W	0.568	0.686	corte
Z'	0.385	0.332	dns	X <sub>1</sub>	0.918	0.908	dns
B <sub>1</sub>	0.710	0.718	dns	F <sub>1</sub>	0.914	0.944	dns
G <sub>2</sub>	0.341	0.527	corte	V <sub>1</sub>	0.035	zero	-
I <sub>1</sub>	0.469	0.455	dns	V <sub>2</sub>	0.128	0.072	leite
K	0.057	0.334	corte	J	0.255	0.170	leite
O <sub>1</sub>	0.416	0.523	corte	L	0.718	0.787	corte
Q	0.509	0.498	dns	M'	0.179	0.161	dns
T <sub>1</sub>	0.339	0.204	leite	U <sub>1</sub>	0.177	0.195	corte
Y <sub>2</sub>	0.726	0.731	dns	U'	0.185	0.334	corte
B'	0.579	0.554	dns	H''	0.297	0.256	dns
D'	0.180	0.335	corte	Z	0.998	0.991	-
E' <sub>2</sub>	0.516	0.498	dns				
I' <sub>2</sub>	0.142	0.211	corte				
J'	0.098	0.204	corte				
O'	0.152	0.291	corte				
P'	0.610	0.462	leite				
Q'	0.655	0.641	dns				
B''	0.238	0.240	dns				

1: n=475, exceto para os fatores B<sub>1</sub>, O<sub>1</sub>, D', I', J' e L, cujos números foram 427, 464, 433, 430, 470 e 457, respectivamente; 2: n=446, exceto para os fatores B<sub>1</sub>, O<sub>1</sub>, D' e I', cujos números foram 341, 382, 382 e 341, respectivamente; 3: nível de significância de 5%; dns: diferença não significativa; -: diferença não foi testada.

No sistema B, os fatores G<sub>2</sub>, K, O<sub>1</sub>, D', I', J' e O' mostraram-se mais frequentes no grupo de corte, enquanto que T<sub>1</sub> e P' foram mais frequentes no grupo de leite. Os demais fatores (B<sub>1</sub>, I<sub>1</sub>, Q, Y<sub>2</sub>, B', E'<sub>2</sub>, Q', e B'') não foram diferentes entre os dois grupos. Vistos no conjunto, os fatores mais frequentes foram B<sub>1</sub> e Y<sub>2</sub> e os menos frequentes foram I', J' e B''. Os fatores D' e

O' também foram pouco frequentes, mas apenas no grupo de leite. Não foi observado nenhum animal negativo para todos os fatores desse sistema.

No sistema C, os fatores  $R_1$  e W foram mais frequentes no grupo de leite e o fator  $X_1$  não mostrou diferença. Na média, o fator  $R_1$  apareceu com frequência moderada (32,0%), W com frequência alta (62,5%) e  $X_1$  com frequência muito alta (91,3%). A alta frequência de  $X_1$  já havia sido observada em outras raças zebuínas, tais como a Nelore (SUZUKI & AMANO, 1973; MILLER et al., 1986) e Guzerá (PENEDO, 1981), criadas no Brasil e, Zebu da Nigéria (BRAEND, 1979) e do leste africano (FIORENTINI et al., 1980). Nas raças zebuínas da Somália, DI STASIO et al. (1980) encontraram frequências menores para  $X_1$  (51,7%). Em 50 animais da raça Gir, MILLER et al. (1986) observaram que todos foram positivos para  $X_1$ , mas reconheceram que a hipótese de fixação desse fator na raça Gir deveria ser comprovada por estudos adicionais. Os dados do presente trabalho mostram que a suposta fixação foi devido a um problema de amostragem e da baixa ocorrência de animais negativos para  $X_1$ . É interessante notar que todos os 56 bisões (*Bison bison*), estudados por STORMONT et al. (1961b), apresentaram o fator  $X_1$  quando testados com reagente de bovinos. Entre as raças taurinas a tendência é de os fatores  $R_1$  e  $X_1$  apresentarem-se em frequências baixas (até 30%) e do fator W apresentar-se em frequências mais altas (maior que 50%), diferente do que está sendo mostrado pela raça Gir e por outras raças zebuínas.

No sistema F, o fator  $V_2$  foi mais frequente no grupo de

leite e  $F_1$  não mostrou diferença. Para  $V_1$  não foi feito teste estatístico, porém, observa-se que em 475 animais do grupo de leite, a frequência foi igual a 0.035 enquanto que em 446 animais do grupo de corte, nenhum apresentou este fator. A não ocorrência do fator  $V_1$  na raça Gir criada para corte deverá ser comprovada por estudos posteriores. Caso isso se verifique, será também interessante discutir a ocorrência de  $V_1$  no grupo de leite. Outros comentários a respeito desse sistema serão feitos no tópico de frequências alélicas, comparando-se com os dados da literatura.

Nos sistemas com apenas um fator (J, L e Z), tem-se que os fatores J e Z foram mais frequentes no grupo de leite e L, no grupo de corte. Para o fator Z, contudo, não foi feito teste estatístico. No sistema M (aqui simplificado, com apenas um fator) não houve diferença quanto à ocorrência do fator M'. Deve ser ressaltada a alta frequência do fator Z, pois em 921 animais tipados, apenas 5 foram negativos para Z, o que dá na média, uma frequência de 99,5%. Esse dado concorda com os de SUZUKI & AMANO (1973) e MILLER *et al.* (1986), que, estudando um número pequeno de animais da raça Gir (16 e 50, respectivamente), reportaram frequência de 100% para Z, e com os de BRAEND (1979), com Zebu da Nigéria, e de DI STASIO *et al.* (1980), com Zebu da Somália, que também encontraram valores acima de 90%. No Zebu do leste africano, porém, a frequência de Z foi um pouco menor, 76% (FIORENTINI *et al.*, 1980). Outras comparações com dados da literatura serão feitas na discussão sobre frequências alélicas.

No sistema S, os fatores  $U_1$  e  $U'$  foram mais frequentes no grupo de corte e  $H''$  não mostrou diferença. Esses três fatores

ocorreram com frequências moderadas nos dois grupos, concordando com os dados de PENEDO (1981), na raça Guzerá, de BRAEND (1979), no Zebu da Nigéria e de FIORENTINI et al. (1980), no Zebu do leste africano. Nesses trabalhos, porém, não foram testados os três fatores juntos.

Tendo-se uma visão global das frequências dos 33 fatores nos dois grupos, nota-se a tendência de que as maiores frequências em um grupo sejam, também, as maiores frequências no outro grupo e vice-versa. Uma medida grosseira dessa relação é dada pelo coeficiente de correlação entre as frequências dos dois grupos. Essa estimativa dá um valor de  $r=0.9472$ , que é bem próximo de 1 ( $t=16.447$ ; 32 G.L.;  $P < 0.0001$ ).

A exceção do sistema B, onde comentou-se a respeito, nos demais sistemas com mais de um fator, foram observados animais negativos para todos os fatores testados.

#### 4.1.3. Determinação dos fenogrupos dos sistemas A, B, C e S

Os sistemas A, B, C e S apresentam todos, mais de um fator sanguíneo, os quais, de acordo com os reagentes utilizados no presente trabalho, foram em número de 3, 17, 3 e 3, respectivamente. Nesse caso, é interessante identificar-se os fenogrupos (alelos) que estão segregando nesses sistemas. Particularmente com relação ao sistema B, devido à sua complexidade, a identificação dos fenogrupos revela dados informativos para comparação entre as populações. Apesar de o sistema F também apresentar três fatores, ele não foi incluído nesse tópico porque suas frequências alélicas, melhor

compreendidas, serão tratadas posteriormente.

A determinação dos fenogrupos foi feita, no caso do sistema B, quase que exclusivamente pela análise de famílias de touros, enquanto que para os outros sistemas, a observação da ocorrência serológica teve um papel mais importante. No caso dos sistemas A, C e S, as considerações serão feitas, em geral, para os dois grupos em conjunto.

Nas considerações sobre a ocorrência de um alelo negativo, isto é, aquele que em um dado sistema não apresenta nenhum dos fatores testados, não se deve perder de vista que esse alelo reúne todos aqueles cujos fatores não estão sendo testados no presente trabalho.

Os dados são apresentados primeiro para os sistemas A, C e S e, por último, para o sistema B.

#### Sistema A

A identificação dos fenogrupos do sistema A foi dificultada pela alta frequência dos fatores  $A_1$  e H e, pela raridade de animais negativos, o que fez com que a grande maioria das famílias analisadas não fosse informativa. Além disso, a sobreposição de fatores que existe entre os alelos impossibilitou a determinação dos genótipos na amostra casual e, por essa razão, as frequências dos alelos do sistema A não foram estimadas.

Analisando-se a ocorrência serológica e a segregação dos três fatores em famílias, foi possível identificar-se, com certeza, a existência de seis fenogrupos: "-",  $A_1$ , H, Z',  $A_1H$  e  $A_1Z'$ . Com relação aos outros dois fenótipos ( $A_1HZ'$  e  $HZ'$ ), não se pode concluir sobre a existência de fenogrupos equivalentes,

apenas pode-se notar que o primeiro fenótipo é muito freqüente e o segundo, bastante raro (em 0,76% dos animais). Entre as famílias analisadas, não houve nenhum acasalamento do tipo  $A_1HZ'$  x  $---$  ou  $HZ'$  x  $---$ , que permitisse a definição desses fenogrupos.

Animais com fenótipo "-", isto é, negativos para todos os fatores, foram observados apenas no grupo de corte, em número de 13 (2,92%), o que demonstra a ocorrência do fenogrupo "-" nesse grupo. Assumindo-se que a população esteja em equilíbrio genético, o cálculo da freqüência desse alelo, pelo método da raiz quadrada, dá um valor de 0,1707. Entre 238 descendentes do grupo de leite e 120 do grupo de corte da amostra familiar, não foi observado nenhum animal com o fenótipo "-". A não observação desse fenótipo no grupo de leite sugere a inexistência do alelo negativo nesse grupo, o que deverá ser comprovado pela análise de um número maior de animais.

Os dados sobre os fenogrupos do sistema A são mostrados na TAB. 9 junto com os sistemas C e S.

### Sistema C

Da mesma forma que no sistema A, também no sistema C foi difícil identificar-se os fenogrupos e impossível determinar-se os genótipos dos animais da amostra casual. Por essa razão, as freqüências dos alelos não foram estimadas.

Dos oito fenótipos possíveis no sistema C, não foram encontrados o fenótipo "-", no grupo de corte, e os fenótipos  $R_1$  e  $R_1X_1$ , em nenhum dos grupos, considerando-se a amostra casual e a familiar. A observação dos fenótipos e a análise das famílias

levaram a identificação dos seguintes fenogrupos: "--", W, X<sub>1</sub>, WX<sub>1</sub> e R<sub>1</sub>W. Com relação ao fenótipo R<sub>1</sub>WX<sub>1</sub>, bastante freqüente, não foi possível concluir sobre a existência do fenogrupos correspondente, pois não houve nenhuma família do tipo R<sub>1</sub>WX<sub>1</sub> x --, tal que a segregação dos fatores pudesse ser verificada.

A ausência de fenótipos R<sub>1</sub> e R<sub>1</sub>W não é uma comprovação da inexistência dos alelos correspondentes. No entanto, em 50 famílias do tipo R<sub>1</sub>WX<sub>1</sub> x X<sub>1</sub>, apareceram apenas filhos com fenótipos R<sub>1</sub>WX<sub>1</sub>, WX<sub>1</sub> e X<sub>1</sub>. Ou seja, nunca R<sub>1</sub> apareceu sem W<sub>1</sub>, o que é um indicio de que os fenogrupos R<sub>1</sub> e R<sub>1</sub>X<sub>1</sub> não existem ou existem em baixíssima freqüência.

O fenótipo negativo foi observado apenas no grupo de leite, com freqüência de 0,84%. Assumindo-se que a população esteja em equilíbrio genético, o cálculo da freqüência do alelo "--", pelo método da raiz quadrada, dá um valor de 0,0917. A não ocorrência desse alelo no grupo de corte deverá ser comprovada pela análise de um número maior de animais.

Os dados sobre os fenogrupos do sistema C estão mostrados na TAB. 9, junto com os sistemas A e S.

#### Sistema S

No sistema S, todos os fenótipos foram observados: "--", U<sub>1</sub>, U', H", U<sub>1</sub>U', U<sub>1</sub>H" e U'H". Com referência ao fenótipo U<sub>1</sub>U' sabe-se que ele representa o genótipo U<sub>1</sub>/U', pela relação de subtipo não linear que existe entre esses fatores, com respeito a U<sub>2</sub>.

Nesse sistema foi possível identificar-se os fenogrupos "--", U<sub>1</sub>, U', H" e U<sub>1</sub>H". Com relação ao fenótipo U'H", não foi

possível concluir-se sobre a existência do fenogruppo correspondente. Na verdade, há indícios de que ele não ocorre, pois em todas as famílias do tipo U'H" x -/-, que foram apenas nove, os dois fatores foram transmitidos separadamente e nunca em conjunto. Além desses nove animais das famílias, outros 25, em 921, apresentaram fenótipo U'H" na amostra casual.

TABELA 9. Informações sobre os fenogruppos dos sistemas A, C e S nos dois grupos da raça Gir.

Sistema	Fenogruppo Observado	Fenogruppo indefinido	Fenogruppo <sup>1</sup> N-observado	Frequência de "-"
A	leite A <sub>1</sub> , H, Z', A <sub>1</sub> H e A <sub>1</sub> Z'	A <sub>1</sub> HZ' e HZ'	"-"	zero
	corde "-", A <sub>1</sub> , H, A <sub>1</sub> H, A <sub>1</sub> Z' e Z'	A <sub>1</sub> HZ' e HZ'	nd <sup>2</sup>	0,1707
C	leite "-", W, X <sub>1</sub> , WX <sub>1</sub> e R <sub>1</sub> W	R <sub>1</sub> WX <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> e R <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	0,0917
	corde W, X <sub>1</sub> , WX <sub>1</sub> e R <sub>1</sub> W	R <sub>1</sub> WX <sub>1</sub>	"-", R <sub>1</sub> e R <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	zero
S	leite "-", U <sub>1</sub> , U', H" e U <sub>1</sub> H"	nd	U'H"	0,6512
	corde "-", U <sub>1</sub> , U', H" e U <sub>1</sub> H"	nd	U'H"	0,6137

1: ver texto para maiores explicações.

2: nd = nada a declarar.

Nesse sistema, a frequência do alelo negativo é alta, sendo 0,6512 e 0,6137, nos grupos de leite e de corde, respectivamente. Tais frequências foram calculadas sob a suposição de equilíbrio genético, pelo método da raiz quadrada, e não são muito diferentes entre os dois grupos. Devido a

sobreposição de alguns fenogrupos, não foi possível determinar-se o genótipo dos animais da amostra casual e, portanto, as frequências dos outros fenogrupos não puderam ser estimadas.

Os dados sobre os fenogrupos do sistema S estão sumarizados na TAB. 9, junto com os sistemas A e C.

### **Sistema B**

A determinação dos fenogrupos do sistema B foi feita, principalmente, pela análise da segregação dos fatores em famílias poligâmicas de touros. Nessa análise os fatores do descendente foram comparados com os de sua mãe, a fim de se verificar a contribuição exclusivamente paterna. Ao longo de vários descendentes pode-se, em geral, estabelecer os alelos que o touro estava transmitindo, bem como os de algumas mães. O ideal teria sido dispor de famílias onde o touro e as mães não compartilhassem fatores no sistema B, ou mesmo tendo alguns em comum, que os fatores transmitidos ao produto estivessem presentes em um ou outro pai. Como isso quase nunca ocorreu nas famílias estudadas nesse trabalho, a alternativa foi a de trabalhar com informações parciais e sobrepostas, mas que consideradas em conjunto, pudessem, em geral, ser resolvidas.

A TAB. 10 mostra detalhes da determinação dos fenogrupos na família do touro Repolho, do grupo de leite. O ideal seria que a coluna referente à contribuição indeterminada fosse sempre vazia, porém, como mencionado anteriormente, isso quase nunca ocorreu. O acasalamento nº 5, entretanto, é um acasalamento conclusivo, porque apesar de o touro e a vaca compartilharem um fator sanguíneo, os fatores transmitidos ao

descendente são exclusivos de um ou outro genitor. Por esse acasalamento pode-se concluir que  $G_2Y_2$  é uma das combinações transmitidas pelo touro, sem nenhum dos fatores restantes Q, B' e P'. Isso é compatível e pode ser confirmado com os produtos nº 1 a 4 e 6. Por outro lado, o produto nº 12 informa que QB'P' é a outra combinação transmitida pelo touro. O fato de essa combinação não apresentar nenhum dos fatores  $G_2$  e  $Y_2$ , é demonstrado pelos produtos nº 7 a 11. Nessa família também foi possível determinar o fenótipo  $B_1D'E'_2Q'$  transmitido pela mãe no acasalamento nº 5.

TABELA 10. Determinação de fenótipos do sistema B na família do touro Repolho. Fenótipo do touro:  $G_2QY_2B'P'$ .

Nº do acasala- mento	Fenótipo do produto	----Contribuição----			Fenótipo da mãe
		Paterna	Materna	Indeterm.	
1	$G_2O_1Y_2Q'$	$G_2$	$O_1Q'$	$Y_2$	$O_1QY_2B'Q'P'$
2	$G_2O_1Y_2Q'$	$G_2$	$O_1Q'$	$Y_2$	$B_1O_1QT_1Y_2B'Q'P'$
3	$G_2O_1Y_2Q'$	$G_2$	$O_1$	$Y_2Q'$	$I_1O_1Y_2B'E'_2Q'$
4	$B_1G_2I_1Y_2$	$G_2$	$B_1I_1$	$Y_2$	$B_1I_1Y_2D'E'_2Q'$
5	$B_1G_2Y_2D'E'_2Q'$	$G_2Y_2$	$B_1D'E'_2Q'$	-	$B_1B'D'E'_2Q'$
6	$G_2Y_2$	-	-	$G_2Y_2$	$B_1G_2I_1Y_2$
7	$B_1QT_1B'P'$	-	$B_1T_1$	$QB'P'$	$B_1O_1QT_1Y_2B'P'$
8	$B_1QT_1B'P'$	-	$B_1T_1$	$QB'P'$	$B_1QT_1B'P'$
9	$B_1QT_1Y_2B'E'_2P'$	Q	$B_1T_1E'_2$	$Y_2B'P'$	$B_1T_1Y_2B'D'E'_2P'Q'$
10	$QB'P'Q'$	$B'P'$	Q'	Q	$O_1QY_2Q'$
11	$I_1QB'Q'P'B''$	QB'	$I_1Q'B''$	P'	$B_1I_1Y_2I'Q'P'B''$
12	$G_2QY_2B'P'$	QB'P'	-	$G_2Y_2$	$G_2O_1Y_2Q'$

Conclusão: genótipo do touro:  $G_2Y_2/QB'P'$

Foram estudadas 15 famílias no grupo de leite e 14 no grupo de corte, com um total de 209 e 101 descendentes, respectivamente. Esse número de descendentes não mostrou qualquer incompatibilidade genética com relação aos pais indicados nos nove sistemas de grupos sanguíneos em que foram comparados, o que

os qualificou para esse tipo de investigação. Devido à alta frequência de diversos fatores, à sobreposição de fatores de vários fenogrupos e à não ocorrência do fenótipo negativo, muitos acasalamentos não foram informativos. Essa é a razão porque foi necessário analisar-se um grande número de famílias para se determinar os fenogrupos do sistema B.

Além disso, uma pequena parte dos fenogrupos foi determinada pela observação de sua ocorrência serológica, isto é, pela observação dos fenótipos ou fórmulas sanguíneas desse sistema em animais da amostra casual. Isso envolveu, algumas vezes, a observação de uma determinada combinação de fatores que se repetiam em um conjunto de meio-irmãos (em que nem o pai ou a mãe haviam sido tipados) ou que simplesmente se repetiam em indivíduos não aparentados. Outras vezes, um fenogrupos foi determinado diretamente a partir do fenótipo de um animal. Isso ocorreu, por exemplo, para o fenótipo  $Y_2J'O'$  observado em uma vaca do grupo de leite. A esse fenótipo atribuiu-se o genótipo  $Y_2/(Y_2)J'O'$ , onde, o parênteses denota a incerteza sobre a existência do fator  $Y_2$  no segundo fenogrupos. O fenogrupos  $Y_2$  já havia sido determinado em vários indivíduos e, desse fenótipo, portanto, foi possível depreender-se a existência do fenogrupos  $(Y_2)J'O'$ .

Para a determinação dos fenogrupos do sistema B utilizaram-se apenas os animais que foram tipados para todos os 17 fatores sanguíneos desse sistema, que foram 310 descendentes das famílias e 767 animais da amostra casual.

No sistema B não foi encontrado nenhum indivíduo com

fenótipo "-", isto é, que fosse negativo para todos os 17 fatores testados. Essa observação foi feita em 1280 animais da amostra total (familiar e casual) e outros 294 animais testados pelo Laboratório de Imunogenética e não incluídos nesta pesquisa. A não ocorrência do fenótipo "-" em 1574 animais levou à suposição da inexistência do fenogruppo "-" nessa raça. Essa suposição, entretanto, não pode desconsiderar o fato de que, se esse alelo estivesse com frequência inferior a 0,025, em 1000 animais seria esperado um número menor do que um indivíduo apresentando o fenótipo negativo. Em se tratando do sistema B, frequências menores que 0,025 são comumente encontradas para vários alelos. O alelo  $B^D$  é, além do mais, mascarado por todos os outros. A inexistência do alelo  $B^D$  na raça Gir deverá ser confirmada pela análise de um número maior de indivíduos. A título de simplificação e para os propósitos dessa pesquisa, assumiu-se que sua frequência foi zero.

Na raça Gir como um todo foram identificados 54 fenogrupos do sistema B, sendo que o grupo de leite apresentou 42 deles e o grupo de corte, 41. Os fenogrupos determinados nos dois grupos estão apresentados na TAB. 11. Entre os fenogrupos relacionados, pode-se ver que nove apresentam algum fator entre parênteses. Isso significa que a presença desses fatores nos fenogrupos não foi comprovada em definitivo. Essa indefinição foi devido, em alguns casos, a problemas com reagentes e, em outros, a sobreposição de fatores observada na transmissão de pais para filhos.

