



**POLIMORFISMO DO CROMOSSOMO Y NO PLANTEL
DE GADO PÉ-DURO DA EMBRAPA/PI**

Carmen do Monte de Carvalho Britto

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP para obtenção do título de DOUTOR em Ciências na área de GENÉTICA.

Profª Drª Maria Luíza Silveira Mello
- Orientador -

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) Carmen do Monte de Carvalho Britto e aprovada pela Comissão Julgadora

04/2/95

BC/25701
IB/81274

CAMPINAS
Estado de São Paulo, Brasil
Agosto, 1995

AGRADECIMENTOS

Ao Curso de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Biologia da Universidade Estadual em Campinas, pelo apoio, e ao Departamento de Biologia Celular do IB da UNICAMP, onde parte do trabalho foi realizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do PICD, pela concessão de uma bolsa de Doutorado que tornou possível a participação da autora no Curso de Pós-Graduação em Genética da UNICAMP.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela aprovação de projeto de pesquisa e liberação de recursos para a compra de equipamentos e reagentes, na etapa inicial deste trabalho.

À Universidade Federal do Piauí, em especial ao Departamento de Biologia, pela concessão de afastamento que possibilitou à autora cursar a Pós-Graduação e preparar sua tese de Doutorado.

À EMBRAPA/UEPAE de Teresina, na pessoa do pesquisador José Herculano de Carvalho, responsável pela montagem do Núcleo de Preservação do Gado Pé-duro em São João do Piauí, pelas facilidades na etapa de coleta das amostras de sangue dos animais estudados neste trabalho. Na pessoa do pesquisador, Raimundo Nonato Girão, por ter prestado excelentes informações pessoais na área de reprodução animal.

À Profa. Dra. Maria Luíza Silveira Mello (UNICAMP) pela excelente orientação em todas as fases de elaboração deste trabalho, pela amizade sincera e pela realização das fotomicrografias dos cromossomos.

Aos estatísticos, Prof. Dr. Aquiles Eugênio Piedrabuena (UNICAMP) e Profa. Ângela Maria Martins Bacelar (Universidade Federal do Piauí), pelas sugestões e contribuições na análise estatística.

À Profa. Dra. Catarina Satie Takahashi do Departamento de Genética da FFCL/USP de Ribeirão Preto, pelos ensinamentos em técnicas de cultura de tecidos e de bandas acrossômicas recebidos durante o treinamento realizado em seu laboratório.

À Profa. Dalva da Costa Bento do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Piauí, por permitir o uso do microscópio do Laboratório de Doenças de Chagas para a realização das análises citogenéticas.

Ao Senhor Naftaly Padilha de Noronha, técnico da EMBRAPA/PI, pela grande colaboração dada a este trabalho, na etapa de coleta do sangue dos animais.

Ao Senhor Mário Bianchi, funcionário do Departamento de Biologia Celular da UNICAMP, pela ampliação de parte das micrografias usadas no trabalho.

Aos alunos bolsistas do Curso de Biologia da Universidade Federal do Piauí, Maria Claudene Barros, Lúcia de Fátima Oliveira Gomes e Janice Joyce Monte pela colaboração prestada junto ao laboratório de Citogenética Animal durante o trabalho experimental.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho.

À vida em sua belas formas e nuances,
representada através de meus dois filhos
queridos: Laurindo de Sousa Britto Neto e
Felipe de Carvalho Britto.

DEDICO.

- ÍNDICE -

1.	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	01
1.1.	O cariótipo padrão de <i>Bos taurus taurus</i> e <i>Bos taurus indicus</i>	01
1.2.	Os rearranjos cromossômicos estruturais nos bovinos	04
1.3.	Distúrbios de número cromossômico	06
1.4.	Outras anomalias: Quebras cromossômicas e/ou intervalos acromáticos	07
1.5.	Avaliação cariotípica em zebuínos	08
1.6.	Gado Pé-duro: Origem e preservação de uma raça	09
1.7.	Importância do estudo do cariótipo do gado Pé-duro	11
1.8.	Aspectos fenotípicos mais distintos do gado Pé-duro	11
1.9.	Raças e caracteres qualitativos e quantitativos	12
1.10.	Objetivos	14
2.	MATERIAL	15
2.1.	Escolha dos animais	15
2.2.	Relação das viagens realizadas para obtenção de material	16
3.	MÉTODOS	17
3.1.	Coleta de sangue	17
3.2.	Técnica de obtenção de metáfases a partir de linfócitos do sangue periférico .	17
3.3.	Análise das metáfases e montagem do kariograma	19
3.4.	Levantamento de dados para o estabelecimento de parâmetros biológicos	19
3.5.	Métodos estatísticos	21

4.	RESULTADOS	23
4.1.	Morfologia dos cromossomos autossômicos e sexuais	23
4.2.	Polimorfismo do cromossomo Y	27
4.3.	Medidas das estruturas externas da genitália de machos com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico e comparações estatísticas	29
4.4.	Caraterísticas fenotípicas dos animais, grau de contaminação racial aparente e resultados estatísticos	34
4.5.	Prevalência de alterações cromossômicas estruturais no total da amostra	43
4.6.	Prevalência de distúrbios de número cromossômico no total da amostra	49
5.	DISCUSSÃO	60
5.1.	Morfologia dos cromossomos autossômicos e sexuais	60
5.2.	Polimorfismo do cromossomo Y	61
5.3.	Medidas das estruturas externas da genitália de machos com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico e comparações estatísticas	64
5.4.	Características fenotípicas dos animais, grau de contaminação racial aparente e resultados estatísticos	65
5.5.	Prevalência de alterações cromossômicas estruturais no total da amostra	66
5.6.	Prevalência de distúrbios de número cromossômico no total da amostra	68
6.	CONCLUSÕES	72
7.	RESUMO	74
8.	SUMMARY	76
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. O CARIÓTIPO PADRÃO DE *Bos taurus taurus* E *Bos taurus indicus*

Os primeiros estudos cromossômicos em bovinos foram realizados por BARDELEBEN (1892)*, VAN HOOFF (1919), MAUSI (1919) e WODSEDALEK (1920). O número diplóide de cromossomos encontrado por esses autores, variou entre 16 e 38. Estes trabalhos apresentaram importância apenas histórica e evidenciam as dificuldades técnicas da época. Alguns anos mais tarde, com base em dados de meiose, esse número foi determinado como sendo de 60 cromossomos por KRALLINGER (1927; 1931). Esse autor foi o primeiro a observar a presença de um cromossomo submetacêntrico. MAKINO (1944), analisando várias raças, confirmou os achados de KRALLINGER, mas considerou todos os cromossomos como acrocêntricos, observações estas também feitas por MELANDER & KNUDSEN (1953).