Dos 54 fenogrupos, 29 estão presentes nos dois grupos, enquanto que 13 estão presentes somente no grupo de leite e 12,

somente no grupo de corte. Considerando os fenogrupos presentes em cada grupo, há uma concordância de 69,1% e uma discordância de 30,9% do grupo de leite em relação ao de corte e, uma concordância de 70,7% e uma discordância de 29,3%, do grupo de corte em relação ao de leite.

TABELA 11. Fenogrupos<sup>(1)</sup> do sistema B identificados<sup>(2)</sup> nos dois grupos da raça Gir.

Fenogrupo	Leite n=426	Corte n=341	Fenogrupo	Leite n=426	Corte n=341
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Q(P') <sup>(3)</sup>	+(4)	+	B <sub>1</sub> P'B"	+	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> QY <sub>2</sub> (P')	-	+	G <sub>2</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	+	+	G <sub>2</sub> QI'Q'B"	+	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ	-	+	G <sub>2</sub> QJ'O'(P')	+	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQJ'O'	-	+	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQO'	+	+	G <sub>2</sub> I'Q'	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ(Y <sub>2</sub> )P'	+	-	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> QE'E' <sub>2</sub> Q'	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQQ'	-	+	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> Q'	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KY <sub>2</sub> E' <sub>2</sub> O'	-	+	I <sub>1</sub> QE' <sub>2</sub> Q'	+	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	+	+	I <sub>1</sub> J'O'P'Q'B"	+	+
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> (Y <sub>2</sub> B')D'O'B"	-	+	I <sub>1</sub> P'Q'B"	+	+
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> P'Q'	+	+	O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	+	-
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	-	+	QB'P'	+	+
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	+	+	QE' <sub>2</sub>	+	+
B <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	+	+	QE' <sub>2</sub> Q'	-	+
(B <sub>1</sub> )O <sub>1</sub> P'B"	+	+	QQ'	+	-
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> B'P'	+	+	Y <sub>2</sub>	+	+
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> E' <sub>2</sub> P'	+	+	Y <sub>2</sub> B'D'	-	+
B <sub>1</sub> QO'P'B"	+	-	Y <sub>2</sub> D'I'	-	+
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> P'	+	+	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'	+	+
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> D'E' <sub>2</sub> O'	+	-	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	+	-
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	+	+	(Y <sub>2</sub> )J'O'	+	-
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'(P')	+	+	Y <sub>2</sub> I'	+	+
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> I'	+	-	Y <sub>2</sub> I'Q'	+	-
(B <sub>1</sub> )Y <sub>2</sub> O'P'B"	+	+	B'Q'	+	+
B <sub>1</sub> D'E' <sub>2</sub> Q'	+	+	I'	+	+
B <sub>1</sub> D'I'	-	+	P'B"	-	+
TOTAL:			54	42	41

1: fenogrupo "-" não foi encontrado; 2: 17 fatores foram testados; 3: fator entre parenteses não foi comprovado no fenogrupo; 4: + = presente, - = ausente.

A comparação dos fenogrupos encontrados na raça Gir com

dados da literatura é dificultada pelo fato de que, geralmente, os fatores testados variam de um trabalho para outro. Além do mais, não foi encontrado na literatura nenhum trabalho sumarizando os dados sobre fenogrupos do sistema B já conhecidos nas diversas raças. Particularmente úteis nesse aspecto foram as listas de fenogrupos publicadas por alguns laboratórios, as quais, entretanto, não fazem menção ao número de animais que permitiu a obtenção dos dados e nem ao método empregado. Nas comparações que se seguem foi utilizada, principalmente, a lista do laboratório do Texas, Estados Unidos, emitida em 27/05/85, onde constam os fenogrupos, com suas frequências, de 15 raças criadas naquele país. A lista do laboratório de Ohio, do mesmo país, foi menos utilizada porque não consta a frequência do alelo negativo. Na lista do laboratório do Texas estão relacionados 691 fenogrupos, além do fenogrupo "-". A lista de Ohio, emitida em 13/07/84, relaciona 425 fenogrupos.

Na TAB. 12 são mostrados o número de fenogrupos exibidos por algumas raças e a frequência do fenogrupo "-", segundo diversas fontes. Nessa tabela colocou-se, também, a correspondência quanto ao número e à frequência, caso tivessem sido utilizados os 17 reagentes do presente trabalho.

Observando-se a primeira parte dessa tabela, destaca-se o grande número de fenogrupos de algumas raças, particularmente no relato do laboratório do Texas, tais como 258 na Charolesa, 212 na Brahman e 169 na Holandesa. Nota-se também, a diferença no número relatado para a raça Guernsey, onde, com baterias semelhantes de reagentes, o laboratório do Texas mostra 98

TABELA 12. Número de fenogrupos e frequências do fenogrupa "-" do sistema B de grupos sanguíneos em algumas raças bovinas.

Raça	Fonte	No de Animais	No de Reagentes	No de Fenogrupos	Freq. de "-"	No de Fenogrupos	Freq. de "-"	Com reagentes do presente trabalho
Brahman (1)	1	nd	34	212	0,0002	127	0,0247	
Charolesa (2)	1	nd	34	258	0,0456	142	0,1715	
Guernsey (2)	1	nd	34	98	0,0003	73	0,0023	
Hereford (2)	1	nd	34	81	0,2458	52	0,4129	
Holandesa (2)	1	nd	34	169	0,0011	95	0,1484	
Jersey (2)	1	nd	34	113	0,0004	71	0,0037	
Suíça Parda (2)	1	nd	34	139	0,0021	79	0,0065	
Guernsey (2)	2	6082	36	67	0,0171	53	0,0221	
Sueca Verm. Branca (2)	3	630	20	23	0,3419	18	0,3419	
Polonesa Vermelha (2)	4	262	21	42	0,2000	27	0,2600	
Caracu (2)	5	289	20	23	zero	23	zero	
Gir (1)	6	767	17	54	zero	54	zero	

(1) : zebuina; (2) : taurina; nd : não declarado; Fonte: 1) lista do laboratório do Texas (27/05/85), 2) HAENLEIN et al. (1980), 3) RENDEL (1958), 4) NEIMANN-SORENSEN & SPRYSZAK (1959), 5) BICALHO (1985), 6) presente trabalho.

fenogrupos, enquanto que apenas 67 são mencionados por HAENLEIN et al. (1980). É inoportuno discutir se essas diferenças refletem um problema de amostragem ou de determinação dos fenogrupos, ou qualquer outro aspecto. Pode-se notar, também, que os trabalhos que usaram uma bateria menor de reagentes, mostraram um número pequeno de fenogrupos, tais como para as raças Caracu, Polonesa Vermelha e Sueca Vermelha e Branca. Admitindo-se um certa proporcionalidade entre número de reagentes e número de fenogrupos, esse números parecem realmente pequenos quando comparados aos de outras raças. Esses trabalhos também mostraram frequências altas para o fenogrupo "-". Se isso reflete uma homogeneidade maior dessas raças, é um aspecto discutível.

Observando-se a segunda parte dessa tabela, pode-se comparar o número de fenogrupos encontrados na raça Gir com o número das outras raças. Nenhuma constatação especial pode ser feita. Com respeito aos dados do laboratório de Texas, a raça Gir apresentou um número menor que todas as raças mencionadas. Isso pode indicar que a análise de um número maior de indivíduos, o que deve ser o caso para laboratórios do porte do laboratório do Texas, leva à identificação de novos fenogrupos nas raças. Dentro dessa linha de pensamento, vê-se que a raça Gir apresentou praticamente o mesmo número de fenogrupos quando comparada com a raça Guernsey, estudada por HAENLEIN et al. (1980), em uma amostra muito maior (6082 contra 767). Comparando-se estudos de porte semelhante, tais como com as raças Caracu, Sueca Vermelha e Branca e Polonesa Vermelha, vê-se que a raça Gir apresentou um número maior de fenogrupos, o que deve indicar uma variabilidade

maior no loco B dos zebuinos com relação aos taurinos.

A possibilidade de não ocorrência do fenogrupa "--" na raça Gir é um dado interessante. Observação idêntica foi feita no estudo de 100 zebuinos da Nigéria (BRAEND, 1979), 146 zebuinos do leste africano (FIORENTINI et al., 1980) e 50 zebuinos da raça Gir (MILLER et al., 1986). Para a raça zebuina Brahman, entretanto, esse fenogrupa consta com frequência de 0,0002 na lista do laboratório do Texas. Com relação às raças taurinas, todos os trabalhos revisados mostraram a ocorrência desse fenogrupa. Em algumas raças ele foi o mais frequente ou estava entre os mais frequentes, como por exemplo nas raças Hereford (segundo lista do laboratório do Texas), Polonesa Vermelha (NEIMANN-SORENSEN & SPRYSZAK, 1959) e Norueguesa Vermelha (BRAEND, 1975).

Com referência à frequência do alelo negativo reportada para algumas raças na lista do Texas, há, entretanto, um aspecto curioso. Para as raças Brahman, Guernsey e Jersey, tal como mostrado na TAB. 12, constam frequências da ordem de 0,0002, 0,0003 e 0,0004, respectivamente. Considerando-se que esse fenótipo manifesta-se apenas em indivíduos homocigotos do fenogrupa "--", pode-se concluir que seria esperado o aparecimento de um indivíduo em uma amostra de 10 a 100 milhões, certamente um número superior ao rebanho daquelas raças.

Algumas considerações a respeito da natureza do fenogrupa "--" devem ser feitas e essas considerações são válidas para qualquer sistema de grupos sanguíneos.

Em primeiro lugar deve-se notar que o aparecimento ou a frequência desse alelo é, em parte, dependente do número de

fatores sanguíneos testados em comparação com o que é conhecido na espécie. E devido a isso que, na TAB. 12, a frequência desse alelo aumenta quando se consideram apenas os 17 reagentes do presente trabalho. Pode-se dizer que quanto mais completa a bateria de reagentes utilizada, menor a chance de se rotular como negativo um alelo que na verdade condiciona um fator sanguíneo conhecido e não incluído no teste. Nesse raciocínio, fica fortalecida a observação da não ocorrência do alelo negativo na raça Gir, a despeito do menor número de reagentes utilizados para tipagem do sistema B no presente trabalho.

Em segundo lugar, mesmo considerando-se a ocorrência do alelo negativo em populações tipadas para todas as especificidades antigênicas conhecidas, não fica descartada a possibilidade de que novas especificidades possam ser reveladas nesses fenogrupos. É evidente que isso não significa que não possa existir um alelo negativo ou que não deva ser levada em conta a extensa investigação imunológica realizada nas várias raças bovinas.

Uma outra comparação que pode ser feita é quanto aos fenogrupos da raça Gir com relação aos de outras raças. Para isso, utilizou-se inicialmente apenas os dados das raças Brahman, Charolesa, Holandesa e Jersey da lista do laboratório do Texas, trabalhando-se, evidentemente, com os fenogrupos correspondentes aos reagentes utilizados no presente trabalho. Tal comparação pode ser vista na TAB. 13, onde estão indicados os códigos dos fenogrupos correspondentes em comum com a raça Gir, quando estes foram em número de 1 ou 2; para um número maior, indicou-se

apenas a ocorrência dos fenogrupos. Como pode ser visto, o número de fenogrupos da raça Gir em comum com outras raças é 25 com

TABELA 13. Ocorrência em outras raças dos fenogrupos da raça Gir, identificados no presente trabalho.

Fenogrupo da raça Gir	BRA CHA HOL JER				Fenogrupo da raça Gir	BRA CHA HOL JER			
	BRA	CHA	HOL	JER		BRA	CHA	HOL	JER
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Q(P')	-1	-	-	-	B <sub>1</sub> P'B"	503	-	-	-
						542			
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> QY <sub>2</sub> (P')	527	-	-	-	G <sub>2</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	552	552	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	529	529	-	-	G <sub>2</sub> QI'Q'B"	-	-	-	-
	632								
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ	-	-	-	-	G <sub>2</sub> QJ'O'(P')	-	-	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQJ'O'	256	256	-	-	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	-	550	-	-
	446						592		
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQO'	-	-	-	-	G <sub>2</sub> I'Q'	567	-	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ(Y <sub>2</sub> )P'	-	-	-	-	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> QB'E' <sub>2</sub> Q'	-	-	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQQ'	-	-	-	-	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> Q'	-	-	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KY <sub>2</sub> E' <sub>2</sub> O'	115	-	115	-	I <sub>1</sub> QE' <sub>2</sub> Q'	-	-	641	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	520	-	-	-	I <sub>1</sub> J'O'P'Q'B"	557	557	-	-
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> (Y <sub>2</sub> B')D'O'B"	-	-	-	-	I <sub>1</sub> P'Q'B"	570	-	-	-
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> P'Q'	609	-	-	-	I <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	504	-	504	-
	645								
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	-	-	-	-	QB'P'	-	-	-	-
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	-	-	-	-	QE' <sub>2</sub>	+	99	99	99
							453		
B <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	37	37	37	-	QE' <sub>2</sub> Q'	-	-	218	-
	537								
(B <sub>1</sub> )O <sub>1</sub> P'B"	-	-	-	-	QQ'	457	457	-	-
						458	458		
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> B'P'	385	385	-	-	Y <sub>2</sub>	+	+	+	+
	640								
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> E' <sub>2</sub> P'	-	601	-	-	Y <sub>2</sub> B'D'	-	-	-	-
B <sub>1</sub> QO'P'B"	517	-	-	-	Y <sub>2</sub> D'I'	81	81	81	81
							135	407	
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> P'	-	-	-	-	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'	-	-	-	-
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> D'E' <sub>2</sub> O'	-	-	-	-	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	-	-	-	-
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	+	+	268	405	(Y <sub>2</sub> )J'O'	62	62	62	62
			405	505			63	63	63
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'(P')	-	-	-	-	Y <sub>2</sub> I'	+	+	359	-
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> I'	-	-	-	-	Y <sub>2</sub> I'Q'	511	-	-	-
(B <sub>1</sub> )Y <sub>2</sub> O'P'B"	548	-	-	-	B'Q'	-	-	-	-
	594								
B <sub>1</sub> D'E' <sub>2</sub> Q'	-	-	-	-	I'	+	+	+	306
B <sub>1</sub> D'I'	-	-	-	184	P'B"	-	-	-	-

BRA: Brahman, CHA: Charolesa, HOL: Holandesa e JER: Jersey;  
 1: - = não ocorrência, + = ocorrência em mais de 2 fenogrupos ou código com que o fenogrupo ocorre em outra raça.

Brahman, 16 com Charolesa, 12 com Holandesa e 17 com Jersey. O maior número (46,3%) é compartilhado com a raça Brahman, como seria esperado, uma vez que esta é a única raça zebuina entre as quatro comparadas. Dos 54 fenogrupos da raça Gir, 24 não correspondem a nenhum dos observados nessas quatro raças. Investigando-se a lista do laboratório do Texas, vê-se que desses 24 fenogrupos, 5 aparecem relacionados. Assim,  $B_1G_2KQ$  corresponde ao B598 das raças Brangus e Longhorn Texano,  $B_1T_1Y_2B'E'_2P'$  corresponde ao B576 de Beefmaster e Santa Gertrudis,  $B_1Y_2B'$  (sem P') corresponde ao B543 de Brangus e Longhorn Texano,  $I_1O_1QB'E'_2Q'$  corresponde ao B649 de Brangus e,  $B_1Y_2I'$  corresponde ao B110, sem nenhuma raça mencionada.

A correspondência aventada entre os fenogrupos da raça Gir e outros já conhecidos em outras raças, tem um valor limitado, pois esta correspondência restringe-se aos 17 fatores considerados e, portanto, dois fenogrupos correspondentes podem não ser iguais. Esse é o caso, por exemplo, do fenogrupo  $B_1QT_1E'_2P'$  que aparece na TAB. 13 como correspondente ao B601 da raça Charolesa. No entanto, na listagem consultada, esse fenogrupo é na verdade  $B_1QT_1A'E'_2P'A''$ ; antes de testar para A' e A'' não se pode garantir que o fenogrupo da raça Gir seja idêntico ao B601. Alguns fenogrupos correspondem exatamente aos que estão codificados na listagem. São eles:  $B_1D'I'$  (B184),  $B_1P'B''$  (B503),  $G_2O_1Y_2Q'$  (B552),  $I_1QE'_1Q'$  (B641),  $I_1J'O'P'Q'B''$  (B557),  $O_1Y_2Q'$  (B8504),  $QQ'$  (B457),  $Y_1D'I'$  (B81),  $Y_2I'Q'$  (B511) e  $I'$  (B306). Qualquer correspondência deve ser vista, contudo, como algo não absoluto, pois a descoberta de novas especificidades antigênicas pode mostrar diferenças antes não reconhecidas.

MILLER et al. (1986) reportaram a ocorrência de 15 fenogrupos no sistema B da raça Gir, estudando apenas duas famílias de touros em uma amostra total de 50 animais. Os autores não mencionaram quais reagentes foram utilizados nesse estudo. Dos 15 fenogrupos reportados, apenas 14 poderiam ser identificados com a bateria de reagentes utilizada no presente trabalho. Comparando-se os fenogrupos identificados por esses autores com os da TAB. 11, nota-se um grau muito pequeno de concordância. Essa comparação está mostrada na TAB. 14. Pode ser visto que, dentre os 14 fenogrupos, apenas quatro têm equivalentes no presente estudo. Um outro,  $I_1O_1Y_2B'E'_2P'Q'$ , expressa o fator P' a mais e, BQTP' não manifesta B' ou E'\_2.

TABELA 14. Comparação dos 14 fenogrupos do sistema B da raça Gir, identificados por MILLER et al. (1986), com os do presente trabalho.

MILLER et al. (1986) <sup>1</sup>	Fenogrupos correspondentes ou semelhantes - presente trabalho
$B_1Y_2B'$ $G_2O_1Y_2Q'$ $QE'_1$ $B'Q'$	$B_1Y_2B'(P')$ $G_2O_1Y_2Q'$ $QE'_2$ $B'Q'$
$B_1G_2KO_1QY_1Q'$ $B_1QT_1P'$ $B_1QT_1B'I'$ $B_1O'P'$ $I_1O_1Y_2B'E'_2P'Q'$ $O_1P'Q'$ $QI'$ $I'Q'$	$B_1G_2KO_1Q(P')$ , $B_1G_2KO_1QY_2(P')$ , $B_1G_2KQQ'$ $B_1QT_1B'P'$ , $B_1QT_1E'_2P'$ $B_1QT_1B'P'$ $B_1QO'P'B''$ $I_1O_1Y_2B'E'_2Q'$ $(B_1)O_1P'B''$ $I'$ $I'$ , $Y_2I'$ , $Y_2I'Q'$
$B_1QY_2B'$ $B_1QP'$	nenhum nenhum

1: fenogrupos correspondentes à utilização dos 17 reagentes do presente trabalho.

Essas diferenças devem ser motivadas por problemas com reagentes ou problemas na determinação dos fenogrupos. O fenogrupo "--" também não foi encontrado por esses autores.

#### 4.1.4. Frequências alélicas nos sistemas B, F, J, L, M e Z.

As frequências alélicas foram estimadas apenas nos sistemas B, F, J, L, M e Z. Nos sistemas A, C e S essa estimativa não pode ser feita porque não foi possível determinar o genótipo de uma parte significativa da amostra.

##### Sistema B

A estimativa das frequências alélicas do sistema B é explicada com maiores detalhes.

Tendo-se determinado os 54 fenogrupos do sistema B na amostra como um todo, o primeiro passo para se estimar as frequências alélicas foi estabelecer o genótipo dos animais da amostra casual, ou seja, 426 do grupo de leite e 341 do grupo de corte. Para alguns animais a informação sobre os seus alelos adveio de descendentes, ascendentes ou irmãos. Para outros, o conhecimento dos fenogrupos da raça permitiu que o genótipo fosse parcial ou totalmente inferido a partir do fenótipo. Alguns poucos animais, entretanto, ficaram com os genótipos indeterminados, pois não foi possível nenhuma inferência.

Para o estabelecimento dos genótipos e estimativa das frequências alélicas, seguiu-se, com algumas modificações, o método de BRAEND (1963). Por esse método, o primeiro procedimento foi classificar os animais de acordo com o grau de conhecimento dos seus genótipos. A classificação da amostra estudada está

mostrada na TAB. 15, sobre a qual algumas explicações devem ser dadas. Na classe 1 todos os genótipos são conhecidos. Na classe 2 um dos alelos não foi estabelecido pela seguinte razão: porque ele podia ser mais de um entre os conhecidos ou porque era um alelo não determinado. Nessa última situação houve 12 animais no grupo de leite e 8 no grupo de corte, que correspondem ao mesmo número de alelos não determinados nessa classe. A classe 3 representou fenótipos (ou fórmulas sanguíneas) em que mais de uma combinação de dois alelos podia ser inferida. A classe 4 representou animais que não contribuíram para as estimativas das frequências, uma vez que seus genótipos não puderam ser determinados a partir dos fenótipos. Os animais dessa classe representaram 10 e 4 alelos não determinados nos grupos de leite e corte, respectivamente. Evidentemente, quanto menor o número de indivíduos na classe 4, melhores são as estimativas das frequências. Nessa primeira etapa foram determinados  $2n_1$  alelos da classe 1 e  $n_2$  alelos da classe 2. Uma contagem preliminar dos alelos foi feita entre os  $2n_1 + n_2$  alelos já determinados. Para os alelos que foram determinados em todos os indivíduos, isto é, que não foram mascarados por outros, essa contagem foi definitiva.

O objetivo seguinte foi o de se conseguir determinar o maior número possível dos  $n_2$  alelos restantes da classe 2 e dos  $2n_3$  alelos da classe 3. Isso foi feito por um processo de alocação. Para a classe 2, a alocação dos animais aos alelos que estavam mascarados em seus fenótipos foi feita proporcionalmente, com base nas frequências relativas dos alelos envolvidos. As

frequências relativas foram obtidas a partir da contagem feita na etapa anterior, isto é, nas classes 1 e 2. Para os animais da classe 3, cujos fenótipos podiam dar margem a mais de um genótipo, a distribuição dos animais pelos genótipos possíveis foi feita com base na suposição de equilíbrio genético, pelas fórmulas  $p_1^2$  e  $2p_1p_j$ , onde  $p_1$  e  $p_j$  são as frequências do 1-ésimo e do j-ésimo alelos envolvidos, respectivamente, no possível genótipo, estimadas pela contagem direta na etapa anterior.

**TABELA 15.** Distribuição da amostra de acordo com a classificação do genótipo do sistema B.

Classe	Descrição	No de animais	
		Leite	Corte
1	ambos os alelos estabelecidos	-hom: 9	5
		291	243
		-het: 282	238
2	somente um alelo estabelecido	109	90
3	mais de um genótipo possível	21	6
4	genótipo indeterminado	5	2
Total:		426	341

hom: homozigotos; het: heterozigotos.

Nesse processo de alocação trabalhou-se com números decimais e, somente no final, fez-se as aproximações para que um número inteiro de indivíduos fosse alocado a cada alelo.

Após o processo de alocação, as frequências alélicas foram estimadas. Para essa estimativa usou-se o método de contagem direta, devido à suposição de inexistência do alelo negativo, que foi comentada antes. Dos 852 alelos do grupo de leite, 851 foram contados, sendo 829 determinados e 22 não

determinados. Dos 682 alelos do grupo de corte, 681 foram contados, sendo 669 determinados e 12 não determinados. A diferença de 1 alelo no grupo de leite e no grupo de corte foi atribuída a problemas nas aproximações e foi considerada irrelevante nas estimativas obtidas.

Duas modificações foram feitas com relação ao método de BRAEND (1963). A primeira delas foi a de utilizar o método de contagem direta e não o de raiz quadrada para o cálculo das frequências dos fenogrupos. A segunda delas foi a de utilizar, para a contagem preliminar, todos os alelos determinados, isto é, tanto os da classe 1 quanto os da classe 2 e não apenas os da classe 1, conforme feito pelo autor.

As frequências dos fenogrupos do sistema B, bem como as frequências dos alelos não determinados, estão mostradas na TAB. 16 para os dois grupos estudados. Nessa tabela consta a frequência igual a zero para o fenogrupo negativo, de acordo com a suposição feita no item 4.1.3.

A comparação dos fenogrupos do sistema B encontrados nos dois grupos da raça Gir com dados da literatura foi feita no item anterior, estritamente com referência aos fenogrupos determinados. Naquele ponto foi mencionada a dificuldade de comparação com dados da literatura, devido a diferenças nos fatores testados. A discussão que se segue, a respeito das frequências dos fenogrupos, será feita apenas com o objetivo de comparar os grupos de leite e de corte.

Inspecionando-se a TAB. 16, vê-se que a ordem de frequência variou de um grupo para o outro. Tomando-se os dez fenogrupos mais frequentes nos dois grupos, tem-se a relação

apresentada na TAB. 17. A análise dessa tabela mostra que o fenogrupa mais freqüente foi o mesmo nos dois grupos ( $I_1O_1Y_2B'E'_2Q'$ ), apesar de ser quase duas vezes mais freqüente no

TABELA 16. Frequências dos fenogrupos do sistema B, nos dois grupos da raça Gir.

Fenogrupa	Leite n=426	Corte n=341	Fenogrupa	Leite n=426	Corte n=341
$B_1G_2KO_1Q(P')$	0,0129	0,0807	$B_1P'B''$	0,0070	-
$B_1G_2KO_1QY_2(P')$	-	0,0015	$G_2O_1Y_2Q'$	0,0258	0,0191
$B_1G_2KO_1Y_2$	0,0024	0,0015	$G_2QI'Q'B''$	0,0129	-
$B_1G_2KQ$	-	0,0220	$G_2QJ'O'(P')$	0,0012	-
$B_1G_2KQJ'O'$	-	0,0235	$G_2Y_2$	0,0869	0,0440
$B_1G_2KQO'$	0,0059	0,0264	$G_2I'Q'$	0,0035	0,0044
$B_1G_2KQ(Y_2)P'$	0,0012	-	$I_1O_1QB'E'_2Q'$	0,0012	0,0015
$B_1G_2KQO'$	-	0,0015	$I_1O_1Y_2B'E'_2Q'$	0,1080	0,1804
$B_1G_2KY_2E'_2O'$	-	0,0235	$I_1QE'_2Q'$	0,0458	-
$B_1G_2D'J'O'Q'B''$	0,0270	0,0719	$I_1J'O'P'Q'B''$	0,0024	0,0029
$B_1G_2(Y_2B')D'O'B''$	-	0,0044	$I_1P'Q'B''$	0,0446	0,0601
$B_1I_1O_1T_1Y_2P'Q'$	0,0070	0,0059	$O_1Y_2Q'$	0,0247	-
$B_1I_1O_1Y_2$	0,0059	0,0044	$QB'P'$	0,0411	0,0176
$B_1I_1Y_2$	0,0153	0,0088	$QE'_2$	0,0035	0,0029
$B_1O_1Y_2$	0,0282	0,0029	$QE'_2Q'$	-	0,0044
$(B_1)O_1P'B''$	0,0070	0,0015	$QQ'$	0,0094	-
$B_1QT_1B'P'$	0,1068	0,0601	$Y_2$	0,0622	0,0469
$B_1QT_1E'_2P'$	0,0470	0,0337	$Y_2B'D'$	-	0,0044
$B_1QO'P'B''$	0,0035	-	$Y_2D'I'$	-	0,0528
$B_1T_1Y_2B'E'_2P'$	0,0270	0,0015	$Y_2D'J'O'Q'$	0,0024	0,0015
$B_1T_1Y_2D'E'_2O'$	0,0070	-	$Y_2D'J'O'Q'B''$	0,0035	-
$B_1Y_2$	0,0035	0,0015	$(Y_2)J'O'$	0,0012	-
$B_1Y_2B'(P')$	0,0493	0,0440	$Y_2I'$	0,0024	0,0073
$B_1Y_2I'$	0,0340	0,0015	$Y_2I'Q'$	0,0070	-
$(B_1)Y_2O'P'B''$	0,0059	-	$B'Q'$	0,0164	0,0132
$B_1D'E'_2Q'$	0,0528	0,0440	$I'$	0,0106	0,0411
$B_1D'I'$	-	0,0044	$P'B''$	-	0,0059
nd	0,0258	0,0176	-	zero	zero
TOTAL:			0,9970	0,9986	

nd = não determinado.

grupo de corte. Algumas outras relações foram similares. Assim, o segundo fenogrupa mais freqüente no grupo de leite ocupou a quarta posição no grupo de corte e o quinto mais freqüente no

grupo de leite foi o nono do grupo de corte. Várias diferenças, contudo, foram visíveis. O segundo e o sexto fenogrupos mais frequentes no grupo de corte sequer foram encontrados no grupo de leite e o terceiro mais frequente no grupo de corte não apareceu entre os dez do grupo de leite. Da mesma forma, o quarto mais frequente do grupo de leite não apareceu entre os dez do grupo de corte.

Essa comparação simples evidencia as diferenças existentes entre os dois grupos, com respeito ao sistema B. Pela tabela pode-se notar, também, que a soma das frequências desses dez fenogrupos totaliza 64,44% no grupo de leite e 68,48% no grupo de corte.

TABELA 17. Relação dos dez fenogrupos do sistema B mais frequentes nos dois grupos da raça Gir.

Ordem	Leite		Corte	
	Fenogrupo	Frequência	Fenogrupo	Frequência
1 <sup>o</sup>	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> Q'	0,1080	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> Q'	0,1804
2 <sup>o</sup>	B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> B'P'	0,1068	B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Q(P')	0,0807
3 <sup>o</sup>	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	0,0869	B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	0,0719
4 <sup>o</sup>	Y <sub>2</sub>	0,0622	B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> B'P'	0,0601
5 <sup>o</sup>	B <sub>1</sub> D'E' <sub>2</sub> Q'	0,0528	I <sub>1</sub> P'Q'B"	0,0601
6 <sup>o</sup>	B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'(P')	0,0493	Y <sub>2</sub> D'I'	0,0528
7 <sup>o</sup>	B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> E' <sub>2</sub> P'	0,0470	Y <sub>2</sub>	0,0469
8 <sup>o</sup>	I <sub>1</sub> QE' <sub>2</sub> Q'	0,0458	B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'(P')	0,0440
9 <sup>o</sup>	I <sub>1</sub> P'Q'B"	0,0446	B <sub>1</sub> D'E' <sub>2</sub> Q'	0,0440
10 <sup>o</sup>	QB'P'	0,0411	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	0,0440

### Sistema F

O sistema F apresentou quatro alelos no grupo de leite:  $F^{F1}$ ,  $F^{V1}$ ,  $F^{V2}$ ,  $F^f$ . No grupo de corte, o alelo  $F^{V1}$  não foi encontrado. O fator  $F_2$  não foi testado. A amostra foi constituída de 457 animais no grupo de leite e 446 no grupo de corte.

A distribuição fenotípica do sistema F está mostrada na TAB. 18.

Devido a relação de dominância de três alelos para com  $F^f$  e de  $F^{V1}$  para com  $F^{V2}$ , as frequências alélicas não podem ser calculadas diretamente. Conforme explicado no capítulo anterior, as frequências alélicas foram calculadas, sob a suposição de equilíbrio genético, simplificando-se os alelos  $F^{V1}$  e  $F^{V2}$  para um alelo genérico  $F^V$ , isto é, desconsiderando-se a existência de subtipos para o fator V. As frequências alélicas obtidas nos dois grupos estão na TAB. 18, junto com o desvio padrão das estimativas. Deve-se notar que, no grupo de corte, a frequência de  $F^V$  na verdade representa a frequência de  $F^{V2}$ , uma vez que nesse grupo não foi encontrado o alelo  $F^{V1}$ , para o qual, assumiu-se frequência igual a zero. Já no grupo de leite, a frequência estimada para o alelo  $F^V$  representa ambos os alelos,  $F^{V1}$  e  $F^{V2}$ , identificados na população. Entretanto, observando-se a distribuição fenotípica, em que há três vezes mais indivíduos  $FV_2$  do que  $FV_1$ , e cinco vezes mais indivíduos  $V_2$  do que  $V_1$ , depreende-se que o alelo  $F^{V2}$  ocorreu com maior frequência do que  $F^{V1}$ .

A ocorrência e as frequências dos alelos do sistema F observadas nos dois grupos da raça Gir são típicas do que se conhece em zebuínos. Essa conclusão baseia-se na ocorrência do alelo  $F^f$ , descrito em raças zebuínas, e também na frequência maior de  $F^{V2}$  com relação a  $F^{V1}$ . No grupo de corte, o alelo  $F^{V1}$  nem foi observado e no de leite, conforme pode ser inferido, ele é menos freqüente do que  $F^{V2}$ .

**TABELA 16.** Distribuição fenotípica e frequências alélicas no sistema F, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Fenótipos						Total
	F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> V <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> V <sub>2</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	-	
Leite	363	13	43	3	16	19	457
Corte	397	0	24	0	8	17	446
Frequências alélicas							
	F <sup>F<sub>1</sub></sup>		F <sup>V</sup>		F <sup>f</sup>		
Leite	0,7112 ± 0,0224		0,0857 ± 0,0095		0,2031 ± 0,0230		
Corte	0,7652 ± 0,0230		0,0366 ± 0,0063		0,1982 ± 0,0232		

Em raças taurinas, todos os alelos, exceto  $F^{F_1}$  e  $F^{V_1}$ , são extremamente raros ou não existentes e o alelo  $F^{F_1}$  predomina em todas elas (HAENLEIN et al., 1980). A maioria dos trabalhos com raças taurinas encontrada na literatura relata apenas os fatores F e V (que provavelmente correspondem a  $F_1$  e  $V_1$ ) e a frequência do alelo  $F^F$  é de 0,70 a 0,99 (RENDEL, 1958; NEIMANN-SORENSEN & SPRYSZAK, 1959; BOUW, 1960; KIDD & CAVALLI-SFORZA, 1974; BRAEND, 1975; HAENLEIN et al., 1980). Utilizando reagentes para os fatores  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $V_1$  e  $V_2$ , três alelos foram identificados na raça Jersey,  $F^{F_1}$ ,  $F^{V_1}$  e  $F^{V_2}$ , com frequências de 0,73, 0,19, e 0,08, respectivamente; os alelos  $F^{F_2}$  e  $F^f$  não foram encontrados em 467 animais (LARSEN et al., 1974).

Em zebuínos, o alelo  $F^F$  também é o mais frequente, apresentando, porém, valores um pouco mais baixos, de 0,54 a 0,83, nas raças estudadas: Boran, da Somália (DI STASIO et al., 1980), Zebu do leste africano (FIORENTINI et al., 1980), Guzera, do Brasil (PENEDO, 1981) e Gir, do Brasil (MILLER et al., 1986).

A baixa frequência do alelo  $F^V_1$  inferida no presente trabalho está de acordo com os trabalhos de PENEDO (1981), que em 84 animais da raça Guzera não observou esse alelo e, de MILLER et al. (1986), que observaram apenas 1 entre 50 animais, com fenótipo  $F_1V_1$ . A frequência de 0,20 do alelo negativo ( $F^f$ ) encontrada no presente trabalho é maior do que o valor de 0,12 relatado por FIORENTINI et al. (1980) no Zebu do leste africano e é menor do que o valor de 0,31 relatado por PENEDO (1981) na raça Guzera do Brasil. No estudo de 50 animais da raça Gir, MILLER et al. (1986) não relataram a ocorrência desse alelo. As frequências do alelo  $F^V$  encontradas no presente trabalho (0,09 no grupo de leite e 0,04 no grupo de corte) são menores do que os valores relatados nas raças Zebu do leste africano (0,13), Guzera (0,15) e Gir (0,14), pelos autores mencionados anteriormente.

A ocorrência do alelo negativo,  $F^f$ , merece ser discutida com mais detalhes. A existência desse alelo foi questionada por alguns autores (HALL & ROSS, 1981; ROSS & LARSEN, 1981), com o argumento de falta de padronização do reagente  $F_2$ . Segundo esses autores, os animais tipados como negativos para os fatores  $F_1$ ,  $V_1$  e  $V_2$ , poderiam ser, na verdade, homocigotos para o fator  $F_2$ . Ainda, segundo eles, o fator  $V_1$  pode existir independentemente de  $V_2$ , não sendo detectado pelo reagente  $V_2$ . O alelo negativo foi descrito em raças zebuínas, com o uso de reagentes para  $F_1$ ,  $F_2$  e  $V_2$  (OSTERHOFF & POLITZER, 1968). Admitindo-se a devida especificidade do reagente  $F_2$  utilizado nesse trabalho, que os autores mencionam ser procedente dos laboratórios da Califórnia, Checoslováquia e Dinamarca, a

primeira possibilidade está descartada. Nesse trabalho foram estudados 1821 animais da raça Africander (do tipo Sanga), com 566 apresentando o fenótipo negativo; os autores não relataram, entretanto, se toda a amostra foi testada com o reagente  $F_2$ . Nesse mesmo trabalho, verificou-se que as distribuições fenotípicas observadas em cinco raças africanas, onde não se incluíram os animais de fenótipo negativo, mostraram desvios significativos do esperado por equilíbrio genético, enquanto que em treze raças taurinas, da África do Sul, em que o fenótipo negativo não foi observado, esse efeito não se verificou. A segunda possibilidade, relacionada a  $V_1$ , permanece, uma vez que não foi utilizado reagente para esse fator. No presente trabalho utilizou-se reagentes para os fatores  $F_1$ ,  $V_1$  e  $V_2$  e também foi observado o fenótipo negativo. Sobrepondo-se as observações e os reagentes utilizados nesses dois trabalhos (no presente e no de OSTERHOFF & POLITZER, 1968), parece ser viável admitir-se a possibilidade de ocorrência do alelo negativo em raças zebuínas. Contudo, a sua comprovação, estritamente com relação aos fatores  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $V_1$  e  $V_2$ , ainda está por ser feita.

Inspecionando-se os resultados dos Testes Comparativos de Tipagem Sangüinea de Bovinos, de 1979 a 1987, promovidos bianualmente pela International Society for Animal Genetics, observou-se que apenas o laboratório da Dinamarca (onde foram feitas as pesquisas de HALL & ROSS, 1981 e de ROSS & LARSEN, 1981) testou para  $F_2$  nos cinco testes comparativos. Além da Dinamarca, o laboratório da Irlanda apresentou  $F_2$  em três testes e os laboratórios da Escócia, Alemanha e Canadá, apresentaram o reagente  $F_2$  em um teste. Os demais laboratórios, em geral em

torno de 23, testaram apenas para  $F_1$ . Os resultados dos reagentes  $F_2$  utilizados não foram muito esclarecedores, pois, de 200 animais testados nessas cinco oportunidades, apenas cinco foram  $F_1$  negativos (segundo a maioria dos laboratórios) e  $F_2$  positivos (segundo os poucos laboratórios que testaram esse fator); todos esses cinco animais foram também  $V_1$  e  $V_2$  positivos.

O desvio da soma das estimativas alélicas preliminares, com relação à unidade, foi usado para se testar a hipótese de equilíbrio genético da população, através de um teste de qui-quadrado com 1 grau de liberdade. Os valores de qui-quadrado encontrados ( $0,006$ ;  $0,90 < P < 0,95$  e  $0,177$ ;  $0,50 < P < 0,70$ , para os grupos de leite e de corte, respectivamente), não foram significativos, levando à aceitação da hipótese de que as duas populações estão em equilíbrio genético com respeito ao loco F.

As distribuições fenotípicas no sistema F dos grupos de leite e de corte foram comparadas por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade, com 4 graus de liberdade. Os valores esperados em cada uma das oito classes foram calculados sob a suposição de equilíbrio genético, pela estimativa de frequências alélicas na amostra total. O valor de qui-quadrado de 18,90 foi significativo ( $P < 0,001$ ), indicando que os dois grupos são heterogêneos com respeito ao sistema F, ou seja, que suas frequências alélicas são diferentes, uma vez que o teste anterior mostrou que ambos os grupos estavam em equilíbrio genético.

A comparação entre os dois grupos evidenciou já de início, uma nitida diferença, que foi a ocorrência do alelo  $F^{V1}$  no grupo de leite e a sua suposta inexistência no grupo de corte.

## Sistemas J, L, M e Z

Os sistemas J, L e Z são considerados sistemas dominantes simples, com apenas um fator e dois alelos, onde o alelo que condiciona a presença do fator é dominante sobre o alelo que condiciona sua ausência. No sistema M são conhecidos dois fatores e três alelos, porém, no presente trabalho ele recebeu o mesmo tratamento que esses sistemas, em virtude de ter sido testado apenas um fator (M').

As frequências fenotípicas e frequências alélicas desses sistemas são mostradas na TAB. 19, junto com o desvio padrão das estimativas. As frequências alélicas foram estimadas, na amostra casual, pelo método da raiz quadrada, sob a suposição de equilíbrio genético. A amostra foi de 475 e 446 animais, nos grupos de leite e de corte, respectivamente, para as análises dos sistemas J, M e Z. Para o sistema L, esses números foram 457 e 446, respectivamente.

As comparações com dados da literatura, que serão feitas a seguir, levaram em conta os trabalhos com as seguintes raças taurinas: Sueca Vermelha e Branca, Frisia Sueca e Sueca Mocha (RENDEL, 1958), Polonesa Vermelha (NEIMANN-SORENSEN & SPRYSZAK, 1959), Holandesa Preta e Branca (BOUW, 1960), Islândica (KIDD & CAVALLI-SFORZA, 1974), Norueguesa Vermelha (BRAEND, 1975), Jersey (LARSEN et al., 1974) e Guernsey (HAENLEIN et al., 1980); e as raças zebuínas Boran (DI STASIO et al., 1980), Zebu do leste africano (FIORENTINI et al., 1980) e Gir, do Brasil (MILLER et al., 1986).

No sistema J, as raças taurinas e zebuínas não são

diferentes, com valores de 0,07 a 0,36 para o alelo  $J^J$ . Os valores encontrados para a raça Gir, no presente trabalho, foram 0,14 e 0,09, nos grupos de leite e de corte, respectivamente, enquadrando-se mais próximos do limite inferior da variação vista na literatura.

No sistema L, parece haver uma certa diferença entre taurinos e zebuinos. Os dados da literatura mostram valores de 0,06 a 0,43 para o alelo  $L^L$  nas raças taurinas, enquanto que valores mais altos, de 0,38 a 0,60, são relatados para as raças zebuinas. No presente trabalho, a frequência do alelo  $L^L$  também foi alta (0,47 e 0,54, nos grupos de leite e de corte, respectivamente).

Nenhuma comparação pode ser feita quanto ao sistema M, porque os dados da literatura referem-se ao alelo  $M^M1$ , enquanto que, no presente trabalho, apenas o alelo  $M^M'$  foi identificado.

No sistema Z, pode-se observar uma distinção mais nitida entre taurinos e zebuinos. As raças taurinas exibem frequências intermediárias do alelo  $Z^Z$ , de 0,20 a 0,49. As raças zebuinas apresentam valores mais altos, de 0,51 a 1,00 (este último valor foi obtido em uma amostra de apenas 50 animais da raça Gir, mas é indicativo da alta frequência do alelo). No presente trabalho, a frequência do alelo  $Z^Z$  foi 0,95 e 0,90, nos grupos de leite e de corte, respectivamente, em conformidade com os dados das raças zebuinas e indicando que, na raça Gir o fenótipo negativo no sistema Z é bastante raro.

A comparação entre os grupos de leite e de corte com relação a esses quatro sistemas foi feita por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade das distribuições fenotípicas dos

dois grupos, com 1 grau de liberdade. Os valores esperados em cada uma das duas classes nas duas populações foram calculados com base nas frequências alélicas médias estimadas na amostra total e na suposição de equilíbrio genético.