Os trabalhos com células mitóticas de pulmões de feto realizados por MELANDER (1959), não só confirmaram o número diplóide igual a 60 observado em meiose, como assinalaram a presença de dois cromossomos sexuais submetacêntricos, sendo o X um dos maiores do conjunto e o Y um dos menores. A cultura temporária de linfócitos de sangue periférico após estímulo por fitohemaglutinina, descoberta por NOWELL (1960), por se tratar de método simples, trouxe mais facilidades para o estudo do cariótipo dos mamíferos. Com o aprimoramento da técnica de cultura de linfócitos para detecção de cromossomos humanos em metáfase por MOORHEAD et alii (1960), vários autores, quase que paralelamente, começaram a introduzir modificações, visando melhor adequação metodológica ao cultivo de células de bovino.

* BARDELEBEN apud JORGE, W. Cariologia comparada de algumas raças de *Bos taurus taurus* (L.), *Bos taurus indicus* (L.) e de seus cruzamentos. Botucatu, 47 p., 1970 [Tese - Mestrado - Universidade de São Paulo -].

Desse modo, o esclarecimento completo da morfologia cromossômica em *Bos taurus taurus* com 29 pares de cromossomos de tamanho desigual e o par sexual submetacêntrico sendo o X um dos maiores cromossomos do cariótipo e o Y um dos menores, foi consolidado em três trabalhos que utilizaram sucessivamente células de medula (GIMÉNEZ-MARTIN & LÓPEZ-SÁEZ, 1962), cultivo de fibroblastos (SASAKI & MAKINO, 1962) e de linfócitos (CROSSLEY & CLARKE, 1962). Posteriormente, os resultados foram confirmados por outros autores (NICHOLS et alii, 1962; BIGGERS & McFEELY, 1963; BASRUR & LIRMAN, 1964; LIN et alii, 1976; HALNAN, 1977).

JORGE (1970 ; 1974), utilizando o método de cultura de linfócitos do sangue periférico, analisou o cariótipo de várias raças com diferentes origens. Estudou raças taurinas de origem européia pertencente à subespécie *Bos taurus taurus* e, raças zebuínas de origem asiática pertencente à subespécie *Bos taurus indicus*. Em seus resultados, JORGE encontrou uma única diferença entre o cariótipo padrão de *Bos taurus taurus* e o de *Bos taurus indicus* que afetava a morfologia do cromossomo sexual Y. Nas raças européias o Y sempre era submetacêntrico, enquanto que nas raças asiáticas o Y sempre era acrocêntrico. Desse modo, o autor concluiu que haveria a possibilidade de se distinguir as raças de *Bos taurus taurus* das de *Bos taurus indicus* através da identificação morfológica do cromossomo Y.

O advento das técnicas de bandamento cromossômico fez com que surgissem duas fases no estudo citogenético de qualquer espécie pois, ao diferenciarem longitudinalmente os cromossomos permitem uma análise mais precisa do cariótipo, contribuindo não só na detecção de variações sutis dentro dos mesmos, como na identificação dos pares envolvidos em rearranjos.

O primeiro grande passo no bandamento cromossômico de bovinos foi dado por HANSEN (1971, 1972) com o emprego da quinacrina mustarda. Quase simultaneamente foram introduzidas as técnicas de bandamento C (SUMNER, 1972), e logo adaptadas para bovinos. A técnica de banda C é importante para a observação de eventuais heteromorfismos da heterocromatina constitutiva dos autossomos e análise do comportamento da mesma no par sexual (HANSEN, 1973). A técnica de banda G contribui relevantemente para a análise do cariótipo bovino, por facilitar a identificação de cada par isolado e suas alterações.

Em 1976, na Conferência de Reading (Inglaterra) foram elaboradas uma classificação e nomenclatura próprias aos cromossomos de bovinos, quando submetidos à técnica de banda G.

TAMBASCO (1976) trabalhando com 20 bovinos europeus, 5 zebus e 53 mestiços, procurou relacionar problemas cariotípicos com baixa fertilidade e malformações genitais. Através da técnica de formação de bandas G foi possível parear todos os cromossomos homólogos e analisar casos de aberrações.

Com relação à biometria cromossômica, LEVAN et alii (1964) na tentativa de estabelecer uma nomenclatura geral para cromossomos, elaboraram mensurações e usaram como parâmetro a posição relativa do centrômero no cromossomo.

GUSTAVSSON (1969), analisando a distribuição e o efeito fenotípico de uma translocação no gado sueco, mediu o comprimento de cromossomos em 10 metáfases. Apoiado nesses dados, apresentou o idiograma para a subespécie *Bos taurus taurus*, classificando cada par cromossômico por ordem decrescente de tamanho.

CRIBIU & POPESCU (1974) mediram os cromossomos das raças bovinas européias Normanda, Maine-Anjou, Charolesa e F.F.P.N. em 92 metáfases e determinaram os seus comprimentos relativos. Colocaram o par cromossômico sexual no extremo do idiograma, após o par autossômico número 29.

LUZ & GIANNONI (1978) estudaram seis bovinos machos da subespécie *Bos taurus indicus*, através de métodos citogenéticos convencionais e por processos biométricos, estabelecendo comprimentos médios e relativos para cada par cromossômico. Com base em seus resultados, apresentaram uma proposta de classificação para os cromossomos dessa subespécie em que os homólogos foram pareados e reunidos em 5 grupos, de A a E. No caso dos cromossomos sexuais, o X ficou como único no grupo A e o Y colocado à parte após o par 29 do grupo E.

1.2. OS REARRANJOS CROMOSSÔMICOS ESTRUTURAIS NOS BOVINOS

A partir de 1960 o campo das investigações cromossômicas em bovinos sofreu um grande avanço e os estudos foram na grande maioria, em rebanhos de origem européia.

Na maioria das espécies do gênero *Bos*, o cariótipo caracteriza-se por apresentar os centrômeros dos autossomos em posição apical, peculiaridade esta que, teoricamente, favorece a ocorrência maior de rearranjos específicos, como as fusões cêntricas. Na verdade, dentro deste gênero, as mesmas aparecem com prevalência bem mais elevada quando comparada com as de outros organismos que apresentam, em seus genomas, cromossomos submetacêntricos ou metacêntricos. WURSTER & BENIRSCHKE (1968), EVANS et alii (1973), TOLL & HALNAN (1976) e BUCKLAND & EVANS (1978) sugerem que a especiação na família Bovidae se deu a partir de um ancestral com $2n = 60$ cromossomos, tendo atuado como principal mecanismo as fusões cêntricas e inversões. Através destes mecanismos não há perda nem ganho apreciáveis de material genético, surgindo as diferenças que caracterizam as espécies por rearranjos gênicos e pelo isolamento reprodutivo imposto pelo novo cariótipo (WILSON, et alii, 1975; FREDGA, 1977).

As fusões cêntricas promovem uma variabilidade cariotípica intra e interespecífica e são responsáveis pelas principais divergências cromossômicas ocorridas na família Bovidae. A evolução do cariótipo nesta família ao que tudo indica, deve-se mais à fusão do que à fissão cêntrica, pois encontra-se, entre as espécies, manutenção do número fundamental (NF) com redução do número diplóide na maioria dos casos (WURSTER & BENIRSCHKE, 1968).

Desse modo, os rearranjos cromossômicos estruturais descritos até o momento, com exceção de alguns casos de translocação em tandem, são fusões cêntricas sendo a grande maioria por fusão do cromossomo 1 com o 29.

A translocação robertsoniana envolvendo os pares 1 e 29 foi a primeira anormalidade do cariótipo descrita em bovinos por GUSTAVSSON (1966) ao estudar animais da raça sueca Vermelha e Branca. GUSTAVSSON em uma análise de 1.134 indivíduos, reporta que 122 apresentavam

59 cromossomos e quatro 58, hetero e homozigotos respectivamente, para este tipo de translocação. A partir de então um grande número de investigadores começou a estudar, sob o ponto de vista citogenético, a espécie bovina. Em 8.788 indivíduos estudados pertencentes a diferentes raças européias, detectou-se uma prevalência média de 4,5% e 0,4%, respectivamente de indivíduos heterozigotos e homozigotos para o rearranjo (MORAES & MATTEVI, 1980).

A translocação $t(1;29)$ é a alteração do cariótipo de bovinos que apresenta a mais ampla distribuição geográfica nas raças européias. Porém é importante salientar que a grande maioria dos animais com esta característica não apresenta malformações somáticas, embora tenha esta sido descrita como fator de baixa fertilidade em diversos rebanhos europeus (Suécia, Dinamarca e França). Mediante tais resultados, alguns países passaram a utilizar, como medida preventiva, o exame citogenético de touros doadores de sêmen já que na Suécia, a diminuição de crias de pais translocados levou a prejuízos anuais consideráveis (GUSTAVSSON, 1969, 1970).

Vários autores como GUSTAVSSON (1969), BONGSON & BASRUR (1976) e PINHEIRO et alli (1984) consideram que a translocação $1/29$ é a mais importante patologia cromossômica dos bovinos, por seus efeitos depressivos nas fêmeas e machos (DYRENDALL & GUSTAVSSON, 1979). Nos casos de inseminação artificial, o controle desta translocação na amostragem vai propiciar um aumento de 5% na taxa de retorno ao serviço das filhas de touros portadores, após a primeira inseminação. A queda da fertilidade, observada pelo retorno mais frequente ao serviço, sugere um aumento de mortalidade embrionária (GUSTAVSSON, 1969).

O segundo tipo de fusão cêntrica, a translocação $t(2;4)$ descrita em bovinos, foi observada na raça Holandesa por POLLOCK (1972), e envolve os cromossomos 2 e 4 identificados por bandamento.

Além destes dois tipos já bem estabelecidos, foram relatadas ainda as translocações $t(11;12)$ $t(15;16)$ por BRUÉRE & CHAPMAN (1973), $t(5;6)$ $t(15;16)$ por ELDRIDGE (1974), $t(13;21)$ por HARVEY (1974) $t(1;27)$ por ELDRIDGE (1975), $t(27;29)$ por BONGSO & BASRUR (1976), $t(1;25)$ por STRANZINGER & FOSTER (1976) e $t(3;4)$ por POPESCU (1977a).

A ocorrência de duas quebras em um cromossomo unifilamentoso durante a interfase e a soldadura em posição invertida do fragmento cromossômico ao restante do cromossomo dão origem ao que se denomina inversão. Em bovinos, estes rearranjos estruturais apresentam-se em menor número quando comparados com as translocações. POPESCU (1972, 1976) observou uma possível

inversão pericêntrica em um touro da raça normanda. Mas só em estudos posteriores, através de bandamento cromossômico, o autor concluiu ser o cromossomo 14 o alterado e que na maioria dos descendentes se manifestou sem anomalia.

1.3. DISTÚRBIOS DE NÚMERO CROMOSSÔMICO

Praticamente todos os estudos realizados em bovinos com distúrbios de número cromossômico, mesmo em mosaico com baixa percentagem de células anormais, descrevem malformações somáticas ou alterações fenotípicas importantes que geralmente são acompanhadas de efeitos deletérios, como é o caso da bragnatia letal, síndrome da trissomia do par cromossômico 18. Como em geral são letais, isso explica a baixa frequência com que são encontrados (ROCHA & JORGE, 1989).