TABELA 19. Distribuições fenotípica e alélica nos sistemas J, L, M e Z, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Fenótipos							
	Sistema J		Sistema L		Sistema M		Sistema Z	
	J	-	L	-	M'	-	Z	-
Leite	121	354	328	129	85	390	474	1
Corte	76	370	351	95	72	374	442	4
Frequências alélicas								
	$J^J$				$J^J$			
	Leite	0,1367 ± 0,0116				0,8633 ± 0,0116		
Corte	0,0892 ± 0,0098				0,9108 ± 0,0098			
	$L^L$				$L^L$			
	Leite	0,4687 ± 0,0198				0,5313 ± 0,0198		
Corte	0,5385 ± 0,0210				0,4615 ± 0,0210			
	$M^M'$				$M^M'$			
	Leite	0,0939 ± 0,0097				0,9061 ± 0,0097		
Corte	0,0843 ± 0,0095				0,9157 ± 0,0095			
	$Z^Z$				$Z^Z$			
	Leite	0,9541 ± 0,0229				0,0459 ± 0,0229		
Corte	0,9053 ± 0,0236				0,0947 ± 0,0236			

Os valores de qui-quadrado foram: 9,756 para o sistema

J ( $0,01 < P < 0,001$ ), 5,807 para o sistema L ( $0,02 < P < 0,01$ ), 0,499 para o sistema M ( $0,50 < P < 0,30$ ) e 2,007 para o sistema Z ( $0,20 < P < 0,10$ ). Esses valores indicaram que os dois grupos mostraram-se heterogêneos quanto aos sistemas J e L, e mostraram-se homogêneos quanto aos sistemas M e Z. A comparação quanto ao sistema Z, contudo, foi prejudicada pois uma das quatro classes apresentou número de indivíduos menor do que 3.

Os valores significativos para os sistemas J e L podem ser interpretados de duas formas: a) os grupos de leite e de corte são heterogêneos, isto é, apresentam frequências alélicas diferentes nesses sistemas, mas ambas as populações estão em equilíbrio genético, ou b) o modelo de equilíbrio genético para ambas as populações não está correto e elas podem ser homogêneas ou não com respeito a um outro modelo (cf. ELANDT-JOHNSON, 1971, p. 372). Devido à falta de graus de liberdade ( $m(k - 1 - s) = 2(2 - 1 - 1) = 0$ ), a hipótese de equilíbrio genético em cada grupo não pode ser testada. No entanto, a aceitação da hipótese de equilíbrio genético quanto ao sistema F (mostrada anteriormente) e quanto aos sistemas eletroforéticos (a serem tratados a seguir), é uma evidência de que o mesmo seja verdadeiro para os locos J e L e que, portanto, os dois grupos são de fato heterogêneos.

#### 4.2. Polimorfismos bioquímicos

Quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos foram estudados pelo método de eletroforese em gel de amido: albumina (Al), anidrase carbônica (CA), hemoglobina (Hb) e transferrina

(Tf).

Em todos os sistemas foram calculadas as frequências alélicas e foram feitos testes de qui-quadrado para verificar a hipótese de equilíbrio genético e para comparar os dois grupos estudados. Todos os cálculos basearam-se no conhecimento de que esses sistemas são controlados por alelos codominantes, sem a ocorrência de alelos do tipo "silencioso". Como cada tipo ou variante é condicionado por um alelo, os termos tipo, variante e alelo foram usados, muitas vezes, como sinônimos. Nas tabelas não foram apresentados os números esperados sob a hipótese de equilíbrio genético em virtude de que os dois grupos mostraram-se em equilíbrio em todos os quatro sistemas analisados e, portanto, os números observados e esperados foram similares.

Todos os dados apresentados a seguir foram obtidos pela análise da amostra casual. No entanto, o número de animais analisados em cada sistema foi geralmente menor do que o número total de animais. Essa diminuição da amostra ocorreu por razões as mais variadas, que incluíram amostras inadequadas, quebra de tubos durante o congelamento e resultados duvidosos.

#### 4.2.1. Albumina

No sistema de albumina (A1) três alelos foram encontrados na população estudada:  $A1^A$ ,  $A1^B$  e  $A1^C$ . A distribuição genotípica e as frequências alélicas são apresentadas na TAB. 20, junto com o desvio padrão das estimativas. Foram analisados 411 animais no grupo de leite e 390 no grupo de corte .

O alelo mais freqüente nos dois grupos foi  $A1^B$  (0,85 e 0,75 nos grupos de leite e de corte, respectivamente). No grupo

de leite, os outros dois alelos ocorreram com frequências semelhantes e baixas, enquanto que no grupo de corte o alelo  $Al^C$  foi três vezes mais frequente do que o alelo  $Al^A$ . A maior frequência do alelo  $Al^B$  é típica de gado Zebu e oposta ao que ocorre em gado taurino. Em raças taurinas, como as do norte da Europa e as raças malhadas das terras baixas, tais como a Holandesa, esse alelo está virtualmente ausente e o alelo  $Al^C$  não é mencionado (BAKER & MANWELL, 1980). Esses autores mencionam valores maiores do que 0,90 para o alelo  $Al^B$  em raças zebuínas. No grupo de corte a frequência desse alelo não foi tão alta, provavelmente pelo fato de que o alelo  $Al^C$  apresentou-se com uma frequência apreciável (0,19).

O alelo  $Al^C$  tem sido considerado como sendo típico de raças zebuínas. No presente trabalho o alelo  $Al^C$  ocorreu com frequência baixa (0,07) no grupo de leite e com frequência apreciável (0,19) no grupo de corte. Na raça zebuína Boran, da Somália, a frequência desse alelo foi apenas 0,01 (DI STASIO et al., 1980). Outros estudos feitos com raças zebuínas não encontraram o alelo  $Al^C$ , como por exemplo, para as raças Angoni e Boran, da África (CARR, 1966), Zebu, de Cuba (MITAT et al., 1975) e Guzerá, do Brasil (PENEDO, 1981). A ocorrência desse alelo na raça Caracu, do Brasil, foi interpretada como sendo devido à introdução de genes de raças zebuínas nessa raça taurina (BICALHO, 1985).

Uma forma diferente de albumina foi observada em uma vaca do grupo de leite e foi provisoriamente designada por Al X. Esse animal apresentou essa forma nova em associação com a Al B.

TABELA 20. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema Al, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Genótipos						Total
	A/A	A/B	A/C	B/B	B/C	C/C	
Leite	3	54	7	301	42	4	411
Corte	1	33	11	220	111	14	390
	Frequências alélicas						
	Al <sup>A</sup>		Al <sup>B</sup>		Al <sup>C</sup>		
Leite	0,0815 ± 0,0095		0,8492 ± 0,0125		0,0693 ± 0,0089		
Corte	0,0590 ± 0,0084		0,7487 ± 0,0155		0,1923 ± 0,0141		

Na separação eletroforética a zona Al X ficou logo abaixo de Al C, a uma distância aparentemente igual à distância entre Al B e Al C. O fenótipo visto no gel está apresentado na FIG. 9, junto com outros fenótipos observados na amostra. Tentativas de retipar o animal que exibiu essa nova forma, bem como seus parentes próximos (pais, filhos e irmãos), não foram bem sucedidas. Assim, não foi possível confirmar-se o resultado diferente com nova amostra de sangue e verificar sua ocorrência em outros indivíduos da família. Repetições com a amostra disponível no laboratório mostraram o mesmo resultado.

De acordo com a literatura revisada, esse tipo de albumina, de migração mais lenta do que a Al C, não foi descrita. A sua ocorrência em apenas um indivíduo da amostra estudada não é uma prova definitiva de que ela represente uma variante genética, especialmente porque não foi possível seguir-se sua segregação. Contudo, a sua aparência nítida no gel é uma evidência de que

seja uma variante rara. Esse fenótipo diferente não foi considerado no cálculo das frequências alélicas e por isso não está apresentado na TAB. 20.

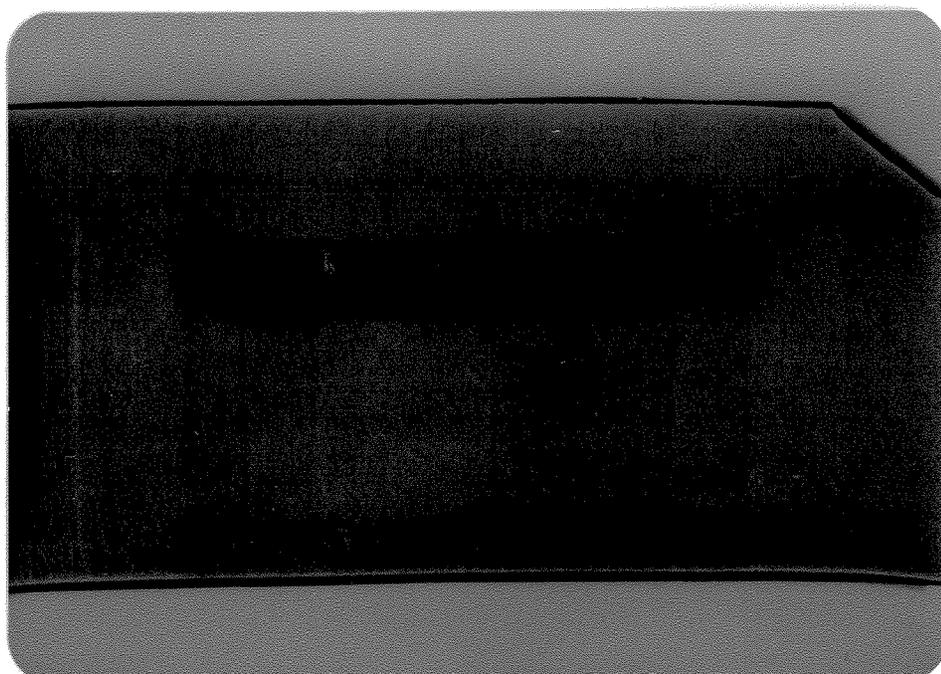


FIGURA 9. Fenótipos de albumina vistos na amostra estudada (da esquerda para a direita: AB, BX, AC, C, BC, B, AB e A).

Os testes de qui-quadrado de aderência, com 3 graus de liberdade, indicaram que a distribuição genotípica observada no loco da albumina, nos grupos de leite e de corte, estão de acordo com o esperado por equilíbrio genético. Os valores de qui-quadrado calculados foram 4,376 ( $0,20 < P < 0,30$ ) e 0,711 ( $0,80 < P < 0,90$ ), para os dois grupos, respectivamente.

A comparação das frequências genotípicas entre os grupos foi feita por meio de um teste de qui-quadrado de homogeneidade, com 8 graus de liberdade. O valor de qui-quadrado encontrado (59,020;  $P < 0,001$ ) mostrou que os dois grupos são heterogêneos com respeito ao loco da albumina.

#### 4.2.2. Anidrase carbônica

No sistema da anidrase carbônica (CA), foram identificados os alelos  $CA^S$ ,  $CA^Z$  e  $CA^S$ *Sahiwal* nas amostras da raça Gir estudadas. A distribuição genotípica observada e as frequências alélicas, levando em conta apenas os dois primeiros alelos, são mostradas na TAB. 21, em conjunto com o desvio padrão das estimativas. Foram analisados 400 animais no grupo de leite e 408 no grupo de corte.

A identificação do alelo  $CA^S$ *Sahiwal* na presente amostra foi feita por comparação com os dados mostrados por SHANKER et al. (1983). Não foi possível comparar-se, no gel, a variante encontrada com uma amostra padrão de  $CA^S$ *Sahiwal*, pois esta não estava disponível. Esse alelo foi observado em vários animais, sempre em heterozigose com os outros dois, o que indica que não é uma variante rara na raça Gir. Em virtude de a mobilidade eletroforética da variante  $CA^S$ *Sahiwal* ser muito próxima de  $CA^S$ , não foi possível distinguir-se todos os animais que exibiam tal variante. Por esse motivo, o alelo  $CA^S$ *Sahiwal* não foi considerado no cálculo das frequências alélicas e foi agrupado com o alelo  $CA^S$ . A FIG. 10 mostra a variante  $CA^S$ *Sahiwal* em associação com  $CA^S$  e  $CA^Z$ , junto com outros fenótipos desse loco.

O alelo  $CA^S$  foi o mais freqüente, com valores de 0,84 e 0,91. O alelo  $CA^Z$ , descrito em zebuínos, foi quase duas vezes mais freqüente no grupo de corte, com relação ao grupo de leite. O alelo  $CA^F$  não foi encontrado na amostra estudada e sua frequência foi tida como zero. Além dos 808 animais incluídos nessa análise, outros 95 que foram testados sem a técnica de

extração em álcool-clorofórmio, também não apresentaram esse alelo. Portanto, essa informação refere-se a um total de 903 animais.

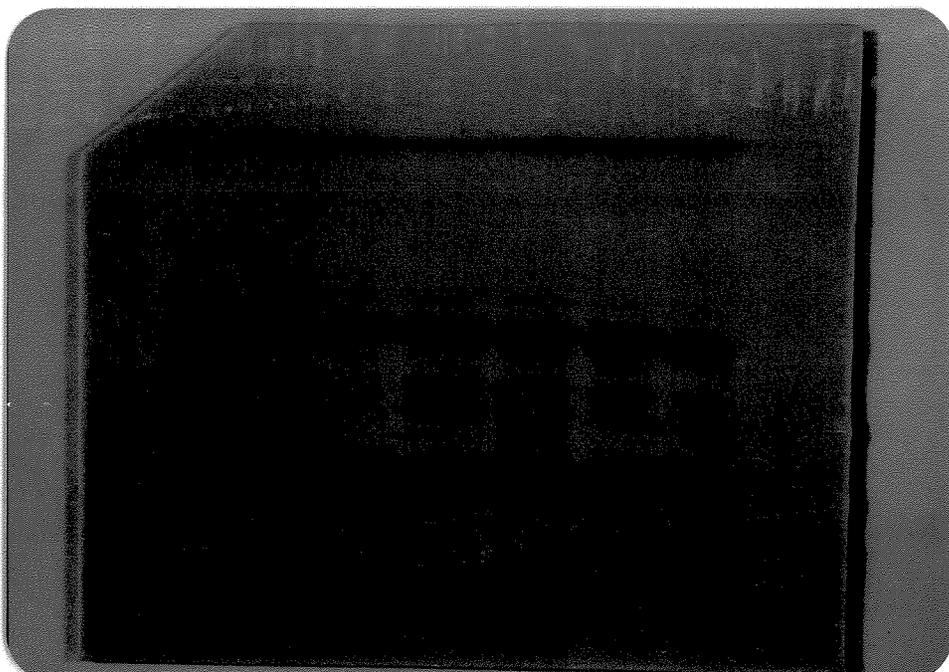


FIGURA 10. Fenótipos de anidrase carbônica (da esquerda para a direita: FS, SZ, S<sup>S</sup>Sahiwal<sup>Z</sup>, 3 S<sup>S</sup>Sahiwal e S).

DI STASIO *et al.* (1980) observaram apenas o alelo  $CA^S$  em zebuínos da raça Boran, da Somália; provavelmente o alelo  $CA^Z$  não foi encontrado porque não foi utilizada a técnica adequada a sua visualização (extração em álcool-clorofórmio). A não observação da forma  $CA^F$  em 134 animais analisados está de acordo com o presente estudo.

Os dados do presente trabalho levam à conclusão de que a variante  $CA^F$  não existe na raça Gir. Essa conclusão deverá ser confirmada pela análise de uma amostra maior de indivíduos.

Em outras raças zebuínas, o alelo  $CA^F$  foi descrito, porém em baixa frequência: 0,006 na raça Guzerá, do Brasil (PENEDO, 1981), 0,05 em Sahiwal, da Índia (SHANKER *et al.*, 1983)

e 0,008 na raça Nelore, do Brasil (PANEPUCCI, 1988).

TABELA 21. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema CA, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Genótipos			Total
	S/S	S/Z	Z/Z	
Leite	331	66	3	400
Corte	287	112	9	408

	Frequências alélicas <sup>1</sup>		
	CA <sup>F</sup>	CA <sup>S</sup>	CA <sup>Z</sup>
Leite	zero	0,9100 ± 0,0101	0,0900 ± 0,0101
Corte	zero	0,8407 ± 0,0128	0,1593 ± 0,0128

1: o alelo CA<sup>S</sup>Sahiwal foi observado na amostra, mas não foi considerado para cálculo.

Considerando-se a inexistência do alelo CA<sup>F</sup> em duas raças estudadas (Gir e Boran) e sua baixa frequência em outras três raças (Guzerá, Sahiwal e Nelore), pode-se supor que esse alelo esteja virtualmente ausente nas raças zebuínas. Nesse caso, haveria uma nitida distinção entre taurinos e zebuínos com respeito ao polimorfismo da anidrase carbônica, tendo-se as variantes CA<sup>F</sup> e CA<sup>S</sup> como típicas das raças taurinas e as variantes CA<sup>S</sup> e CA<sup>Z</sup> como típicas das raças zebuínas. Se essa hipótese for verdadeira, o fato de CA<sup>S</sup> ser a variante predominante nos dois grupos raciais permite supor que essa variante estava presente em um ancestral comum e que, durante a divergência evolutiva desses dois grupos (taxonomicamente considerados como duas espécies), apareceram os alelos

alternativos, que se mantem em baixa frequência. Nesse caso, seria interessante estudar-se o comportamento desse polimorfismo em cruzamento de *Bos taurus* e *Bos indicus*. A suposição inicial, de ausência virtual do alelo  $CA^F$  em zebuínos, deverá ser verificada em um maior número de animais e de raças zebuínas.

A comparação das frequências do alelo  $CA^Z$  do presente trabalho com as frequências da raça Nelore (PANEPUCCI, 1988) mostrou que a raça Gir apresentou menor frequência (0,09 e 0,16) do que a Nelore (0,24).

A suposição de equilíbrio genético quanto ao loco da anidrase carbônica foi confirmada por um teste de qui-quadrado de aderência, com 1 grau de liberdade. Os valores de qui-quadrado encontrados foram 0,022 ( $0,80 < P < 0,90$ ) e 0,250 ( $0,50 < P < 0,70$ ), para os grupos de leite e de corte, respectivamente.

A comparação das frequências alélicas entre os dois grupos foi feita por um teste de qui-quadrado de homogeneidade da variância da binomial, com 1 grau de liberdade. O valor de qui-quadrado calculado (17,737) foi significativo ( $P < 0,001$ ), indicando que o grupo de leite e o de corte são diferentes quanto ao polimorfismo da anidrase carbônica.

#### 4.2.3. Hemoglobina

No sistema de hemoglobina (Hb), os animais da raça Gir estudados, 438 do grupo de leite e 446 do grupo de corte, apresentaram as variantes Hb A e Hb B. Nenhuma outra variante foi observada. A distribuição genotípica observada e as frequências alélicas são apresentadas na TAB. 22, com o desvio padrão das

estimativas.

Além dos 884 animais do presente trabalho, outros 686 animais testados em atividades de rotina do laboratório, também não mostraram nenhuma outra variante de hemoglobina, que não fosse Hb A e Hb B. Essa informação refere-se, portanto, a um total de 1570 animais analisados. Esse dado concorda com os de LEHMAN (1959), NAIK et al. (1969) e SINGH et al. (1972), que estudaram a raça Gir, da própria Índia, em número de 103, 404 e 181 animais, respectivamente. A ocorrência restrita desses dois tipos de hemoglobina na raça Gir é um dado interessante, pois outras variantes foram descritas em diversas raças zebuínas, tais como Dangl, Kankrej, Khillari, Malvi e Rathi, da Índia (NAIK et al., 1969), Brahman, da África do Sul (SCHWELLNUS & GUERIN, 1977), Boran e Dawara, da Somália (DI STASIO et al., 1980), Muturu, Red Bororo e Gudali, da Nigéria (BRAEND & KHANNA, 1968) e Nelore, do Brasil (ABREU-FILHO et al., 1982). Em zebuínos criados no Brasil, em um estudo de 110 animais da raça Guzerá, 173 da raça Indubrasil e 902 da raça Nelore, foi observado apenas um animal, da raça Indubrasil, apresentando uma variante de migração intermediária entre Hb A e Hb B, em heterozigose (MORTARI et al., 1988).

As frequências alélicas encontradas no grupo de leite são comparáveis aquelas relatadas em animais da própria Índia (LEHMAN, 1959; NAIK et al., 1969; SINGH et al., 1972), porém os valores do grupo de corte foram diferentes. Tomando-se a frequência do alelo  $Hb^A$ , tem-se os valores de 0,47 a 0,51 para os animais da Índia, 0,53 para o grupo de leite e 0,66 para o grupo de corte. Parece estar evidente que os animais do grupo de corte

apresentaram uma frequência maior do alelo  $Hb^A$  e, conseqüentemente, uma diminuição na frequência do alelo  $Hb^B$ , com relação aos representantes originais dessa raça. Investigando-se a amostra de Gir de corte estudada, observa-se que uma das fazendas apresentou frequência igual a 0,73 para o alelo  $Hb^A$ , o que poderia estar influenciando no maior valor médio. Se essa fazenda não fosse considerada, a frequência de  $Hb^A$  seria 0,63, ainda assim, acima dos valores mencionados anteriormente.

TABELA 22. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema Hb, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Genótipos			Total
	A/A	A/B	B/B	
Leite	122	222	94	438
Corte	196	197	53	446
	Frequências alélicas			
	$Hb^A$		$Hb^B$	
Leite	0,5320 ± 0,0169		0,4680 ± 0,0169	
Corte	0,6603 ± 0,0159		0,3397 ± 0,0159	

Os valores de qui-quadrado obtidos pelo teste de aderência, com 1 grau de liberdade, foram 0,139 e 0,105 ( $0,70 < P < 0,80$ ), para os grupos de leite e de corte, respectivamente, o que levou à aceitação da hipótese de equilíbrio genético das duas populações quanto ao loco da hemoglobina.

A diferença nas frequências alélicas entre os dois grupos foi avaliada por um teste de qui-quadrado de homogeneidade

da variância da binomial, com 1 grau de liberdade. O valor de qui-quadrado obtido (30,340) foi significativo ( $P < 0,001$ ), indicando que as frequências alélicas no sistema da hemoglobina são diferentes entre os dois grupos.

#### 4.2.4. Transferrina

O método de separação eletroforética empregado para o sistema da transferrina (Tf) permitiu a identificação das variantes Tf A, Tf D<sub>1</sub>, Tf D<sub>2</sub> e Tf E. Nos dois grupos estudados foram encontrados três alelos:  $Tf^A$ ,  $Tf^{D_2}$  e  $Tf^E$ . O alelo  $Tf^{D_1}$  não foi encontrado e por isso sua frequência foi tida como zero. Foram analisados 407 animais no grupo de leite e 392 no grupo de corte. A distribuição genotípica observada e as frequências alélicas, com os desvios padrão, estão na TAB. 23.

Em diversos géis foi possível verificar-se a ocorrência da variante Tf F, descrita em zebuínos. Sua posição no gel foi semelhante à Tf D<sub>2</sub>, sendo que a terceira banda da Tf F (da mais lenta para a mais rápida) ficava um pouco abaixo da terceira banda da Tf D<sub>2</sub>. A resolução entre essas duas variantes não foi possível em todos os géis e, por isso, considerou-se apenas como Tf D<sub>2</sub>. Pode-se observar, entretanto, que a Tf F apareceu em uma grande quantidade de animais e, possivelmente, a sua frequência foi maior do que da Tf D<sub>2</sub>.

Do mesmo modo, foi possível identificar-se a presença da variante Tf B, também descrita em zebuínos, em vários animais da amostra. Nesse caso, porém, a resolução entre Tf A e Tf B foi mais difícil e não se pode conjecturar sobre sua prevalência. A

frequência do alelo  $Tf^A$  incluiu, portanto, a frequência do alelo  $Tf^B$ , não discriminado nessa análise.

TABELA 23. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema Tf, nos dois grupos da raça Gir.

Grupo	Genótipos						Total
	A/A	A/D <sub>2</sub>	A/E	D <sub>2</sub> /D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> /E	E/E	
Leite	16	63	50	105	127	46	407
Corte	9	63	51	60	141	69	392
	Frequências alélicas <sup>1</sup>						
	$Tf^A$	$Tf^{D_1}$	$Tf^{D_2}$	$Tf^E$			
Leite	0,1781 ±0,0134	zero	0,4914 ±0,0175	0,3305 ±0,0165			
Corte	0,1671 ±0,0133	zero	0,4120 ±0,0176	0,4209 ±0,0176			

1 : os alelos  $Tf^B$  e  $Tf^F$  não foram sempre discriminados e estão agrupados com  $Tf^A$  e  $Tf^{D_2}$ , respectivamente.

A não ocorrência da variante Tf D<sub>1</sub> na amostra estudada é um dado interessante. Esse dado pode indicar a ausência do alelo  $Tf^{D_1}$  na raça Gir. A análise de um número maior de indivíduos poderá comprovar essa suposição. A não ocorrência de Tf D<sub>1</sub> em zebuínos também foi relatada em 143 animais da raça Boran e 34 da raça Dawara, da Somália (DI STASIO et al., 1980) e 84 da raça Guzerá, do Brasil (PENEDO, 1981).

As variantes Tf B e Tf F são consideradas típicas de zebuínos (BAKER & MANWELL, 1980). O procedimento de eletroforese empregado no presente trabalho não permitiu que se distinguíssem, com segurança, essas variantes, que foram agrupadas como Tf A e Tf D<sub>2</sub>, respectivamente. Nesse sentido, as frequências dos

alelos  $Tf^A$  e  $Tf^{D2}$  representam superestimativas. Em quatro raças zebuínas do leste africano (Boran, Sahiwal, Tanganika e Teso), a frequência de  $Tf^F$  foi da ordem de 0,33 a 0,39, enquanto que a frequência de  $Tf^D$  foi de 0,12 a 0,25; apenas a raça Boran apresentou valores similares para esses dois alelos (ASHTON & LAMPKIM, 1965). No presente trabalho a frequência de  $Tf^{D2}$  foi 0,49 e 0,41 nos grupos de leite e de corte, respectivamente. Esse valor alto inclui a frequência do alelo  $Tf^F$ , que deve representar mais de 50% desse valor. Essa conclusão baseia-se no grande número de fenótipos envolvendo a  $Tf^F$ , que puderam ser discriminados.

Frequências mais altas da variante  $Tf^E$  são típicas de raças zebuínas. Em sua maioria, as raças taurinas apresentam valores baixos (menores do que 0,10) para essa variante, que chega a estar ausente em raças como a Guernsey, Jersey e Charolesa (ASHTON, 1958; OSTERHOFF & VAN HEERDEN, 1964; BRAEND, 1972; KRAAY, 1972). Exceções a essa regra foram vistas nas raças Aberdeen-Angus e Ayrshire, da Europa (ASHTON, 1958), Aberdeen-Angus, do Canadá (KRAAY, 1972), Sueca Preta e Branca (GAHNE, 1961) e Norueguesa Vermelha (BRAEND & KHANNA, 1967), onde as frequências do alelo  $Tf^E$  foram de 0,11 a 0,29. As raças zebuínas, por outro lado, apresentam valores maiores, que foram de 0,20 a 0,34 para seis raças zebuínas da África (ASHTON & LAMPKIM, 1965; CARR, 1966). A raça Guzerá, do Brasil, apresentou a frequência de 0,35 para esse alelo (PENEDO, 1981). No presente trabalho, os valores encontrados foram 0,33 e 0,42, para os grupos de leite e de corte, respectivamente, concordando com as observações de alta frequência desse alelo em raças zebuínas.

Os testes de qui-quadrado de aderência, com 3 graus de liberdade, levaram à aceitação da hipótese de que os dois grupos estão em equilíbrio genético quanto ao loco da transferrina. Os valores de qui-quadrado obtidos foram 2,508 e 2,689 ( $0,30 < P < 0,50$ ), para os grupos de leite e de corte, respectivamente.

A comparação das frequências genotípicas entre os dois grupos foi feita por um teste de qui-quadrado de homogeneidade, com 8 graus de liberdade. O valor de qui-quadrado obtido (19,831;  $0,01 < P < 0,02$ ) indicou que os dois grupos são heterogêneos quanto ao sistema transferrina.

#### 4.3. Comparação entre os grupos de leite e de corte

A apresentação dos resultados nos itens 4.1 e 4.2. foi feita para os dois grupos e foi acompanhada de uma comparação dos resultados entre eles. Na maioria das comparações em que foram feitos testes estatísticos, as duas populações mostraram-se significativamente diferentes uma da outra. Essa diferença foi demonstrada quanto às seguintes características estudadas: número médio de fatores no sistema B e nos sistemas em geral, e frequências alélicas nos sistemas de grupos sanguíneos F, J e L, e nos sistemas de polimorfismos bioquímicos Al, CA, Hb e Tf. A diferença não foi observada quanto ao número médio de fatores em todos os sistemas exceto B e nas frequências alélicas nos sistemas de grupos sanguíneos M e Z.

Antes de se formular alguma hipótese sobre a razão de tais diferenças, procurou-se verificar se o mesmo efeito ocorria dentro de cada grupo, principalmente, levando-se em conta a

composição da amostra. Conforme mostrado na TAB. 5, tanto o grupo de leite quanto o de corte foram constituídos de animais provenientes de um número limitado de fazendas (cinco em cada caso). O grupo de corte contou com uma fonte adicional representada por animais ganhadores de prêmios em exposições nacionais.

Tendo em vista essas considerações, fizeram-se testes estatísticos, quanto a alguns sistemas, para avaliar se cada grupo era homogêneo com respeito às várias fontes de dados. Para essa análise escolheu-se os sistemas codominantes de polimorfismos bioquímicos (albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina). A escolha desses sistemas baseou-se em dois aspectos. Um deles foi a suposição de que a demonstração de homogeneidade ou heterogeneidade nos sistemas escolhidos permitiria concluir sobre todo o grupo. Além disso, a interpretação da heterogeneidade nesses sistemas seria facilitada pelo fato de que a hipótese de equilíbrio poderia ser verificada em cada fonte de animais e, portanto, o cálculo do número esperado em cada classe poderia ser feito adequadamente sob a suposição de equilíbrio.

A análise efetuada será apresentada separadamente para o grupo de leite e o grupo de corte. Para os sistemas da anidrase carbônica e da hemoglobina, com dois alelos, foi aplicado o teste de qui-quadrado de homogeneidade da variância da binomial. Para os sistemas da albumina e da transferrina, com três alelos, foi aplicado o teste de qui-quadrado de homogeneidade. Em alguns casos foram feitas comparações entre duas fazendas, utilizando-se testes de qui-quadrado de contingência em tabelas 2x2, com o

número de alelos, para os sistemas da anidrase carbônica e hemoglobina, e testes de qui-quadrado de homogeneidade, para os sistemas da albumina e transferrina. Em algumas comparações, principalmente nos sistemas de albumina e transferrina, os testes foram prejudicados porque em algumas classes o número esperado foi menor do que 3, devido à baixa frequência dos alelos envolvidos.

#### 4.3.1. Grupo de leite

Os dados relativos às análises efetuadas no grupo de leite estão apresentadas nas TAB. 24, 25, 26 e 27, para os sistemas da albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina, respectivamente, para as cinco fazendas. Nessas tabelas está indicado se a população está em equilíbrio. Os números esperados não constam nas tabelas porque as cinco fazendas mostraram-se em equilíbrio quanto aos quatro sistemas analisados e os números esperados são similares aos números observados. Em alguns casos nem foi necessário calcular-se o valor de qui-quadrado do teste de aderência, pois a diferença entre os números observado e esperado foi no máximo igual à unidade.

Os resultados dos testes estatísticos mostraram que as cinco fontes de animais do grupo de leite são heterogêneas. Os valores de qui-quadrado encontrados foram 101,24 ( $P < 0,001$ ), 12,06 ( $0,01 < P < 0,02$ ), 31,20 ( $P < 0,001$ ) e 79,80 ( $P < 0,001$ ) para os sistemas de albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina, respectivamente. Os testes foram feitos com 4 graus

de liberdade quanto aos sistemas de anidrase carbônica e hemoglobina, e com 16 graus de liberdade quanto aos sistemas de albumina e transferrina. Nesses dois últimos sistemas a fazenda V não foi considerada devido ao seu pequeno tamanho amostral. Nos sistemas de albumina e transferrina, os testes foram prejudicados porque em algumas classes o número esperado foi menor que 3, devido à baixa frequência dos alelos envolvidos.

Inspecionando-se mais cuidadosamente as tabelas, pode-se notar que existem diferenças visíveis entre as fazendas.

No sistema de albumina não se observou nenhuma tendência em particular. Algumas comparações foram feitas e pode-se verificar que a fazenda I foi diferente das demais, exceto da II e que a fazenda III foi diferente da II. A fazenda V não foi considerada nas comparações, devido ao seu pequeno tamanho amostral (n=5).

No sistema de anidrase carbônica foi a fazenda III que se distinguiu das demais. Os testes de qui-quadrado mostraram que essa fazenda diferiu de todas as outras, com exceção da fazenda I. As demais fazendas não diferiram entre si. Na fazenda III, a frequência do alelo  $CA^Z$  foi muito baixa.

No sistema da hemoglobina, pareceu existir dois subgrupos, o das fazendas III e IV e o das fazendas I, II e V. No primeiro subgrupo a frequência de  $Hb^A$  é menor que 0,50, enquanto que no segundo é maior do que 0,60. Testes de qui-quadrado confirmaram essa suposição. Entre os dois subgrupos a diferença foi significativa, enquanto que entre as fazendas dentro de cada subgrupo a diferença foi não significativa.

No sistema de transferrina, os testes de qui-quadrado

indicaram que a fazenda I diferia das demais, pois ela foi significativamente diferente da fazenda IV, com a qual tinha os valores mais próximos de frequências alélicas. A fazenda IV por sua vez é estatisticamente semelhante às fazendas II e III. A fazenda V não foi considerada devido ao tamanho amostral pequeno (n=16).

Considerando-se os quatro sistemas analisados, nota-se que não houve uma distinção particular de uma ou mais fazendas com relação a outras, mas que esse tipo de efeito variou com o sistema. Os resultados reforçaram, contudo, o que foi demonstrado nos testes de homogeneidade, ou seja, que as fazendas apresentaram diferenças entre si, em um ou mais sistemas.

**TABELA 24.** Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de albumina nas cinco fazendas do grupo de leite.

Fazenda	Genótipos						Total	Equilíbrio genético
	AA	AB	AC	BB	BC	CC		
I	2	43	1	134	13	0	193	sim
II	0	5	2	56	7	0	70	sim
III	0	1	0	65	5	0	71	sim
IV	1	5	4	41	17	4	72	sim
V	0	0	0	5	0	0	5	n-testado
Total	3	54	7	301	42	4	411	sim
----- Frequências alélicas -----								
	<i>A<sup>1</sup>A</i>		<i>A<sup>1</sup>B</i>			<i>A<sup>1</sup>C</i>		
I	0,1244 ± 0,0168		0,8394 ± 0,0187			0,0362 ± 0,0095		
II	0,0500 ± 0,0184		0,8857 ± 0,0269			0,0643 ± 0,0207		
III	0,0070 ± 0,0070		0,9577 ± 0,0169			0,0353 ± 0,0155		
IV	0,0764 ± 0,0221		0,7222 ± 0,0373			0,2014 ± 0,0334		
V	----- não calculadas -----							
Total	0,0815 ± 0,0095		0,8492 ± 0,0125			0,0693 ± 0,0089		

**TABELA 25.** Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de anidrase carbônica nas cinco fazendas do grupo de leite.

Fazenda	Genótipos			Total	Equilíbrio genético
	SS	SZ	ZZ		
I	164	30	0	194	sim
II	54	18	1	73	sim
III	40	1	0	41	sim
IV	52	13	1	66	sim
V	21	4	1	26	sim
Total	331	66	3	400	sim
--- Frequências alélicas ---					
	<i>CA<sup>S</sup></i>		<i>CA<sup>Z</sup></i>		
I	0,9227 ± 0,0136		0,0773 ± 0,0136		
II	0,8630 ± 0,0285		0,1370 ± 0,0285		
III	0,9878 ± 0,0121		0,0122 ± 0,0121		
IV	0,8864 ± 0,0276		0,1136 ± 0,0276		
V	0,8846 ± 0,0443		0,1154 ± 0,0443		
Total	0,9100 ± 0,0101		0,0900 ± 0,0101		

TABELA 26. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de hemoglobina nas cinco fazendas do grupo de leite.

Fazenda	Genótipos			Total	Equilíbrio genético
	AA	AB	BB		
I	45	99	50	194	sim
II	16	36	24	76	sim
III	29	37	4	70	sim
IV	27	33	6	66	sim
V	5	17	10	32	sim
Total	122	222	94	438	sim
--- Frequências alélicas ---					
	<i>H<sup>D</sup>A</i>		<i>H<sup>D</sup>B</i>		
I	0,4871 ± 0,0254		0,5129 ± 0,0254		
II	0,4474 ± 0,0403		0,5526 ± 0,0403		
III	0,6786 ± 0,0395		0,3214 ± 0,0395		
IV	0,6591 ± 0,0413		0,3409 ± 0,0413		
V	0,4219 ± 0,0617		0,5781 ± 0,0617		
Total	0,5320 ± 0,0169		0,4680 ± 0,0169		

TABELA 27. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de transferrina nas cinco fazendas do grupo de leite.

Fazenda	Genótipos						Total	Equilíbrio genético
	AA	AD <sub>2</sub>	AE	D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> E	EE		
I	1	10	19	43	81	30	184	sim
II	3	19	9	25	13	1	70	sim
III	8	19	9	16	16	3	71	sim
IV	4	14	8	19	13	8	66	sim
V	0	1	5	2	4	4	16	n-testado
Total	16	63	50	105	127	46	407	sim
----- Frequências alélicas -----								
	<i>TfA</i>		<i>TfD<sub>2</sub></i>			<i>TfE</i>		
I	0,0842 ± 0,0145		0,4810 ± 0,0260			0,4348 ± 0,0258		
II	0,2429 ± 0,0362		0,5857 ± 0,0416			0,1714 ± 0,0318		
III	0,3099 ± 0,0388		0,4718 ± 0,0419			0,2183 ± 0,0347		
IV	0,2273 ± 0,0365		0,4924 ± 0,0435			0,2803 ± 0,0391		
V	----- não calculadas -----							
Total	0,1781 ± 0,0134		0,4914 ± 0,0175			0,3305 ± 0,0165		

#### 4.3.2. Grupo de corte

Os dados das várias fontes de animais do grupo de corte estão apresentados nas TAB. 28, 29, 30 e 31, para os sistemas da albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina, respectivamente. Os animais são provenientes de cinco fazendas e de exposições nacionais; essa última fonte está indicada nas tabelas como fazenda XI. Nessas tabelas consta a informação se a população está em equilíbrio genético. Como na quase totalidade, as populações mostraram-se em equilíbrio para os sistemas analisados, os números esperados sob a hipótese de equilíbrio não foram colocados nas tabelas. Apenas na fazenda XI (animais de exposições), a distribuição genotípica observada no sistema de transferrina desviou-se significativamente da distribuição esperada sob a hipótese de equilíbrio. O valor do qui-quadrado de aderência, com 3 graus de liberdade, foi 12,059 ( $0,001 < P < 0,01$ ). O genótipo que mais se desviou foi  $A/D_2$ , com um excesso do número observado sobre o esperado.

O fato de a amostra de exposições não estar em equilíbrio pode ser indicativo da diversidade existente na amostra, pois ela é constituída de animais de várias fazendas e também de mais de uma geração da mesma fazenda. Existindo diferenças entre fazendas, a diversidade fica mais aparente nessa amostra, que não exhibe a estrutura populacional esperada sob a hipótese de equilíbrio genético. É curioso, porém, notar que esse mesmo efeito não foi verificado nos outros três sistemas estudados.

Os resultados dos testes estatísticos mostraram que as

seis fontes de animais do grupo de corte são heterogêneas. Os valores de qui-quadrado encontrados foram 62,07 ( $P < 0,001$ ), 17,58 ( $0,001 < P < 0,01$ ), 12,38 ( $0,02 < P < 0,05$ ) e 90,95 ( $P < 0,001$ ), para os sistemas de albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina, respectivamente. Os testes foram feitos com 5 graus de liberdade quanto aos sistemas de anidrase carbônica e hemoglobina, e com 28 graus de liberdade quanto aos sistemas de albumina e transferrina.

No sistema de albumina, os testes de qui-quadrado indicaram que a fazenda XI não foi diferente das fazendas VII, IX e X, porém, diferiu da fazenda VIII. No entanto, o teste de homogeneidade entre as quatro fazendas (VII, IX, X e XI) mostrou que elas também são heterogêneas. A fazenda VI não foi considerada devido ao seu pequeno tamanho amostral ( $n=19$ ).

No sistema de anidrase carbônica, os testes de qui-quadrado indicaram que a fazenda VI diferiu das demais, com exceção da fazenda XI. Entre as demais fazendas, os extremos representados pela fazenda VII e XI são significativamente diferentes, enquanto as fazendas VIII, IX e X não diferiram entre si e nem com relação a esses dois extremos. Com respeito à fazenda VI, deve ser mencionado o seu pequeno tamanho amostral ( $n=19$ ), dos quais nove animais eram filhos de um mesmo touro heterozigoto S/Z, o que contribuiu para o aumento do alelo  $CA^Z$  nessa população.

No sistema de hemoglobina pode-se notar, pelos testes de qui-quadrado, que a fazenda X diferiu das demais, com exceção das fazendas VII e IX, enquanto que as demais não diferiram entre si. Parece, portanto, que a frequência alta do alelo  $Hb^A$  na

fazenda X fez com que ela se desviasse das outras.

No sistema de transferrina pode-se notar, pelos testes de qui-quadrado, que há várias diferenças. A fazenda VII diferiu da IX e da XI, porém não diferiu da X e a fazenda IX diferiu da X. Esses dados não mostram nenhuma tendência em particular, mas servem para evidenciar as diferenças que existem dentro do grupo de corte. A simples observação das frequências alélicas na TAB. 31 mostra esse fato, pois a própria ordem de frequência dos alelos variou de uma fazenda para outra. Enquanto que nas fazendas VII e X a ordem é  $Tf^E > Tf^{D2} > Tf^A$ , na fazenda IX é  $Tf^{D2} > Tf^A = Tf^E$  e na fazenda XI é  $Tf^{D2} = Tf^E > Tf^A$ . A fazenda VI não está sendo considerada, devido ao seu pequeno tamanho amostral (n=16).

Considerando-se os quatro sistemas em conjunto, não se notou nenhuma distinção particular de uma ou mais fazendas com relação às demais. Essa diferença variou conforme o sistema. Contudo, as diferenças evidenciadas entre as fazendas reforçaram o resultado obtido nos testes de homogeneidade, isto é, que as fazendas que constituem o grupo de corte não são homogêneas.

**TABELA 26.** Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de albumina nas seis fazendas do grupo de corte.

Fazenda	Genótipos						Total	Equilíbrio genético
	AA	AB	AC	BB	BC	CC		
VI	0	2	0	13	3	1	19	sim
VII	0	8	1	40	22	1	72	sim
VIII	1	8	6	13	12	0	40	sim
IX	0	2	0	53	15	0	70	sim
X	0	0	0	34	23	7	64	sim
XI	0	13	4	67	36	5	125	sim
Total	1	33	11	220	111	14	390	sim
----- Frequências alélicas -----								
	<i>A<sub>1</sub>A</i>		<i>A<sub>1</sub>B</i>			<i>A<sub>1</sub>C</i>		
VI	0,0526 ± 0,0362		0,8158 ± 0,0629			0,1316 ± 0,0548		
VII	0,0625 ± 0,0202		0,7639 ± 0,0354			0,1736 ± 0,0316		
VIII	0,2000 ± 0,0447		0,5750 ± 0,0553			0,2250 ± 0,0467		
IX	0,0143 ± 0,0100		0,8786 ± 0,0276			0,1071 ± 0,0261		
X	zero		0,7109 ± 0,0401			0,2891 ± 0,0401		
XI	0,0680 ± 0,0159		0,7320 ± 0,0280			0,2000 ± 0,0253		
Total	0,0590 ± 0,0084		0,7487 ± 0,0155			0,1923 ± 0,0141		

TABELA 29. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de anidrase carbônica nas seis fazendas do grupo de corte.