Nos distúrbios de número, as trissomias autossômicas não letais estão geralmente relacionadas com três grupos principais de malformações: agnatismo (MORI et alii, 1969; HERZOG & HOHN, 1971a e DUNN & JOHNSON, 1972), nanismo (GLUHOVSCHI & BISTRICRANU, 1970) e artropatias em mosaicos com baixa frequência de células com 61 cromossomos (HALNAN, 1976a).

Outras anormalidades associadas às aberrações numéricas dos autossomos são: o criptoquidismo (70% dos casos), hidrocefalia (50%), defeitos cardíacos (28%), curvatura da coluna vertebral (17%) e hipoplasia dos rins (17%). Nos bovinos a incidência estimada de trissomia autossômica é da ordem de 0,17% e está particularmente relacionada com deformidades esqueléticas.

Distúrbios numéricos do cromossomo X revelaram num macho (61, XXY) hipodesenvolvimento geral, hipogonadismo e aplasia dos ductos mesonéfricos, com mosaicismo 60,XX/60,XY em células da medula (RIECK et alii, 1969; NORBERG et alii, 1976). HALNAN (1976b) encontrou mosaicismo 60,XY/61,XXY em um animal com libido e motilidade espermática diminuídas.

Em bovinos, há poucos relatos de poliploidia e estes se referem à condição diplóide/poliplóide, onde as células normais predominam. A incidência de células poliplóides em indivíduos normais foi estimada em 2 a 6% por DARRÉ et alii (1970), e em 0,1 a 1,0% dos linfócitos, por HALNAN (1976a). Níveis anormalmente altos de células poliplóides foram correlacionados com hipertrofia muscular na raça Hereford (ZARTMAN & FECHHEIMER, 1967) e com deformidades neurológicas, em recém-nascidos (HERZOG & HOHN, 1971).

1.4. OUTRAS ANOMALIAS: QUEBRAS CROMOSSÔMICAS E/OU INTERVALOS ACROMÁTICOS

A ocorrência de intervalos acromáticos e quebras cromossômicas foi descrita em bovinos por HERZOG & HOHN (1971) como típicos defeitos autossômicos de bezerros afetados pela paraqueratose, distúrbio hereditário do metabolismo do zinco. Baseando-se no encontro desta deleção autossômica, em 5 a 10 % das células mitóticas de touros com anotações de subfertilidade e infertilidade, HALNAN (1972) sugeriu sua utilização como indicador diagnóstico, após confirmação desta hipótese.

Novas evidências foram acrescentadas por BONGSO & BASRUR (1976) quando identificaram em touros Guernsey de fertilidade reduzida porcentagens de 10 a 15% de células com intervalos acromáticos e quebras, em comparação com 2,8% a 5,8%, naquelas de fertilidade normal.

Em ovinos subfêrteis também já havia sido detectada tal anomalia (BRUÉRE, 1969). Através de exame citogenético em 36 vacas com distúrbios reprodutivos, foram encontrados em uma das fêmeas os intervalos acromáticos e as quebras cromossômicas em 31,6% das células examinadas (MAGARAJA & HEDGE, 1987).

As causas destas aberrações na estrutura cromossômica foram classificadas por MAYR & SCHLEGER (1977) em genéticas e não-genéticas. Muitas seriam originárias de causas não-genética, por exemplo, as infecções por vírus ou micoplasmas, problemas alimentares como a deficiência de zinco, radiações e numerosas substâncias químicas (FRANCK & ROBERT, 1981).

Numa primeira coleta, realizada em bezerros com nanismo hereditário, HERZOG et alii (1977) encontraram taxas de 30 a 40% de células com quebras cromossômicas. Em nova cultura, realizada após 30 dias, as taxas sofreram drástica redução para 15 a 20% das metáfases. Segundo os autores, esta eliminação espontânea das células com defeitos cromossômicos lança dúvida acerca do papel patogênico das quebras autossômicas, existindo a possibilidade de serem causadas por uma intervenção no processo mitótico de um vírus contaminante ou por uma infecção virótica latente. Infecções bacterianas devem também ser consideradas.

A presença de quebras, intervalos acromáticos ou constrições secundárias vem sendo observada nas populações de bovinos normais, tendo variado de 0,028 a 1,4%, na raça Preta e Branca Alemã (NAHASS et alii, 1976).

1.5. AVALIAÇÃO CARIOTÍPICA EM ZEBUÍNOS

As raças zebuínas evoluíram isoladamente no subcontinente asiático, descendentes diretamente do *Bos mamadicus* (Zeuner), e a idade desta subespécie recua a cerca de 3.000 anos A.C., como testemunha o Sinete de Mohenjo-Daro, que data dessa antiguidade, e no qual se visualiza um zebu com chifres em lira alta. O zebu brasileiro, atualmente considerado superior ao da Índia, originou-se através do cruzamento absorvente de zebuínos indianos com a população taurina autóctone, criada ao norte do paralelo 23, e composta, principalmente, pelas raças Mocha Nacional, Caracu, Pantaneiro, Franqueiro, Curraleiro e Crioula. Tais raças evoluíram na faixa intertropical, a partir de taurinos originários da Península Ibérica, principalmente derivados das raças Mirandesa, Alentejana, Minhoto e Brava. Destas, a Alentajana é análoga àquela da qual derivam as raças Blonde d'Aquitaine e Limousin, sabidamente portadoras da translocação 1/29, deixando a suspeita da possibilidade de eventuais zebuínos portadores no Brasil. Entretanto, esta possível fonte adquire pouca importância, dada à praticamente completa substituição cromossômica da população taurina original (ROCHA & JORGE 1989).