Fazenda	Genótipos			Total	Equilíbrio genético
	SS	SZ	ZZ		
VI	7	11	1	19	sim
VII	60	13	1	74	sim
VIII	29	11	0	40	sim
IX	50	15	0	65	sim
X	77	28	4	109	sim
XI	64	34	3	101	sim
Total	287	112	9	408	sim
	CAS		CAZ		
	Frequências alélicas				
VI	0,6579 ± 0,0770		0,3421 ± 0,0770		
VII	0,8986 ± 0,0248		0,1014 ± 0,0248		
VIII	0,8625 ± 0,0385		0,1375 ± 0,0385		
IX	0,8846 ± 0,0280		0,1154 ± 0,0280		
X	0,8349 ± 0,0252		0,1651 ± 0,0252		
XI	0,8020 ± 0,0280		0,1980 ± 0,0280		
Total	0,8407 ± 0,0143		0,1593 ± 0,0143		

**TABELA 30.** Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de hemoglobina nas seis fazendas do grupo de corte.

Fazenda	Genótipos			Total	Equilíbrio genético
	AA	AB	BB		
VI	4	12	3	19	sim
VII	35	31	8	74	sim
VIII	14	17	9	40	sim
IX	29	35	6	70	sim
X	63	43	10	116	sim
XI	51	59	17	127	sim
Total	196	197	53	446	sim
--- Frequências alélicas ---					
	<i>H<sup>D</sup>A</i>		<i>H<sup>D</sup>B</i>		
VI	0,5263 ± 0,0810		0,4737 ± 0,0810		
VII	0,6824 ± 0,0383		0,3176 ± 0,0383		
VIII	0,5625 ± 0,0555		0,4375 ± 0,0555		
IX	0,6643 ± 0,0399		0,3357 ± 0,0399		
X	0,7284 ± 0,0292		0,2716 ± 0,0292		
XI	0,6339 ± 0,0302		0,3661 ± 0,0302		
Total	0,6603 ± 0,0159		0,3397 ± 0,0159		

TABELA 31. Distribuição genotípica observada e frequências alélicas no sistema de transferrina nas seis fazendas do grupo de corte.

Fazenda	Genótipos						Total	Equilíbrio genético
	AA	AD <sub>2</sub>	AE	D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> E	EE		
VI	1	6	5	0	2	2	16	sim
VII	2	5	13	10	23	16	69	sim
VIII	1	3	3	13	16	4	40	sim
IX	4	15	8	18	19	0	64	sim
X	0	4	8	5	38	24	79	sim
XI	1	29	14	14	43	23	124	não
Total	9	62	51	60	141	69	392	sim
----- Frequências alélicas -----								
	<i>Tf<sup>A</sup></i>		<i>Tf<sup>D<sub>2</sub></sup></i>			<i>Tf<sup>E</sup></i>		
VI	0,4062 ± 0,0868		0,2500 ± 0,0766			0,3438 ± 0,0840		
VII	0,1594 ± 0,0312		0,3478 ± 0,0405			0,4928 ± 0,0426		
VIII	0,1000 ± 0,0335		0,5625 ± 0,0555			0,3375 ± 0,0529		
IX	0,2422 ± 0,0379		0,5469 ± 0,0440			0,2109 ± 0,0361		
X	0,0760 ± 0,0211		0,3291 ± 0,0374			0,5949 ± 0,0391		
XI	0,1814 ± 0,0245		0,4033 ± 0,0312			0,4153 ± 0,0313		
Total	0,1671 ± 0,0133		0,4120 ± 0,0176			0,4209 ± 0,0176		

#### 4.3.3. Considerações gerais sobre os grupos de leite e de corte

Os resultados dos sistemas de polimorfismos bioquímicos, discutidos nos itens anteriores, indicaram claramente que cada grupo não foi homogêneo no que diz respeito às várias fazendas que o compõe. Em outras palavras, as fazendas, dentro de cada grupo, apresentaram diferenças entre si.

Apesar de o tamanho amostral de cada fazenda ser menor do que o tamanho amostral do grupo, em geral ele foi maior do que 60 animais, o que pode ser considerado um número razoável para as análises efetuadas. As diferenças observadas entre as fazendas não são, portanto, atribuídas a um problema de amostras pequenas, mas sim, devem refletir uma diferença real quanto à composição genética de algumas fazendas nos sistemas analisados.

A existência de diferenças intra-grupos é um dado importante que faz com que se tenha mais cautela na interpretação das diferenças entre grupos. Se, ao contrário, cada grupo fosse homogêneo, poder-se-ia pensar em uma razão biológica que estivesse condicionando as diferenças entre os grupos. Tal situação, entretanto, não ocorreu com clareza. As diferenças entre os grupos de leite e de corte, na raça Gir, ficaram menos sugestivas, diante das diferenças que existem dentro dos grupos.

Além das diferenças dentro dos grupos, pode-se notar algumas semelhanças entre as fazendas dos dois grupos, o que, por sua vez, enfraquece a separação entre eles.

No sistema de hemoglobina, as fazendas III e IV, do grupo de leite, apresentaram frequências do alelo  $Hb^A$  (0,66 e 0,68) similares à média do grupo de corte (0,66).

No sistema de anidrase carbônica, as fazendas II, IV e V, do grupo de leite, apresentaram frequências similares (0,86 a 0,88) do alelo  $CA^S$  em relação as fazendas VII, VIII e IX (0,86 a 0,90), do grupo de corte.

No sistema de albumina, pode-se ver que foram os alelos  $Al^B$  e  $Al^C$  que efetivamente variaram de um grupo para outro, pois enquanto a frequência do alelo  $Al^A$  foi 0,06 no grupo de leite e 0,08 no grupo de corte, a frequência de  $Al^B$  foi 0,75 e 0,85 e de  $Al^C$  foi 0,19 e 0,07, nos dois grupos, respectivamente. Tomando-se, então, os alelos  $Al^B$  e  $Al^C$ , pode-se notar semelhanças entre os grupos. Assim, a fazenda IV, do grupo de leite, foi muito parecida com a média do grupo de corte e com a fazenda XI, desse grupo.

Entretanto, alguns aspectos das comparações evidenciaram uma nitida distinção entre os grupos de leite e de corte, apesar da falta de homogeneidade intra-grupo e das semelhanças entre os grupos.

No sistema de hemoglobina, pode-se ver uma distinção entre os grupos. Com exceção das fazendas III e IV, do grupo de leite, cujas frequências alélicas assemelharam-se à média do grupo de corte, tem-se que as demais apresentaram valores inferiores a 0,50 para o alelo  $Hb^A$ , enquanto no grupo de corte os valores foram maiores do que 0,60 (exceto para duas fazendas, que tiveram um tamanho amostral menor). Isso indica que a tendência apresentada pelos grupos é de fato aquela apresentada pelas suas médias, isto é, de uma menor frequência do alelo  $Hb^A$  no grupo de leite e, conseqüentemente, uma maior frequência de  $Hb^B$ , com relação ao grupo de corte. Como o alelo  $Hb^B$  é típico de raças

zebuínas (com algumas exceções, como a raça Jersey), poder-se-ia pensar que o grupo de leite estaria se comportando mais de acordo com o que se conhece em zebuínos. Na verdade, a frequência do alelo  $HD^A$  no grupo de leite (0,53) foi muito semelhante ao valor de 0,51 obtido em um estudo de 404 animais da raça Gir criados na Índia (NAIK et al., 1969), ao contrário do grupo de corte que apresentou um valor mais alto (0,66).

No sistema de anidrase carbônica as mesmas fazendas que mostraram uma semelhança entre os grupos, delimitaram uma distinção entre eles. As fazendas II, IV e V, do grupo de leite, com frequências de 0,86 a 0,88 do alelo  $CA^S$ , representaram um limite inferior nesse grupo, pois as outras duas fazendas apresentaram valores maiores do que 0,90. No grupo de corte, as fazendas VII, VIII e IX, com frequências de 0,86 a 0,90, representaram um limite superior, pois as outras três fazendas apresentaram valores menores do que 0,85. Devido a essa composição, o grupo de corte apresentou maior frequência do alelo  $CA^Z$  em relação ao grupo de leite. O alelo  $CA^Z$  não foi estudado anteriormente na raça Gir. Em outra raça zebuína tem-se a frequência de 0,242 para esse alelo, em 120 animais da raça Nelore (PANEPUCCI, 1988). Considerando-se que o alelo  $CA^Z$  é típico de raças zebuínas, mesmo que exista em baixa frequência, sobressai o fato de que no grupo de corte ele é mais frequente do que no grupo de leite, o que poderia indicar uma identificação maior do grupo de corte com o perfil do gado Zebu.

A tendência observada para o sistema de anidrase carbônica é oposta ao que se supôs para o sistema de hemoglobina.

No sistema de albumina, conforme mencionado antes, o que distinguiu mais claramente os dois grupos foram as frequências dos alelos  $Al^B$  e  $Al^C$ . Com exceção de fazenda IV, as outras três fazendas consideradas no grupo de leite apresentaram frequências superiores a 0,84 para o alelo  $Al^B$  e inferiores a 0,06 para o alelo  $Al^C$ . A situação foi diferente no grupo de corte. Com exceção da fazenda IX, onde a frequência de  $Al^B$  foi 0,88, nas demais fazendas do grupo de corte as frequências de  $Al^B$  foram inferiores a 0,82 e as frequências de  $Al^C$  foram superiores a 0,13. Portanto, admitindo-se que o alelo  $Al^A$  teve frequências semelhantes entre os dois grupos, tem-se no grupo de leite uma frequência maior do alelo  $Al^B$  e, conseqüentemente, uma frequência menor de  $Al^C$ , em relação ao grupo de corte, com o inverso acontecendo nesse grupo. Não há dados de literatura para se comparar essa distinção entre os dois grupos com um perfil típico da raça ou de zebuínos.

Com relação ao sistema de transferrina, não se verificou nenhuma tendência em particular nas várias fazendas, pois há uma grande diversidade dentro de cada grupo. Na média, entretanto, vê-se que a frequência do alelo  $Tf^A$  foi semelhante nos dois grupos, sendo que as diferenças maiores ocorreram nas frequências dos alelos  $Tf^{D2}$  e  $Tf^E$ . No grupo de leite, a frequência desses alelos foi 0,49 e 0,33, respectivamente, enquanto que no grupo de corte as frequências dos dois alelos foram similares (0,41 e 0,42). Portanto, o grupo de corte apresentou uma maior frequência do alelo  $Tf^E$ , com conseqüente diminuição do alelo  $Tf^{D2}$ , em relação ao grupo de leite. Também para o sistema de transferrina não se encontrou dados na

literatura para comparação com essa diferença vista na raça Gir criada no Brasil.

As diferenças entre fazendas podem ser explicadas como sendo decorrentes do sistema de criação. Cada fazenda é, em grande parte, um sistema fechado de criação, onde poucos touros escolhidos deixam os descendentes da próxima geração. Esse sistema de criação pode ocasionar desvios nas frequências gênicas de uma geração para outra e, conseqüentemente, entre populações. É interessante notar, porém, que se esses desvios de fato ocorrem, eles não afetam a estrutura populacional, de cada geração, pois como foi visto, todas as fazendas e os dois grupos mostraram-se em equilíbrio genético para os quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos; a única exceção foi a fazenda XI, que não estava em equilíbrio para o sistema de transferrina, o que foi interpretado como sendo resultado da maior diversidade existente nessa amostra, que é constituída de animais de exposições. É difícil interpretar-se a demonstração de equilíbrio para as outras fazendas e para os dois grupos, pois nessas populações os acasalamentos são dirigidos, existe uma seleção artificial e uma certa taxa de fluxo gênico, além dos fenômenos não determinísticos que devem estar operando. Seria interessante verificar se a condição de equilíbrio mantém-se de uma geração para outra.

As considerações feitas até aqui evidenciaram que, apesar de haver diferenças intra-grupos e semelhanças inter-grupos, há também, diferenças nitidas entre os grupos de leite e de corte.

A distinção que foi observada entre o grupo de leite e o grupo de corte pode significar uma divergência entre eles, como resultado da prática de seleção diferente nos dois grupos. Deve ser entendido, entretanto, que o grupo de corte na verdade representa o que é chamado de criação tradicional da raça Gir, cujos padrões de seleção têm sido razoavelmente os mesmos nesses 85 anos em que a raça vem se desenvolvendo no Brasil. Caso haja uma divergência real entre os grupos, é mais razoável supor-se uma divergência do grupo de leite com relação ao padrão tradicional, pois no grupo de leite houve uma mudança substancial nos padrões de seleção, a partir dos primeiros criatórios, surgidos no início da década de 30. Nesses 50 anos de criação, que equivalem a cerca de 10 gerações de bovinos, possivelmente a seleção diferencial no grupo de leite teria produzido mudanças genéticas nesse grupo. O único sistema para o qual existem dados de animais Gir, da Índia, é o de hemoglobina e, conforme comentado antes, foi justamente o grupo de leite que mais se assemelhou às frequências alélicas dos animais da Índia.

A suposta divergência entre o grupo de leite e o de corte pode ser resultado de mais de um fator. Um deles poderia ser o que é chamado de efeito do fundador, que é explicado como o efeito casual, no estabelecimento de uma nova população, de frequências alélicas diferentes da população original. Um efeito semelhante pode ter ocorrido durante a formação dos rebanhos leiteiros. Nesse caso, porém, o fator chance é menos enfatizado porque os animais devem ter sido selecionados com base na produção de leite. Um outro fator que pode ser responsável pela mudança das frequências alélicas no grupo de leite seria

propriamente a seleção artificial praticada diferentemente nos dois grupos. Como a seleção obviamente foi praticada sobre outras características que não aquelas investigadas no presente trabalho, a ocorrência desse efeito estaria indicando algum tipo de associação entre os marcadores genéticos estudados e as características selecionadas, nesse caso, produção de leite e de gordura. Conforme mencionado anteriormente, essas associações podem resultar de pleiotropia, de ligação entre locos ou de superioridade do heterozigoto (JOHANSSON & RENDEL, 1968). Alguns autores consideraram pouco provável que esse tipo de associação ocorra com características tais como a produção de leite e de gordura, que são características fisiologicamente complexas, condicionadas por muitos genes e grandemente influenciadas pelo ambiente (NEIMANN-SORENSEN & ROBERTSON, 1961; JOHANSSON & RENDEL, 1968). Um outro efeito que pode estar operando é apenas o efeito do acaso, particularmente quando as populações são de tamanho limitado.

Os resultados obtidos no presente trabalho não permitiram concluir-se sobre o significado biológico das diferenças entre os grupos. Essas diferenças tanto podem significar o resultado da seleção praticada como também podem ser resultado de processos casuais. Estudos posteriores em novas gerações dos rebanhos de leite e de corte poderão avaliar se as mesmas tendências estão se repetindo, a fim de respaldar uma conclusão mais definitiva. O estudo dos tipos sanguíneos da raça Gir criada na Índia e de outras raças zebuínas do Brasil e da Índia, será bastante útil para comparações entre raças e

avaliação das diferenças nas duas variedades da raça Gir criadas no Brasil.

#### 4.4. Resultados da raça Gir como um todo

Os resultados para a raça Gir estão apresentados nas TAB. 32 a 35, para as várias características estudadas.

Os comentários sobre esses dados e comparação com os da literatura já foram feitos durante a apresentação dos resultados para os dois grupos e não serão repetidos aqui.

Foram feitos testes de qui-quadrado de aderência, quanto aos sistemas de polimorfismos bioquímicos, para verificar se a população da raça como um todo estava de acordo com o esperado pela hipótese de equilíbrio. Os valores de qui-quadrado obtidos foram todos não significativos, indicando que a amostra estudada da raça Gir encontrava-se em equilíbrio para os locos da albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina. É interessante notar que, se os dois grupos fossem muito diferentes, seria provável que a análise em conjunto levasse à não conformidade com a estrutura populacional sob equilíbrio. Também é interessante notar que, a despeito do agrupamento de alelos que teve que ser feito no sistema de transferrina (pela não resolução das variantes Tf B e Tf F), não houve nenhum distúrbio a nível da estrutura populacional verificada sob a hipótese de equilíbrio, para os dois grupos e para a raça como um todo.

TABELA 32. Número médio de fatores sanguíneos na raça Gir.

----- Sistemas -----			
	B (17) <sup>1</sup>	Todos-B (16)	Todos (33)
X ± ep	7,034 ± 0,078	7,910 ± 0,052	14,944 ± 0,095

1: entre parenteses está indicado o número de fatores testados.

TABELA 33. Frequência dos fatores sanguíneos na raça Gir<sup>1</sup>.

Sist.	Fator	Freq.	Sist.	Fator	Freq.	
A	A <sub>1</sub>	0,911	C	R <sub>1</sub>	0,320	
	H	0,887		W	0,625	
	Z'	0,359		X <sub>1</sub>	0,913	
B	B <sub>1</sub>	0,714	F	F <sub>1</sub>	0,928	
	G <sub>2</sub>	0,431		V <sub>1</sub>	0,017	
	I <sub>1</sub>	0,462		V <sub>2</sub>	0,101	
	K	0,191	J	J	0,214	
	O <sub>1</sub>	0,464		L	L	0,752
	Q	0,504	M		M'	0,170
	T <sub>1</sub>	0,274		S	U <sub>1</sub>	0,186
	Y <sub>2</sub>	0,729	U'		0,257	
	B'	0,567	H''		0,277	
	D'	0,253	Z	Z	0,995	
	E' <sub>2</sub>	0,507				
	I' <sub>2</sub>	0,172				
	J'	0,150				
	O'	0,219				
P'	0,538					
Q'	0,648					
B''	0,239					

1: n=921, exceto para os fatores B<sub>1</sub>, O<sub>1</sub>, D', I', J' e L, cujos números foram 768, 846, 815, 771, 916 e 903, respectivamente.

TABELA 34. Frequências dos fenogrupos do sistema B na raça Gir.

Fenogrupo	Freq.	Fenogrupo	Freq.
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Q(P')	0,0430	B <sub>1</sub> P'B"	0,0039
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> QY <sub>2</sub> (P')	0,0007	G <sub>2</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	0,0228
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	0,0020	G <sub>2</sub> QI'Q'B"	0,0072
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ	0,0098	G <sub>2</sub> QJ'O'(P')	0,0007
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQJ'O'	0,0104	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	0,0678
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQO'	0,0150	G <sub>2</sub> I'Q'	0,0039
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQ(Y <sub>2</sub> )P'	0,0007	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> QB'E' <sub>2</sub> Q'	0,0013
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KQQ'	0,0007	I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> Q'	0,1402
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> KY <sub>2</sub> E' <sub>2</sub> O'	0,0104	I <sub>1</sub> QE' <sub>2</sub> Q'	0,0254
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	0,0469	I <sub>1</sub> J'O'P'Q'B"	0,0026
B <sub>1</sub> G <sub>2</sub> (Y <sub>2</sub> B')D'O'B"	0,0020	I <sub>1</sub> P'Q'B"	0,0515
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> P'Q'	0,0065	O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> Q'	0,0137
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	0,0052	QB'P'	0,0306
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	0,0124	QE' <sub>2</sub>	0,0033
B <sub>1</sub> O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	0,0169	QE' <sub>2</sub> Q'	0,0020
(B <sub>1</sub> )O <sub>1</sub> P'B"	0,0046	QQ'	0,0052
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> B'P'	0,0860	Y <sub>2</sub>	0,0554
B <sub>1</sub> QT <sub>1</sub> E' <sub>2</sub> P'	0,0411	Y <sub>2</sub> B'D'	0,0020
B <sub>1</sub> QO'P'B"	0,0020	Y <sub>2</sub> D'I'	0,0235
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>2</sub> P'	0,0156	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'	0,0020
B <sub>1</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> D'E' <sub>2</sub> O'	0,0039	Y <sub>2</sub> D'J'O'Q'B"	0,0020
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	0,0026	(Y <sub>2</sub> )J'O'	0,0007
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'(P')	0,0469	Y <sub>2</sub> I'	0,0046
B <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> I'	0,0189	Y <sub>2</sub> I'Q'	0,0039
(B <sub>1</sub> )Y <sub>2</sub> O'P'B"	0,0039	B'Q'	0,0150
B <sub>1</sub> D'E' <sub>2</sub> Q'	0,0489	I'	0,0241
B <sub>1</sub> D'I'	0,0020	P'B"	0,0026
nd <sup>1</sup>	0,0222	-	zero
Total:		0,9991	

1: nd = não determinado.

TABELA 35. Frequências alélicas nos sistemas F, J, L, H e Z, de grupos sanguíneos e nos sistemas Al, CA, Hb e Tf, de polimorfismos bioquímicos, na raça Gir.

Sist.	Alelo	Frequência	Sist.	Alelo	Frequência
F	$F^{F1}$	0,7371 ± 0,0160	Al	$Al^A$	0,0705 ± 0,0064
n=903	$F^V$	0,0612 ± 0,0057	n=801	$Al^B$	0,8003 ± 0,0099
	$F^f$	0,2017 ± 0,0163		$Al^C$	0,1292 ± 0,0084
J	$J^J$	0,1134 ± 0,0076	CA	$CA^F$	zero
n=921	$J^j$	0,8866 ± 0,0076	n=808	$CA^S$	0,8750 ± 0,0082
				$CA^Z$	0,1250 ± 0,0082
L	$L^L$	0,5019 ± 0,0144	Hb	$Hb^A$	0,5967 ± 0,0117
n=903	$L^l$	0,4981 ± 0,0144	n=884	$Hb^B$	0,4033 ± 0,0117
H	$H^{H'}$	0,0892 ± 0,0068	Tf	$Tf^A$	0,1727 ± 0,0095
n=921	$H^{H''}$	0,9108 ± 0,0068	n=799	$Tf^{D1}$	zero
Z	$Z^Z$	0,9263 ± 0,0164		$Tf^{D2}$	0,4524 ± 0,0124
n=921	$Z^z$	0,0737 ± 0,0164		$Tf^E$	0,3749 ± 0,0121

#### 4.5. Coeficiente de heterozigosidade

O coeficiente de heterozigosidade por loco e o coeficiente de heterozigosidade média foram calculados nos grupos de leite e de corte, e na raça Gir como um todo. Os resultados estão apresentados na TAB. 36. Para essas estimativas, foram considerados todos os sistemas em que foi possível calcular-se as frequências alélicas, quais sejam, os sistemas de grupos sanguíneos B, F, J, L, M e Z, e os quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos Al, CA, Hb e Tf. Na tabela estão apresentados os coeficientes médios calculados com relação a todos os dez locos, bem como com relação aos locos de grupos sanguíneos e aos de polimorfismos bioquímicos, separadamente.