Diferindo do que ocorre no gado europeu, o estudo citogenético em raças zebuínas puras tem sido mais discreto. Em estudos realizados numa amostra de cerca de 419 zebuínos,

predominando a raça Nelore (307), seguida pelas raças Gir (59), Guzerá (36), Indubrasil (12) e Tabapuã (5), não foram diagnosticados rearranjos cromossômicos tais como a fusão cêntrica 1/29, não havendo também qualquer citação na literatura (KIEFFER & CARTWRICHT, 1968; PINHEIRO, 1971; GUPTA et alii, 1974; JORGE, 1974; HALNAN, 1976; TAMBASCO, 1976; BENJAMIN & BHAT, 1977).

Nos animais estudados não foram também observadas anormalidades cromossômicas numéricas ou estruturais. Estudos com bandamento cromossômico são escassos em *Bos taurus indicus*, sendo o do tipo C realizado por GUPTA et alii (1974) e o G, por TAMBASCO (1976).

Dois casos particulares descritos em indivíduos zebuínos não acompanhados por anormalidades fenotípicas, consistem na ocorrência de um fragmento cromossômico heterocromático em torno de 50% das metáfases examinadas (TAMBASCO, 1976; MORAES et alii, 1980).

1.6. GADO PÉ-DURO: ORIGEM E PRESERVAÇÃO DE UMA RAÇA

O gado Pé-duro é uma raça bovina nativa, ainda não melhorada e que se originou dos bovinos introduzidos no Brasil pelos portugueses e espanhóis durante a época da colonização. Como na América do Sul não existiam animais da espécie bovina, foi necessário trazer da península ibérica o gado indispensável à produção de leite e carne durante a longa fase da colonização. As raças nativas importadas deram início ao povoamento dos campos naturais do Brasil e nações vizinhas. Adaptaram-se ao novo ambiente, formando os grandes rebanhos denominados crioulos, que se diferenciaram em diversas variedades algumas das quais hoje já melhoradas (SANTIAGO, 1975; CAMARGO, 1990).

O gado Pé-duro multiplicou-se no Norte e, especialmente no Nordeste do país, incluindo o vale do São Francisco, de onde desceu para os campos e cerrados de Minas e Goiás (SANTIAGO, 1975). De acordo com ATHANASSOF (1958), a raça Pé-duro ou curraleira é derivada do tronco *Bos taurus ibericus*. Dada a sua procedência européia admite-se que deva pertencer à subespécie *Bos taurus taurus*.

Até 1984 a raça Pé-duro sofreu grande perigo de extinção, devido à introdução de outras raças, principalmente Zebuínas, no Estado do Piauí. O processo de extinção se caracterizou

principalmente pela substituição dessa raça por outras e pelos cruzamentos absorventes que, aos poucos, foram eliminando as características de gado Pé-duro (CARVALHO, 1983). Segundo CARVALHO (1985), no sistema de criação extensivo em que o gado Pé-duro é criado, os machos dessa raça são comumente castrados, permitindo a cobrição de fêmeas por machos zebus. Desse modo, a raça Pé-duro encontra-se ameaçada de extinção, sendo substituída por raças zebuínas nos locais onde ainda existe.

Como o gado Pé-duro é uma raça nativa que se desenvolveu em ambientes desfavoráveis, com pouca interferência do homem, e evidencia características adaptativas importantes que não são facilmente encontradas em raças exóticas, poderá vir a constituir no futuro um banco genético valioso a ser utilizado por criadores e especialistas em melhoramento animal. Para tanto deve ser caracterizada e preservada (CARVALHO, 1984; BRITTO, 1987).

Através dos esforços da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e por intermédio da Unidade de Execução e Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE) de Teresina, está se tentando preservar o gado Pé-duro no Estado do Piauí. Para tal, foi necessário que a EMBRAPA formasse inicialmente o plantel. Os animais foram comprados de oito municípios piauienses e de um do Maranhão. A seguir foi instituído um núcleo de preservação com apoio financeiro do Fundo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, do Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e colaboração do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN), órgão da própria EMBRAPA. O rebanho foi colocado na Fazenda Experimental Octavio Domingues, em São João do Piauí, em plena região semi-árida. A decisão de instalar o núcleo de preservação em uma região semi-árida e de manter os animais na vegetação natural da caatinga visa colocá-los em condições semelhantes àquelas em que a raça se desenvolveu, propiciando a manutenção de sua rusticidade (CARVALHO, 1985). No momento, o projeto da EMBRAPA, coordenado pelo pesquisador José Herculano de Carvalho, atingiu seu objetivo que era essencialmente a preservação da raça. Com o crescimento do rebanho e os animais atingindo a maturidade sexual serão realizados os trabalhos de coleta de sêmen para inseminação artificial. Cumpre enfatizar que a preservação do gado Pé-duro é de fundamental importância, tendo em vista as suas características de grande resistência, rusticidade e adaptação à região Nordeste.

1.7. IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DO CARIÓTIPO DO GADO PÉ-DURO

O projeto de preservação do gado Pé-duro serve de apoio e de desenvolvimento a outros projetos. Como o gado Pé-duro é uma raça nativa que possui genes preciosos de adaptação à região Nordeste, a caracterização citogenética desses bovinos, deverá fornecer dados e subsídios importantes para a criação de um banco de germoplasma o qual será de grande utilidade para os criadores e especialistas em melhoramento genético animal. Além disso, contribuirá também para uma definição mais concreta da situação do gado Pé-duro nos dias atuais, frente às duas subespécies de bovinos existentes (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*).

POPESCU, por ocasião da realização do 1º Simpósio Nacional Sobre Estudos Avançados em Reprodução Animal, em 1980, em Jaboticabal, realizou um excelente relato sobre a incidência de aberrações cromossômicas em bovinos e seus efeitos indesejáveis sobre o fenótipo dos animais. Conforme POPESCU (1980) os progressos alcançados pela citogenética assumem de tal sorte, um importante papel no desenvolvimento da produção animal, pois permitirão, com extrema rapidez, afastar da reprodução indivíduos potencialmente indesejáveis.

A determinação de caracteres indesejáveis pelo cariótipo torna essa tarefa mais fácil do que a determinação de indivíduos portadores de genes indesejáveis porque para estes, são necessárias longas, onerosas e corretas provas de progênie. Desse modo a investigação citogenética em gado Pé-duro, permitiria a eliminação de animais com cariótipo anormais do rebanho.

1.8. ASPECTOS FENOTÍPICOS MAIS DISTINTOS DO GADO PÉ-DURO

Conforme revisão em CARVALHO, (1983) e BRITTO, (1987), os aspectos fenotípicos mais expressivos do gado Pé-duro, no que diz respeito à sua conformação, são os seguintes: cabeça pequena, perfil sub-côncavo, órbitas não muito salientes; chifres curtos e em forma de coroa, leves, apresentando secção circular, de cor clara na base e extremidade escura; orelhas pequenas,

revestidas internamente de pêlos claros; boca grande e ventas largas; pescoço fino, barbela reduzida; tronco de conformação triangular, características das raças leiteiras; peito profundo, ventre volumoso, ancas largas, garupa direita; cauda fina, longa e bem inserida, sendo tolerável a inserção alta; vassoura preta, membros delgados e bem proporcionados.

Quanto à pelagem, pode ser ela amarela, amarela avermelhada ou baia com extremidades escuras até o fusco, não muito carregado; os pêlos das entre-nádegas e axilas devem ser de tonalidade clara ou esbranquiçada, bem como do baixo-ventre. A cabeça é de tonalidade escura, acentuando-se no chanfro e em torno dos olhos; focinho preto com barba de pêlos claros. Os membros são de cor escura, tonalidade mais pronunciada na região da canela, especialmente nos anteriores, onde pode elevar-se até acima dos joelhos, podendo ser mais escura, nos touros; unhas pretas (Figura 4.8, p. 41).

1.9. RAÇAS E CARACTERES QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS

Dentro de uma espécie podem ser distinguidas diferentes raças. Sob o ponto de vista biológico pode se definir uma raça como uma população de animais que difere das de outras populações da mesma espécie em determinados caracteres definidos geneticamente. Os atributos característicos de uma raça podem ser qualitativos - por exemplo: tipo de pêlo, cor, tipos de chifres - ou quantitativos, como tamanho, produção de leite e conteúdo de gordura no leite. É possível produzir uma raça que seja homocigota para um ou vários caracteres qualitativos, mas isto em geral só servirá para distingui-la das raças restantes, já que diversas raças podem possuir idênticas características externas. Os aspectos da produção, que determinam a importância econômica da raça, mostram uma variação constante, e não se pode estabelecer uma linha divisória clara entre as raças, se bem que as médias raciais mostrem divergências bastante amplas. Essas características estão submetidas à influência de um grande número de genes, e se verifica em todas as raças um amplo grau de heterocigose com relação a todos os caracteres quantitativos. Por consequência, e falando-se em sentido biológico, não existem raças puras de animais domésticos, e

parece que não é possível produzir uma (JOHANSSON, 1972). Quando, na prática, se emprega o termo raça pura, refere-se aos animais que foram registrados, ou que podem ser registrados no livro genealógico da raça. Estes animais de raça pura constituem um grupo seletivo destinado à reprodução. Os requisitos para que se aceite um animal no livro genealógico variam com a época e o lugar. Na prática, o conceito de raça é mais convencional que biológico. No entanto, a divisão em raças parece ser justificada porque as populações que compõem as raças estão especializadas para fins diferentes e para diferentes condições locais (JOHANSSON, 1972).

No caso da raça Pé-duro são reconhecidas variações nos caracteres qualitativos entre os indivíduos da população. Como na raça inglesa Shorthorn, os padrões de pelagem na raça Pé-duro são muito variáveis, podendo apresentar as tonalidades: amarela, amarela avermelhada ou baia, ou ainda, suas formas intermediárias de mistura. Essas variações, no entanto, podem ser admitidas até numa mesma raça, pois existem animais genealógicamente puros cuja pelagem varia para além dos limites permitidos pelo padrão de uma raça (TORRES, 1981).

1.10. OBJETIVOS

Frente ao relato exposto acima, pretendemos neste trabalho:

a) estudar os cromossomos dos bovinos da raça Pé-duro e classificá-los morfológicamente de acordo com a nomenclatura proposta por LEVAN, FREDGA & SANDBERG (1964) para os cromossomos de mamíferos;

b) distinguir animais pés-duros, comprovadamente de origem européia (*Bos taurus taurus*, presença de cromossomo Y submetacêntrico), de mestiços com animais zebuínos (*Bos taurus indicus*, presença de cromossomo Y acrocêntrico), dada a intenção de se manter um núcleo de preservação da raça Pé-duro, de grande adaptabilidade às condições inóspitas do interior do Nordeste.

c) investigar no cariótipo dos animais, alterações cromossômicas que possam estar correlacionadas com distúrbios reprodutivos, malformações genitais e diversas doenças;

d) determinar a prevalência de anomalias cromossômicas e verificar com que frequência ocorrem nestes animais;

e) introduzir esta linha de pesquisa no Estado do Piauí, integrando de forma substancial três instituições de pesquisa, a EMBRAPA, a Universidade Federal do Piauí e a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), criando assim condições ao desenvolvimento de futuros trabalhos científicos, na área de citogenética animal e humana.

2. MATERIAL

2.1. ESCOLHA DOS ANIMAIS

Os cromossomos de bovinos da raça “Pé-duro” foram analisados através de métodos citogenéticos convencionais. Frente às dificuldades encontradas, decidiu-se por estudar apenas animais machos do rebanho. As amostras de sangue para as análises citogenéticas foram obtidas somente dos animais pertencentes ao Núcleo de Preservação do Gado “Pé-duro” localizado na Fazenda Experimental Octávio Domingues, município de São João do Piauí, criado pela Unidade de Execução e Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE) de Teresina/EMBRAPA.