O coeficiente de heterozigosidade é uma medida de variação genética presente nas populações. O coeficiente de homozigosidade e o coeficiente de heterozigosidade são complementares em 100%. NEI (1973) sugeriu o uso dos termos diversidade genética e identidade genética, respectivamente, para o coeficiente de heterozigosidade e o coeficiente de homozigosidade, quando se tratar de população onde os acasalamentos não são ao acaso. No presente trabalho, optou-se pelo uso dos termos tradicionais.

O coeficiente de heterozigosidade é uma medida da variação genética presente nas populações, desde que, alguns critérios sejam satisfeitos: "1) diferenças fenotípicas causadas por substituições alélicas em um loco simples devem ser detectáveis nos indivíduos; 2) substituições alélicas em um loco devem ser distinguíveis de substituições em outros locos; 3) uma

porção substancial (idealmente, toda) das substituições alélicas devem ser distinguíveis uma das outras; 4) os locos estudados devem ser uma amostragem não viciada do genoma com respeito aos efeitos fisiológicos e grau de variação" (HUBBY & LEWONTIN, 1966).

No presente trabalho, esses critérios não foram satisfeitos. Em primeiro lugar, o próprio conceito de grupos sanguíneos pressupõe que haja variabilidade entre os indivíduos. E bem verdade, que determinadas populações ou raças poderiam mostrar-se monomórficas em um dado loco de grupos sanguíneos. Na espécie humana, entretanto, LEWONTIN (1974, p. 153) menciona que não se conhecia nenhum caso de fixação entre 34 alelos de grupos sanguíneos. Em bovinos, também não se tem conhecimento da fixação de algum alelo de grupo sanguíneo em alguma raça. Assim, os locos de grupos sanguíneos não podem ser considerados uma amostra não viciada do genoma (HUBBY & LEWONTIN, 1966). Em segundo lugar, os locos de polimorfismos bioquímicos foram escolhidos para esse estudo de caracterização da raça Gir, justamente por serem polimórficos em bovinos.

O objetivo de se calcular tais coeficientes no presente trabalho não pode ser, portanto, o de se obter uma medida da variação genética como uma maneira de se inferir sobre o genoma como um todo. O objetivo foi o de se dispor de mais uma medida de caracterização da raça Gir, pelos marcadores genéticos estudados, para comparação entre os grupos e com dados da literatura.

Os valores apresentados na TAB. 36 mostram alguns aspectos interessantes.

O mais notável é o alto grau de heterozigosidade

exibido pelo sistema B de grupos sanguíneos, da ordem de 93,1%. Isso se deve ao grande número de alelos que existem nesse loco; conforme relatado anteriormente, no presente trabalho foram identificados 54 fenogrupos (alelos) na amostra da raça Gir estudada. Para esse tipo de loco altamente variável, BAKER & MANWELL (1983, p. 381) utilizaram o termo polimorfismo permutialélico, diferenciando dos polimorfismos multialélicos, classicamente definidos. Nos demais sistemas de grupos sanguíneos, pode-se ver que, na raça como um todo, o mais variável foi o sistema L, e o menos variável foi o sistema Z. A medida do grau de heterozigosidade dos sistemas de grupos sanguíneos deve levar em consideração que, devido às relações de dominância e recessividade que existem nesses locos, nem toda heterozigosidade é visível no fenótipo. Os valores obtidos nesses sistemas representam, portanto, uma superestimativa daquilo que pode ser detectado na população.

Entre os sistemas de polimorfismos bioquímicos, o que exibiu mais heterozigosidade foi o sistema de transferrina, seguido da hemoglobina.

A comparação da heterozigosidade exibida pelos grupos de leite e de corte não mostrou nenhuma diferença notável, exceto para o sistema Z, onde o coeficiente foi duas vezes maior no grupo de corte, e para os sistemas de albumina e anidrase carbônica, onde o coeficiente do grupo de corte foi, pelo menos, 0,10 unidade maior. Na média, entretanto, os valores entre os dois grupos foram praticamente iguais. O grau de heterozigosidade média vista separadamente para os grupos sanguíneos e para os

sistemas protéicos foi semelhante entre os grupos.

SINGH et al. (1981) relataram coeficientes de heteroziguidade (chamando de diversidade genética) em oito raças zebuínas da Índia, entre elas a Gir, quanto a oito sistemas de polimorfismos bioquímicos. Somente três sistemas têm correspondência no presente trabalho. Os valores de 0,232, 0,498 e 0,681, para os sistemas da albumina, hemoglobina e transferrina são razoavelmente próximos daqueles mostrados na TAB. 36, para a raça Gir como um todo. Entre os dois grupos, vê-se que os coeficientes do grupo de leite são mais próximos dos valores relatados por SINGH et al. (1981), quanto aos sistemas da albumina e hemoglobina. Para o sistema da transferrina, os dois grupos mostram valores próximos, porém, menores do que os daquele estudo. O coeficiente de heteroziguidade média para as oito raças estudadas variou de 0,196 a 0,336, sendo 0,304 na raça Gir. No presente trabalho, o valor para a raça Gir foi 0,402.

É interessante comparar-se o valor de 0,402 relativo aos dez sistemas estudados no presente trabalho, com o valor de 0,067 relatado por HARRIS & HOPKINSON (1972), na espécie humana, relativo a 71 locos (dos quais apenas 20 eram polimórficos). Nesse trabalho, contudo, os autores preocuparam-se em estudar uma amostragem casual do genoma, visto através de vários sistemas protéicos. Mesmo desconsiderando-se os locos não polimórficos, o valor seria menor do que aquele obtido no presente trabalho.

**TABELA 36.** Coeficiente de heterozigosidade por loco e coeficiente de heterozigosidade média nos grupos de leite e de corte, e na raça Gir como um todo, em seis sistemas de grupos sanguíneos e quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos.

Sistema	Grupo		Raça Gir
	Leite	Corte	
B	0,9461	0,9314	0,9462
F	0,4456	0,3739	0,4123
J	0,2360	0,1625	0,2011
L	0,4980	0,4970	0,5000
M	0,1702	0,1544	0,1625
Z	0,0876	0,1715	0,1365
A1	0,2674	0,3990	0,3379
CA	0,1638	0,2679	0,2188
Hb	0,4980	0,4486	0,4813
Tf	0,6176	0,6252	0,6250
Média	0,3930	0,4031	0,4022
Média grup. sanguíneos	0,3973	0,3818	0,3931
Média polimorf. bioquímicos	0,3867	0,4352	0,4157

## 5. CONCLUSÕES

Uma grande quantidade de polimorfismo genético ocorre na raça Gir. Essa variabilidade pode ser vista nos nove sistemas de grupos sanguíneos e quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos que foram investigados no presente trabalho.

A comparação entre os grupos de leite e de corte mostrou que existem diferenças estatisticamente significativas entre eles, quanto a várias características estudadas. Entretanto, a análise efetuada deixou dúvidas quanto à interpretação desses resultados. Se tais diferenças refletem mais diretamente uma divergência que teria ocorrido entre os dois grupos devido à seleção artificial diferente que foi praticada sobre eles, ou, se refletem, em certa parte, um problema amostral, ainda está por ser decidido. Provavelmente, com base na literatura citada, se essas diferenças forem reais, elas devem indicar muito mais um efeito de formação dos rebanhos leiteiros, do que propriamente uma associação desses polimorfismos com as características de produção de leite ou de carne.

Os dados obtidos no presente trabalho revelaram vários aspectos peculiares à raça Gir, quando comparados com as raças taurinas.

Nos grupos sanguíneos foi notável a ocorrência, em alta frequência, do fator  $X_1$  e do alelo  $z^Z$ , o que não havia sido registrado em raças taurinas. Essa alta frequência pode indicar uma quase fixação dos alelos correspondentes na raça Gir. O estudo de animais Gir da Índia permitirá verificar se esses alelos estão fixados na população original e se a presença do

alelo negativo na presente amostra resultou de eventuais cruzamentos com animais de sangue taurino.

No sistema F houve uma predominância do fator  $V_2$  sobre  $V_1$ , sendo que este último foi observado apenas no grupo de leite. Em raças taurinas ocorre o oposto. A ausência de  $V_1$  no grupo de corte pode indicar que esse fator (ou o alelo correspondente) estaria de fato ausente na raça Gir e que sua introdução no grupo de leite teria ocorrido devido a cruzamentos com raças taurinas. A comparação com dados da raça Gir da Índia tornará possível a verificação dessa hipótese.

No sistema F vale a pena ressaltar também, a ocorrência do alelo negativo,  $F^f$ , descrito em raças zebuínas da África do Sul. Apesar de haver divergências na literatura quanto à sua existência, não há dúvidas de que esse alelo, que não é  $F^{F1}$ ,  $F^{V1}$  e nem  $F^{V2}$ , existe em frequências apreciáveis na raça Gir.

Outro dado interessante observado foi a não ocorrência de animais com fenótipo negativo no sistema B, o que levou à suposição da inexistência do alelo  $B^D$  na raça Gir ou a sua existência em frequência muito baixa. Pode-se aventar que isso ocorra nas demais raças zebuínas, em contraposição ao que se conhece nas raças taurinas. Nessas últimas, os trabalhos da literatura indicam a ocorrência do fenogruppo negativo, muitas vezes em frequências apreciáveis.

Os fenogruppos do sistema B encontrados na raça Gir, em número de 54, evidenciam o alto grau de polimorfismo desse sistema nessa raça, pois, apesar do número limitado de reagentes empregados no presente trabalho, um número grande de fenogruppos foi encontrado.

Ainda com relação aos grupos sanguíneos, deve ser mencionado também a maior frequência do alelo  $L^L$  na raça Gir, quando comparada com os dados da literatura para as raças taurinas.

No sistema de albumina, ao contrário do que ocorre nas raças taurinas polimórficas para esse loco, o alelo  $Al^A$  mostrou-se com frequência muito baixa (0,0705). A variante  $Al^C$ , que não tem sido relatada para as raças taurinas, ocorreu com frequência apreciável na raça Gir, confirmando que essa variante também é um marcador genético de zebuínos. Nesse sistema foi observada uma zona de albumina com padrão de migração mais lento do que a  $Al^C$ , ainda não descrita na literatura. A observação desse padrão em apenas um animal (em heterozigose) e a impossibilidade de acompanhar essa variante em seus ascendentes ou descendentes, não é uma prova definitiva, mas é uma evidência da existência de uma nova variante de albumina na raça Gir.

No sistema de anidrase carbônica ocorreram as variantes  $CA^S$ ,  $CA^Z$  e  $CA^{S\text{Sahiwal}}$ . A não ocorrência da variante  $CA^F$ , foi um dado interessante, que levou à suposição de uma distinção nítida no polimorfismo apresentado por zebuínos e taurinos nesse loco, onde os zebuínos seriam polimórficos para as variantes  $CA^S$  e  $CA^Z$ , e os taurinos seriam para  $CA^S$  e  $CA^F$ , sendo a variante  $CA^S$  aquela que predomina nos dois grupos raciais. A variante  $CA^{S\text{Sahiwal}}$  não está sendo incluída nessa distinção, pois existe a possibilidade de ser a mesma  $CA^{S\text{Piedmont}}$  descrita em raça da Itália.

No sistema de hemoglobina sobressaem as frequências

intermediárias das duas variantes que ocorrem nessa raça, Hb A e Hb B, dado já relatado na literatura para a raça Gir e outras raças zebuínas. A não ocorrência de outra variante concorda com outros estudos mencionados na revisão de literatura.

Para o sistema de transferrina, um dado relevante foi a não ocorrência da variante Tf D<sub>1</sub>, normalmente relatada em raças taurinas. Apesar de a técnica não ter permitido uma resolução adequada para a Tf F em todos os animais, foi possível detectar-se sua presença bem como supor-se que sua frequência seja maior do que a Tf D<sub>2</sub>, com quem foi agrupada.

Os resultados obtidos neste trabalho representam o primeiro passo para um conhecimento desses marcadores do sangue na raça Gir. A utilização de reagentes adicionais, para a identificação de outros fatores conhecidos complementarará as informações sobre a raça, particularmente sobre os fenogrupos dos sistemas de grupos sanguíneos mais complexos, como B, C e S. No sistema F, a utilização de uma bateria completa de reagentes, particularmente quanto aos subtipos de F e de V, será útil para esclarecer sobre a existência do alelo negativo nessa raça.

Os resultados do presente trabalho representam também o primeiro passo para a realização de estudos mais abrangentes sobre marcadores genéticos do sangue de raças zebuínas criadas no Brasil, com o objetivo de se verificar as relações filogenéticas entre as várias raças zebuínas e destas com as raças taurinas.

## 6. RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar, por meio de marcadores genéticos do sangue, a raça zebuina Gir criada no Brasil, avaliando as diferenças entre as variedades leiteira e de corte. Foram feitos testes serológicos para trinta e três especificidades antigênicas, referentes a nove sistemas de grupos sanguíneos (A, B, C, F, J, L, M, S e Z) e testes eletroforéticos em gel de amido, para quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos (albumina, anidrase carbônica, hemoglobina e transferrina). A amostra consistiu de 922 animais, sendo 476 do grupo de leite e 446 do grupo de corte, além de 358 descendentes incluídos na análise de determinação dos fenogrupos do sistema B.

As comparações entre os grupos de leite e de corte revelaram várias diferenças significativas entre eles, tais como, quanto ao número médio de fatores sanguíneos e quanto às frequências alélicas nos sistemas F, J, L, A<sub>1</sub>, CA, Hb e Tf. Os grupos não foram diferentes quanto às frequências alélicas dos sistemas M e Z. A interpretação dessas diferenças entre os grupos foi prejudicada pela observação de diferenças intra-grupo e semelhanças inter-grupos, vistas na análise de quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos.

O número médio de fatores sanguíneos apresentado pela raça Gir foi 14,9, valor superior ao das raças taurinas. Foram identificados 54 fenogrupos no sistema B; o alelo B<sup>b</sup> não foi observado. Foram notáveis as altas frequências dos fatores A<sub>1</sub> e H (maior que 85%) e X<sub>1</sub> (91%), e do alelo Z<sup>Z</sup> (93%). A ocorrência do alelo F<sup>f</sup>, é discutida levando-se em conta o questionamento sobre

a sua existência.

Nos polimorfismos bioquímicos destacou-se a não ocorrência de variantes raras no sistema de hemoglobina, a não ocorrência das variantes CA F e Tf D<sub>1</sub> e a ocorrência de Al C, CA Ssahiwal, Tf B e Tf F.

O coeficiente de heterozigosidade, medido em dez locos, foi 0,40, sendo 0,39 nos seis sistemas de grupos sanguíneos e 0,42 nos quatro sistemas de polimorfismos bioquímicos.

A amostra da raça Gir como um todo, bem como dos grupos de leite e de corte, separadamente, mostraram-se em equilíbrio genético, o que foi verificado nos sistemas F, Al, CA, Hb e Tf.

Os resultados obtidos evidenciam as diferenças da raça Gir com relação às raças taurinas, além das semelhanças com relação às raças zebuínas da África. A insuficiência de dados sobre raças zebuínas de origem indiana abre caminhos para novos estudos que permitam comparar tais dados com os do presente trabalho.

## 7. SUMMARY

The purpose of this study was to characterize by means of blood genetic markers, the Gyr breed raised in Brazil, as well as to evaluate the differences between dairy and beef herds within this breed. Serological tests for 33 specificities of 9 blood group systems (A, B, C, F, J, L, S, M and Z) and starch gel electrophoresis for albumin, carbonic anhydrase, hemoglobin and transferrin systems were done. A total of 922 animals were analysed, and of those 476 were classified as dairy cattle and 446 as beef cattle. In addition to that, 358 offsprings were typed for the purpose of phenogroup determination in the B system.

The comparison between dairy and beef groups within the Gyr breed revealed differences with respect to the average number of blood factors and allelic frequencies in F, J, L, Al, CA, Hb and Tf systems. The groups were not different regarding allelic frequencies in M and Z systems. The interpretation of these differences between groups was impaired by the observation of intra-group differences and inter-group similarities, which were seen by the analysis of biochemical polymorphisms.

The average number of blood factors showed by the Gyr breed was 14.9, which is higher than the values described for the European breeds. In the B system, 54 phenogroups were identified; the allele  $B^d$  was not observed in the sample. High frequencies were seen for factors  $A_1$  and H (more than 85%) and  $X_1$  (91%), and for the allele  $Z^Z$  (93%). The occurrence of allele  $F^f$  was discussed, considering the controversy about its existence.

In the biochemical polymorphisms, it can be pointed out the absence of rare variants in the Hb system, the absence of variants CA F and Tf D<sub>1</sub>, and the occurrence of Al C, CA S<sub>Sahiwal</sub>, Tf B and Tf F.

The heterozygosity coefficient, measured over ten loci, was 0.40. The coefficient for six blood group loci was 0.39 and for the four biochemical polymorphisms was 0.42

The sample of the Gyr breed as a whole, as well as the dairy and beef groups, were in agreement with genetic equilibrium, for systems F, Al, CA, Hb and Tf.

The results of this study showed several differences between the Gyr and European breeds as well as similarities with Zebu breeds from Africa. The lack of information on Indian Zebu cattle calls for new studies which will make possible the comparison with the present data.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABE, T., K. MOGI, T. OISHI, K. TANAKA & S. SUZUKI, 1972. Blood protein polymorphism of the native cattle, horses and pigs in Eastern Asia. Proc. XIIth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph., Budapest, p. 225-228.
- ABREU-FILHO, M. S., R. G. SILVA & F. G. LEITE, 1982. Haemoglobin polymorphism in Brazilian Nelore cattle. R. bras. Genét. / Braz. J. Genet. 5:345-352.
- ASHTON, G. C., 1958. Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle. Nature 182:370-372.
- ASHTON, G. C., 1959. Beta-globulin alleles in some Zebu cattle. Nature 184:1135-1136.
- ASHTON, G. C., 1964. Serum albumin polymorphism in cattle. Genetics 50:1421-1426.
- ASHTON, G. C. & G. H. LAMPKIN, 1965. Serum albumin and transferrin polymorphism in East African cattle. Nature 205:209-210.
- ASHTON, G. C., G. W. SEIFERT & J. FRANCIS, 1968. An association between serum amylase phenotype and tick infestation in cattle. Aust. J. Biol. Sci. 21:303-308.
- ASHTON, G. C. & R. W. HEWETSON, 1969. Transferrins and milk production in dairy cattle. Anim. Prod. 11:533-542.
- ASTOLFI, P., G. PAGNACCO & C. R. GUGLIELMINO-MATESSI, 1983. Phylogenetic analysis of native Italian cattle breeds. Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie 100:87-100.
- AUDITORE, K. & C. STORMONT, 1978. The cell surface distribution of alloantigens on the bovine erythrocyte. Immunogenetics 6:547-552.
- BAKER, C. M. A., 1982. The use of genetic relationships among cattle breeds in the formulation of rational breeding policies: A re-examination of the example of the South Devon and the Gelbvieh. Anim. Blood Grps biochem. Genet. 13:199-212.
- BAKER, C. M. A. & C. MANWELL, 1980. Chemical classification of cattle. 1. Breed groups. Anim. Blood Grps biochem. Genet. 11:127-150.
- BAKER, C. M. A. & C. MANWELL, 1983. Electrophoretic variation of erythrocyte enzymes of domesticated mammals. In: Red blood cells of domestic mammals. Edited by N. S. Agar and P. G. Board. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, p. 367-412.
- BANGHAM, A. D. & B. S. BLUMBERG, 1958. Distribution of electrophoretically different haemoglobins among some cattle

- breeds of Europe and Africa. *Nature* 181:1551-1552.
- BEIGUELMAN, B., 1981. *Genética médica. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações.*, São Paulo, EDART, 2.ed., 489 p.
- BEIGUELMAN, B., 1983. *Farmacogenética e sistemas sanguíneos eritrocitários.* Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 192 p.
- BEIGUELMAN, B., 1988. *Curso prático de Bioestatística.* Ribeirão Preto, *Revista Brasileira de Genética*, 231 p.
- BICALHO, H. M. S., 1985. *Grupos sanguíneos e polimorfismos de proteínas do sangue da raça Caracu (*Bos taurus taurus*). Análise populacional.* Belo Horizonte, FMV/UFG, 114 p. (Dissertação de mestrado).
- BOUW, J., 1960. The genetical composition of the Dutch cattle breeds as determined by the frequencies of bloodgroups. *Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie* 74:248-266.
- BOUW, J., C. BUYS & I. SCHREUDER, 1974. Further studies on the genetic control of the blood group system C of cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 5:105-114.
- BRAEND, M., 1959. *Blood groups of cattle in Norway. Serological and genetical studies.* Thesis, Skandinavisk Bladforlag, 143 p.
- BRAEND, M., 1963. Estimation of gene frequencies in the B system of cattle. *Immunogenet. Lett.*, : 43-48.
- BRAEND, M., 1971. Haemoglobin variants in cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 2:15-21.
- BRAEND, M., 1972. Studies on the relationships between cattle breeds in Africa, Asia and Europe: evidence obtained by studies of blood groups and protein polymorphisms. *World Rev. Anim. Prod.* 8:9-14.
- BRAEND, M., 1975. Blood group structure of Norwegian Red cattle (NRF). *Acta Agric. Scand.* 25:103-108.
- BRAEND, M., 1979. Blood groups of Nigerian cattle. Comparative aspects. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 10:49-56.
- BRAEND, M., J. RENDEL, B. GAHNE & S. ADALSTEINSSON, 1962. Genetic studies on blood groups, transferrins and hemoglobins in Icelandic cattle. *Hereditas* 48:264-283.
- BRAEND, M. & G. EFREMOV, 1964. Polymorphism of albumin in farm animals. *Proc. Vth International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination* 7:401-403.
- BRAEND, M. & G. EFREMOV, 1965. Polymorphism of cattle serum albumin. *Nord. Vet. Med.* 17:585-588.
- BRAEND, M., G. EFREMOV & A. RAASTAD, 1965. Genetics of bovine

hemoglobin D. *Hereditas* 54:255-259.