Os animais foram escolhidos de acordo com a facilidade de captura, pelo fato de serem criados em regime extensivo, em uma vasta extensão territorial de 6.000 m² onde ficam espalhados dentro da caatinga. Desse modo, não foram empregados critérios seletivos como idade e/ou maturidade sexual para a coleta das amostras de sangue. No inverno, se tornava mais difícil prender os animais para a coleta de sangue, porque a vegetação crescia e como havia água e alimento fácil, os animais se espalhavam na chapada. Por outro lado, na seca, ficava mais fácil a captura, porque isolava-se o bebedouro e o poço e como, a água e o alimento se tornavam escassos, os animais se concentravam na região do bebedouro.

No Porfírio, região da fazenda onde os animais ficam soltos, não existe o brete. Assim, os animais tinham que ser deslocados para a entrada da fazenda onde existem o curral e o brete para viabilizar a coleta do sangue.

Foram utilizados 75 animais para as análises efetuadas neste trabalho.

2.2. RELAÇÃO DAS VIAGENS REALIZADAS PARA OBTENÇÃO DE MATERIAL

Nº da viagem	Data da coleta	Código dos animais examinados
1ª	08/06/91	77, 104, 188, 207, 216, 222, 239, 270
2ª	19/06/92	72, 189, 224, 92, 103
3ª	03/09/92	14, 59, 81, 84, 89, 185, 245
4ª	29/10/92	193, 100, 94, 42, 137
5ª	11/12/92	276, 240
6ª	16/09/93	333, 361, 217, 295, 350, 339
7ª	03/11/93	55, 313, 328, 362, 225, 318, 326
8ª	17/01/94	334, 228, 299, 269, 275, 274, 309, 258
9ª	21/02/94	202, 209, 281, 292, 294, 314
10ª	09/03/94	364, 368, 369, 374, 380
11ª	30/11/94	249, 383, 370, 365, 397, 359, 360, 308, 391, 392
12ª	15/12/94	390, 401, 403, 405, 409, 415

3.MÉTODOS

3.1. COLETA DE SANGUE

Inicialmente, procedeu-se a uma lavagem e depilação da região do pescoço do animal onde se localiza a veia jugular, seguida de desinfecção dessa região com álcool iodado. Pressionou-se contra a veia uma agulha com seringa encaixada, previamente esterilizada e heparinizada (liquemine Roche - 5.000u/ml), colhendo-se aproximadamente 5ml de sangue. A seguir, a agulha foi dobrada e envolvida com esparadrapo para evitar contaminação. O material foi etiquetado com o código dos animais e transportado em isopor com gelo para o Laboratório de Citogenética para ser semeado em meio de cultura.

3.2. TÉCNICA DE OBTENÇÃO DE METÁFASES A PARTIR DE LINFÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO

Foi empregada a técnica de cultura de linfócitos de MOORHEAD et alii (1960), modificada para o estudo cromossômico de bovinos, pelo Laboratório de Citogenética Humana da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, onde também foi estabelecida a técnica de obtenção de bandas G.

a) Cultura de linfócitos - Com pipeta Pasteur, foram adicionadas 10 gotas de sangue total de cada amostra, em 2 frascos de cultura etiquetados para cada animal, contendo 5ml de meio MEM

(Minimal Eagle Medium) com 15% de soro fetal bovino mais fitohemaglutinina. Toda a operação foi efetuada em câmara asséptica, próximo a um bico de Bunsen, e com material estéril. Os frascos de cultura foram colocados em estufa a 37°C por 72 horas. Faltando 1 hora e 30 minutos para o tempo final de encubação foram adicionados 0,2ml de colchicina a 0,016M em cada frasco de cultura, homogeneizando-se delicadamente. Após 72 horas, os frascos foram retirados da estufa e agitados levemente para desprender as células aderidas ao fundo. A seguir, o conteúdo de cada frasco foi transportado para tubos de centrifuga de 15ml. O material foi centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos, sendo retirado e desprezado o sobrenadante.

b) Hipotonia - Foram adicionados às células 8ml de solução hipotônica de KCl a 0,075M, o material foi ressuspensionado e colocado em estufa a 37°C por 5 minutos, centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos, sendo novamente retirado e desprezado o sobrenadante, deixando-se 1ml em cada frasco.

c) Fixação - Usou-se metanol-ácido acético na proporção de 3:1 (v/v). Para a fixação das células, foram adicionados aos tubos de centrifuga, 5ml do fixador recém-preparado. O material foi ressuspensionado com movimentos rápidos e suaves e centrifugado a 1000 rpm por 5 minutos. Ao se retirar o sobrenadante, teve-se o cuidado de se deixar em cada frasco cerca de 0,5 a 1 ml de material. Esta operação foi repetida por três vezes seguidas, sendo que na última etapa da fixação usou-se apenas 3ml de fixador para cada tubo.

d) Preparo das lâminas - Lâminas novas foram passadas em álcool-éter, bem lavadas e estocadas em geladeira, em um becker contendo água destilada.

Durante o preparo das lâminas, cada lâmina era retirada do becker com pinça e colocada em posição inclinada, em seguida eram pingadas 3 gotas do material fixado. Deixava-se escorrer o excesso de água e as lâminas eram passadas rapidamente na chama de álcool, identificadas e colocadas em estante para a secagem total em meio ambiente.

e) Coloração - Usou-se Giemsa na proporção 1:30, ou seja: 1 ml do corante em 30 ml de tampão fosfato a pH 6,8. Após a secagem das lâminas procedeu-se a coloração sem bandamento. O tempo de coloração foi de 15 minutos, após o que as lâminas foram lavadas com água e secadas ao ar.