- BRAEND, M. & N. D. KHANNA, 1967. Serum transferrins of Norwegian Red cattle. *Acta Vet. Scand.* 8:150-156.
- BRAEND, M. & N. D. KHANNA, 1968. Haemoglobin and transferrin types of some West African cattle. *Anim. Prod.* 10:129-134.
- BREWER, G. J., 1970. An introduction to isozyme techniques. New York, Academic Press, 186 p.
- CARR, W. R., 1966. Serum albumin polymorphism of some breeds of cattle in Zambia. *Proc. Xth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph.*, Paris, p. 293-297.
- CARR, W. R., J. B. CONDY & P. M. BURROWS, 1966. Transferrin polymorphism of indigenous cattle in Rhodesia and Zambia. *Anim. Prod.* 8:59-64.
- CARTWRIGHT, T. C., 1980. Prognosis of Zebu cattle: research and application. *J. Anim. Sci.* 50: 1221-1226.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. & W. F. BODMER, 1971. The genetics of human populations. San Francisco, W. H. Freeman.
- CONNELLY, P. M. & W. H. STONE, 1965. Association between a blood group and butterfat production in dairy cattle. *Nature* 206:115.
- CROCKETT, J. R., M. KOGER & H. L. CHAPMAN, 1963. Genetic variation in hemoglobins of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 22:173-176.
- CUNNINGHAM, E. P., 1976. Current developments in the genetics of livestock improvement. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 7:191-200.
- DATTA, S. P., W. H. STONE, W. J. TYLER & M. R. IRWIN, 1965. Cattle transferrins and their relation to fertility and milk production. *J. Anim. Sci.* 24:313-318.
- DI STASIO, L., G. SARTORE & C. GINANNI, 1980. Antigen and protein polymorphism in Somali zebu cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 11: 229-234.
- DOBZHANSKY, T., 1973. *Genética do processo evolutivo*. Trad. de C. A. Mourão, São Paulo, Polígono, 453 p.
- DUNIEC, M., K. STAWARZ, C. BUYS & J. BOUW, 1973. A closed system within blood group locus C of cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 4:185-186.
- EFREMOV, G. & M. BRAEND, 1965. Differences in cattle globins. *Biochem. J.* 97:867-869.
- ELANDT-JOHNSON, R. C., 1971. Probability models and statistical

**methods in Genetics.** New York, John Wiley & Sons, 592 p.

- ELLIOT, R. A. & L. C. FERGUSON, 1956. The incidence of antigen J in cattle and the production of anti-J by isoimmunization. *J. Immunol.* 76:78-82.
- ERSKINE, A. G. & W. W. SOCHA, 1978. *The principles and practice of blood grouping.* Saint Louis, C. V. Mosby, 424 p.
- FERGUSON, A., 1980. *Biochemical systematics and evolution.* London, Blackie, 194 p.
- FERGUSON, L. C., 1941. Heritable antigens in the erythrocyte of cattle. *J. Immunol.* 40:213-242.
- FERGUSON, L. C., C. STORMONT & M. R. IRWIN, 1942. On additional antigens in the erythrocytes of cattle. *J. Immunol.* 44:147-164.
- FIorentINI, A., M. BRAEND & R. M. MZEE, 1980. Red cell blood groups of East African Zebu cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 11:43-47.
- FRIEND, J. B., 1978. *Cattle of the world.* Poole, Blandford Press, 198 p.
- GAHNE, B., 1961. Studies of transferrins in serum and milk of Swedish cattle. *Anim. Prod.* 3:135-145.
- GAHNE, B., J. RENDEL & O. VENGE, 1960. Inheritance of beta-globulins in serum and milk from cattle. *Nature* 186:907-908.
- GROSCLAUDE, F., G. GUERIN & G. HOULIER, 1979. The genetic map of the B system of cattle blood groups as observed in French breeds. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 10:199-218.
- GROSCLAUDE, F., M. T. ALAUX, G. HOULIER & G. GUERIN, 1981a. The C system of cattle blood groups. 1. Additional factors in the system. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 12:7-14.
- GROSCLAUDE, F., M. T. ALAUX, G. HOULIER & G. GUERIN, 1981b. The C system of cattle blood groups. 2. Partial genetic map of the system. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 12:15-21.
- GROSCLAUDE, F., J. LEFEBVRE & G. NOE, 1983. Nouvelles précisions sur la carte génétique du système de groupes sanguins B des bovins. *Génét. Sél. Evol.* 15:45-54.
- HAENLEIN, G. F. W., H. C. HINES & J. P. ZIKAKIS, 1980. Frequency distribution of genetic markers in Guernsey cattle. *J. Dairy Sci.* 63:1145-1153.
- HALL, J. G. & D. S. ROSS, 1981. Evidence for the presence of an additional allele in the F system of British Friesian cattle blood. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 12:229-240.

- HAN, S. K. & S. SUZUKI, 1976. Studies on hemoglobin variants in Korean cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 7:21-25.
- HARGROVE, G. L., C. A. KIDDY, C. W. YOUNG, A. G. HUNTER, G. W. TRIMBERGER & R. E. MATHER, 1980. Genetic polymorphisms of blood and milk and reproduction in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 63:1154-1166.
- HARRIS, H. & D. A. HOPKINSON, 1972. Average heterozygosity per locus in man: an estimate based on the incidence of enzyme polymorphisms. *Ann. Hum. Genet.* 36:19-20.
- HINES, H. C., C. L. TROWBRIDGE & G. L. ZINK, 1976. Removal of blood group determinants from bovine erythrocyte membranes. 3. Action of proteolytic enzymes on intact cells. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 7:91-99.
- HUBBY, J. L. & R. C. LEWONTIN, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54:577-594.
- HUISMAN, T. H. J., 1966. Hemoglobin types in some domestic animals. *Proc. Xth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Genet.*, Paris, p. 61-75.
- IRWIN, M. R., 1939. A genetic analysis of species differences in *Columbidae*. *Genetics* 24:709-721.
- IRWIN, M. R., 1974. Comments on the early history of immunogenetics. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 5:65-84.
- JAMIESON, A., 1965. The genetics of transferrins in cattle. *Heredity* 20:419-441.
- JOHANSSON, I. & J. RENDEL, 1968. *Genetics and animal breeding*. San Francisco, W. H. Freeman, 489 p.
- JORGE, W., 1974. Chromosome studies of some breeds of cattle. *Caryologia* 27:325-329.
- KIDD, K. K. & L. L. CAVALLI-SFORZA, 1974. The role of genetic drift in the differentiation of Icelandic and Norwegian cattle. *Evolution* 28:381-395.
- KIDD, K. K., D. OSTERHOFF, L. ERHARD & W. H. STONE, 1974. The use of genetic relationships among cattle breeds in the formulation of rational breeding policies: an example with South Devon (South Africa) and Gelbvieh (Germany). *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 5:21-28.
- KIDD, K. K., W. H. STONE, C. CRIMELLA, C. CARENZI, M. CASATI & G. ROGNONI, 1980. Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 11:21-38.

- KRAAY, G. J., 1972. A study of protein and enzyme polymorphism in blood of Canadian cattle. Proc. XIIth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph., Budapest, p. 155-158.
- KRISTJANSSON, F. K., 1963. Genetic control of two pre-albumins in pigs. *Genetics* 48:1059-1063.
- KRISTJANSSON, F. K. & G. C. HICKMAN, 1965. Subdivision of the allele  $Tf^D$  for transferrins in Holstein and Ayrshire cattle. *Genetics* 52:627-630.
- KUSHNER, H. F., L. A. ZUBAREVA, O. N. SOLOMONOVA & N. I. KUZNETSOV, 1973. The relationship between the types of transferrin, amylase and haemoglobin and cow fertility in two cattle breeds. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 4:119-122.
- LARSEN, B., 1981. Studies on the C blood group system in three Danish cattle breeds. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 12:133-138.
- LARSEN, B., 1982. On the bovine F blood group system. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 13:115-121.
- LARSEN, B., C. L. GRUCHY & J. MOUSTGAARD, 1974. Studies on blood groups and polymorphic protein systems in Jersey cattle on the isle of Jersey. *Acta Agric. Scand.* 24:99-110.
- LEHMAN, H. 1959. The haemoglobins of 103 Gyr cattle. *Man* 59:66-67.
- LEWONTIN, R. C., 1974. *The genetic basis of evolutionary change.* New York, Columbia University Press, 345 p.
- LI, C. C., 1976. *First course in Population Genetics.* Pacific Grove, Boxwood Press, 631 p.
- LUSH, I. E., 1966. The biochemical genetics of vertebrates except man. In: *Frontiers of Biology*, vol. 3, edited by A. Neuberger & E. L. Tatum, Amsterdam, North Holland Publishing Co., p. 39-58.
- MANWELL, C. & C. M. A. BAKER, 1980. Chemical classification of cattle. 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 11:151-162.
- MARCUM, J. B., 1974. The freemartin syndrome. *Anim. Breed. Abstr.* 42:227-242.
- MILLER, W. J., 1976. Blood groups: why do they exist? *Bioscience* 26:557-562.
- MILLER, W. J., M. BRAEND & C. STORMONT, 1961. A new reagent for the M blood group system of cattle. *Immunogenet. Lett.* 2:78-79.

- MILLER, W. J., F. L. PIRES, J. NASCIMENTO, A. I. ASSIS & M. L. GIANNONI, 1986. Análise de tipificação sanguínea de algumas raças de bovinos brasileiros. *B. Industr. anim.* 43:231-264.
- MITAT, J., L. EZCURRA & A. RODRIGUEZ, 1975. Variabilidad genetica de la albúmina en poblaciones bovinas cubanas. *Folia Vet.* 19:137-141.
- MORTON, N. E., W. H. STONE & M. R. IRWIN, 1956. Linkage and fitness of cattle blood factors. *Genetics* 41:655 (Abstr.).
- MORTARI, N., S. N. DEL LAMA & M. P. SANTILLI, 1988. Polimorfismo de hemoglobina em raças zebuínas (*Bos indicus*) de bovinos criados no Brasil. *Ciência e Cultura* 7 (supl.):848 (Abstr.).
- MZEE, R. M. & M. BRAEND, 1979. Seasonal variation of bovine anti-J in the tropics. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 10:137-140.
- NAIK, S. N., 1978. Origin and domestication of Zebu cattle (*Bos indicus*). *J. Hum. Evol.* 7:23-30.
- NAIK, S. N. & L. D. SANGHVI, 1964. A new haemoglobin variant in Zebu cattle. *Proc. IXth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph.*, Prague, p.295-299.
- NAIK, S. N., P. K. SUKUMARAN & L. D. SANGHVI, 1965. A note on blood groups and haemoglobin variants in Zebu cattle. *Anim. Prod.* 7:275-277.
- NAIK, S. N., P. K. SUKUMARAN & L. D. SANGHVI, 1969. Haemoglobin polymorphism in Indian Zebu cattle. *Heredity* 24:239-247.
- NAMIKAWA, T., A. NAGAI, O. TAKENAKA & A. TAKENAKA, 1987. Bovine haemoglobin beta<sup>A</sup> ZEBU, beta<sup>A43</sup> (CD3)Ser -> Thr: an intermediate globin type between the beta<sup>A</sup> and beta<sup>D</sup> ZAMBIA is presente in Indian zebu cattle. *Anim. Genet.* 18:133-141.
- NEI, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70:3321-3323.
- NEIMANN-SORENSEN, A., J. RENDEL & W. H. STONE, 1954. The J substance of cattle. II. A comparison of normal antibodies and antigens in sheep, cattle and man. *J. Immunol.* 73:407-414.
- NEIMANN-SORENSEN, A. & A. SPRYSZAK, 1959. Blood group studies on cattle of Red Polish breed. *Anim. Prod.* 1:179-188.
- NEIMANN-SORENSEN, A. & A. ROBERTSON, 1961. The association between blood groups and several production characteristics in three Danish cattle breeds. *Acta Agric. Scand.* 11:163-196.
- ODGEN, A. L., 1961. Biochemical polimorphism in farm animals. *Anim. Breed. Abstr.* 29:127-138.

- OLDENBROEK, J. K. & J. BOUW, 1974. Further studies on the relation between the F and N' blood group systems in cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 5:59-62.
- OSTERHOFF, D. R. & J. A. H. VAN HEERDEN, 1964. Tf<sup>G</sup> - A new transferrin allele in cattle. *Proc. IXth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph.*, Prague, p.311-312.
- OSTERHOFF, D. R. & N. POLITZER, 1968. F<sup>f</sup> - A new allele in the bovine FV blood group system. *Proc. XIth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph.*, Warsaw, p.135-142.
- OWEN, R. D., 1945. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 102:400-401.
- OWEN, R. D., C. STORMONT & M. R. IRWIN, 1947. An immunogenetic analysis of racial differences in dairy cattle. *Genetics* 32:64-74.
- PANEPUCCI, L., 1988. Carbonic anhydrase polymorphisms in Nellore, Canchim and dairy crossbred cattle in Brazil. *R. bras. Genét. / Braz. J. Genet.* 11:873-880.
- PENEDO, M. C. T., 1981. Análise de polimorfismos imunogenéticos e bioquímicos em gado Holandês, Guzerá e seus mestiços. Ribeirão Preto, SP, FMRP/USP, 73p. (Dissertação de mestrado).
- PENEDO, M. C. T., N. MORTARI & L. E. MAGALHAES, 1982. Carbonic anhydrase polymorphism in Indian Zebu cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*
- POULIK, M. D., 1957. Starch gel electrophoresis in discontinuous system of buffers. *Nature* 180:1477-1479.
- RENDEL, J., 1958. Studies of cattle blood groups. IV. The frequency of blood group genes in Swedish cattle breeds, with special reference to breed structure. *Acta Agric. Scand.* 8:191-215.
- RENDEL, J., 1961. Relationship between blood groups and the fat percentage of the milk in cattle. *Nature* 189:408-409.
- RENDEL, J., 1967. Studies of blood groups and protein variants as a means of revealing similarities and differences between animal populations. *Anim. Breed. Abstr.* 35:371-383.
- RONDOLINI, G., L. FOSSA & G. GAUDINO, 1973. A note on blood protein and enzyme polymorphism in Piedmont cattle breed. *Genet. Agrar.* 27:217-223.
- ROSS, D. S. & B. LARSEN, 1981. Confirmation of the F<sub>2</sub> allele in the bovine F blood group system. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 12:211-214.
- ROUGHTON, F. J. W. & V. H. BOOTH, 1946. The monometric

- determination of the activity of carbonic anhydrase under varied conditions. *Biochem. J.* 40:319-330.
- RUITERKAMP, W. A., C. M. SPEK & J. BOUW, 1977. Gene clusters in the blood group system B of cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 8:231-240.
- SANTIAGO, A. A., 1960. *A epopéia do Zebu*. SAo Paulo, Empresa Gráfica Carioca, 559 p.
- SANTIAGO, A. A., 1985. *O Zebu na Índia, no Brasil e no Mundo*. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 744 p.
- SARTORE, G., & D. BERNOCO, 1966. Research on biochemical polymorphisms in the indigenous cattle of Piedmont. *Ric. sci.* 36:1368-1372.
- SARTORE, G., C. STORMONT, B. G. MORRIS & A. A. GRUNDER, 1969. Multiple electrophoretic forms of carbonic anhydrase in red cells of domestic cattle (*Bos taurus*) and American Buffalo (*Bison bison*). *Genetics* 61:823-831.
- SCHWELLNUS, M & G. GUERIN, 1977. Difference between the Hb C variants in Brahman and in indigenous Southern Africa cattle breeds. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 8:161-169.
- SELLEI, J., 1975. Alterations in reactivity of the blood factors of cattle red cells after pronase treatment. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.* 6:49-56.
- SHANKER, V., R. K. BHAYANA & S. BATHIA, 1983. Red cell carbonic anhydrase polymorphism in Indian Zebu cattle and their crossbreds. *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.* 14:287-292.
- SINGH, H., S. S. BHATIA, A. K. BATABYAL & N. D. KHANNA, 1972. Haemoglobin polymorphism in six Indian cattle breeds. *Indian J. Anim. Prod.* 3:106-110.
- SINGH, H., P. N. BHAT & R. SINGH, 1981. Gene differentiation in Indian cattle. *Indian J. Anim. Sci.* 51:267-270.
- SMITHIES, O., 1955. Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61:629-641.
- SMITHIES, O. & C. G. HICKMAN, 1958. Inherited variations in the serum proteins of cattle. *Genetics* 43:374-385.
- SNEDECOR, G. W. & W. G. COCHRAN, 1973. *Statistical methods*. 6. ed. Ames, Iowa State University Press, 593 p.
- SOOS, P., 1972. Carbonic anhydrase polymorphism in some Hungarian cattle breeds. *Proc. XIIth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph.*, Budapest, p.191-195.

- SPOONER, R. L. & R. A. OLIVER, 1969. Albumin polymorphism in British cattle. *Anim. Prod.* 11:59-63.
- STONE, W. H., 1956. The J substance of cattle. II. Seasonal variation of the naturally occurring isoantibodies for the J substance. *J. Immunol.* 77:369-375.
- STONE, W. H. & M. R. IRWIN, 1954. The J substance of cattle. I. Developmental and immunogenetic studies. *J. Immunol.* 73:397-406.
- STONE, W. H. & W. J. MILLER, 1961. Naturally occurring isoantibodies of the S blood group system in cattle. *J. Immunol.* 86: 165-169.
- STORMONT, C., 1949. Acquisition of the J substance by the bovine erythrocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 35:232-237.
- STORMONT, C., 1950. Additional gene-controlled antigenic factors in the bovine erythrocyte. *Genetics* 35:76-94.
- STORMONT, C., 1952. The F-V and Z systems of bovine blood groups. *Genetics* 37:39-48.
- STORMONT, C., 1955. Linked genes, pseudoalleles and blood groups. *Am. Nat.* 89:105-116.
- STORMONT, C., 1962. Current status of blood groups in cattle. *Ann. New York Acad. Sci.* 97:251-268.
- STORMONT, C., 1964. Mammalian immunogenetics. *Genetics Today* 3:715-722.
- STORMONT, C., 1967. Contribution of blood typing to dairy science progress. *J. Dairy Sci.* 50:253-260.
- STORMONT, C., 1972. The language of phenogroups. *Haematologia* 6:73-79.
- STORMONT, C., 1973a. A survey of blood groups in several species of large animals used in medical research. In: *Research Animals in Medicine*. Edited by T. Harmison, U.S. Department of Health, Education and Welfare. Publication no. (NIH) 72-333, p. 505-513.
- STORMONT, C., 1973b. Blood typing cattle - why and how. *Beef Cattle Science Handbook* 10:200-207.
- STORMONT, C., 1977. Blood typing cattle and horses. *Beef Cattle Science Handbook* 14:572-591.
- STORMONT, C., 1978. The early history of cattle blood groups. *Immunogenetics* 6:1-15.
- STORMONT, C., 1981. The B and C systems of cattle revisited. In:

**Frontiers in Immunogenetics.** Edited by W. H. Hildemann, New York, Elsevier - North Holland, p. 31-43.

- STORMONT, C., 1982. Blood groups in animals. *J. Am. Vet. med. Assoc.* 181:1120-1124.
- STORMONT, C. & R. W. CUMLEY, 1943. Cellular antigens in cattle blood. *J. Heredity* 34:35-41.
- STORMONT, C., M. R. IRWIN & R. D. OWEN, 1945. A probable allelic series of genes effecting cellular antigens in cattle. *Genetics* 30:25-26 (Abstr.)
- STORMONT, C., R. D. OWEN & M.R. IRWIN, 1951. The B and C systems of bovine blood groups. *Genetics* 36:134-161.
- STORMONT, C. & Y. SUZUKI, 1956. The D system of bovine blood groups. *J. Anim. Sci.* 15:1208-1209 (Abstr.).
- STORMONT, C. & Y. SUZUKI, 1958. The distribution of Forssman blood factors in individuals of various artiodactyl species. *J. Immunol.* 81:276-284.
- STORMONT, C. & Y. SUZUKI, 1960. On the J classification of rabbits and production of anti-J in J negative rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 105:123-126.
- STORMONT, C. & W. J. MILLER & Y. SUZUKI, 1960. The convergence of the A-H and D systems of bovine blood groups. *Genetics* 45:1013 (Abstr.).
- STORMONT, C., W. J. MILLER & Y. SUZUKI, 1961a. The S system of bovine blood groups. *Genetics* 46:541-551.
- STORMONT, C., W. J. MILLER & Y. SUZUKI, 1961b. Blood groups and the taxonomic status of American buffalo and domestic cattle. *Evolution* 15:196-208.
- STORMONT, C., B. G. MORRIS & Y. SUZUKI, 1972. A new phenotype in the carbonic anhydrase system of cattle. *Proc. XIIth Europ. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph., Budapest*, p.187-189.
- SUZUKI, S. & T. AMANO, 1973. Serological observations on Brazilian zebu cattle. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.* 4:233-235.
- TAMBASCO, A. J., 1976. Contribuição ao estudo citogenético em bovinos normais e em bovinos com problemas de reprodução. Ribeirão Preto, SP, FMRP/USP (Tese de Doutorado).
- TASHIAN, R. E. & N. D. CARTER, 1976. Biochemical genetics of carbonic anhydrase. *Adv. Hum. Genet.* 7:1-56.
- TSUJI, S., T. FUKUSHIMA, M. SHIOMI & T. ABE, 1981. A new serum transferrin phenotype observed in Japanese Black cattle. *Anim.*

Blood Grps' biochem. Genet. 12:299-305.

VILLARES, J. B., 1979. Novas perspectivas para produção de leite no Brasil. Rev. Criadores 49:21-32.

WARWICK, E. J. & J. E. LEGATES, 1979. Breeding and improvement of farm animals. Estados Unidos, McGraw-Hill, 624 p.

ZINK, G. L. & H. C. HINES, 1974. Removal of blood group determinants from bovine erythrocyte membranes. 1. Action of proteolytic enzymes on ghosts. Anim. Blood Grps Biochem. Genet. 5:85-93.