3.3. ANÁLISE DAS METÁFASES E MONTAGEM DO CARIOGRAMA

A determinação do número e a observação da morfologia dos cromossomos foram realizadas em lâminas submetidas à coloração usual, tendo sido selecionadas de cada animal 25 metáfases que, aparentemente, não eram rompidas e cujos cromossomos eram identificáveis. As metáfases foram analisadas microscopicamente através de desenhos esquemáticos em folha de papel flor-post. Para cada metáfase analisada era dado o diagnóstico com respeito ao número de cromossomos, aberrações e morfologia do cromossomo Y. Duas dessas metáfases de cada animal foram escolhidas para fotomicrografia em fotomicroscópio Zeiss; com ocular 10; objetiva Neofluar 100X e filme Kodak Plus-X-Pan de 35 mm. Estas fotografias foram utilizadas para a montagem dos cariótipos dos animais. Os cromossomos foram dispostos em ordem decrescente de tamanho em 5 fileiras de 6 pares, ficando os cromossomos X e Y no penúltimo e último lugar respectivamente, conforme HSU & BENIRSCHKE (1967, 1968).

3.4. LEVANTAMENTO DE DADOS PARA O ESTABELECIMENTO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Para a realização de uma análise comparativa dos parâmetros biológicos entre os animais com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico foram considerados: 1. Obtenção de medidas das estruturas da genitália externa de cada animal e 2. Levantamento das características fenotípicas de cada animal, incluindo grau de contaminação racial aparente.

Para tal foi elaborada uma ficha técnica com o registro de dados para cada animal (modelo anexo).

FICHA TÉCNICA PARA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DA GENITÁLIA
EXTERNA E ASPECTOS FENOTÍPICOS DE CADA ANIMAL

1 - CÓDIGO DO ANIMAL: _____

2 - RAÇA: _____ CARIÓTIPO: _____

3 - MORFOLOGIA DO CROMOSSOMO Y: _____

4 - ABERRAÇÕES:

4.1 - Numéricas: _____

4.2 - Estruturais: _____

5 - CONTAGEM DE METÁFASES

5.1 - Número de Metáfases Analisado: _____

5.2 - Células com $2N = 60$: _____

5.3 - Células com $2N \neq 60$: _____

5.4 - Frequência de Metáfases com Alterações: _____

6 - CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DO ANIMAL

6.1 - Pelagem: _____

6.2 - Barbela: _____

6.3 - Orelhas: _____

6.4 - Chifres: _____

6.5 - Chanfro: _____

6.6 - Extremidades: _____

7 - MEDIDAS DA GENITÁLIA EXTERNA

7.1 - Largura escrotal: _____

7.2 - Comprimento escrotal: _____

7.3 - Perímetro escrotal: _____

7.4 - Testículo direito: _____ Esquerdo: _____

7.5 - Bainha: _____

7.6 - Prepúcio: _____

8 - GRAU DE CONTAMINAÇÃO RACIAL APARENTE

8.1 - Nenhum []

8.2 - Baixo []

8.3 - Alto []

9 - DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____

10 - PESO DO ANIMAL: _____

3.5. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Foram realizados testes estatísticos para se testar hipóteses referentes à igualdade de duas médias, ou seja,

$$H_0, \mu_1 - \mu_2 = 0$$

$$H_1, \mu_1 - \mu_2 \neq 0$$

Pressupondo-se a normalidade da distribuição amostral da variável de teste e não sendo conhecidos os desvios padrões das duas populações, supostas não correlacionadas (não-emparelhadas), admitiu-se que esses desvios-padrões eram iguais, ou seja, $\Gamma_1 = \Gamma_2 = \Gamma$. O desvio padrão Γ desconhecido foi substituído por sua estimativa S_p que, no caso de diversas amostras, é a raiz quadrada da média ponderada das variâncias amostrais, usando como pesos os graus de liberdade de cada uma. No caso de duas amostras, a variância S_p^2 é dada por:

$$S_p^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

onde:

S_1^2 e S_2^2 são as variâncias das duas amostras disponíveis.

O teste foi realizado através da estatística:

$$t_{n_1 + n_2 - 2} = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

onde: \bar{X}_1 e \bar{X}_2 são as médias amostrais;

n_1 e n_2 os tamanhos das amostras.

Este teste comparou as médias das medidas da genitália dos animais com cromossomo Y acrocêntrico com os de cromossomo Y submetacêntrico conforme COSTA NETO, (1977).

Realizou-se ainda um teste não paramétrico (teste de χ^2) para indagar-se se duas variáveis qualitativas envolvidas eram ou não independentes, ou seja, se elas apresentavam ou não algum grau de associação entre si. Tal teste foi feito utilizando-se:

$$\chi_v^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^s \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

χ_v^2 é a estatística de teste, com v graus de liberdade;

r o número de linhas do corpo da tabela;

s o número de colunas do corpo da tabela;

O_{ij} a frequência observada da interseção da linha O_{ij} com a coluna j ;

E_{ij} a frequência esperada da interseção da linha O_{ij} com a coluna j ;

n o número de elementos da amostra.

$$v = (r - 1)(s - 1)$$

Com este teste verificou-se se as variáveis grau de contaminação racial e o tipo de cromossomo Y apresentavam ou não algum grau de associação conforme COSTA NETO, (1977).

4. RESULTADOS

4.1. MORFOLOGIA DOS CROMOSSOMOS AUTOSSÔMICOS E SEXUAIS

O cariótipo padrão dos animais estudados apresentou número diplóide $2n = 60$ cromossomos e número haplóide $n=30$. Em todos os animais do rebanho estudado, os cromossomos autossômicos, do par 1 ao 29 são acrocêntricos. A diferença encontrada foi somente no tamanho dos mesmos, sendo o par nº 1 o maior e o par 29 o menor deles. Com relação aos cromossomos sexuais, em todos os animais, o cromossomo sexual X se apresentou com forma submetacêntrica e com comprimento aproximado ao dos cromossomos autossômicos do par nº 1, sendo muito mais fácil a sua identificação. Por outro lado, houve uma diferença entre os animais com respeito ao cromossomo sexual Y, existindo no rebanho animais com cromossomo Y - submetacêntrico, e animais com cromossomo Y - acrocêntrico (polimorfismo do cromossomo Y) (Figura 4.1).

Nas figuras 4.2 e 4.3 os cromossomos foram ordenados pela ordem decrescente de tamanho de acordo com a classificação proposta por LEVAN et alii (1964).

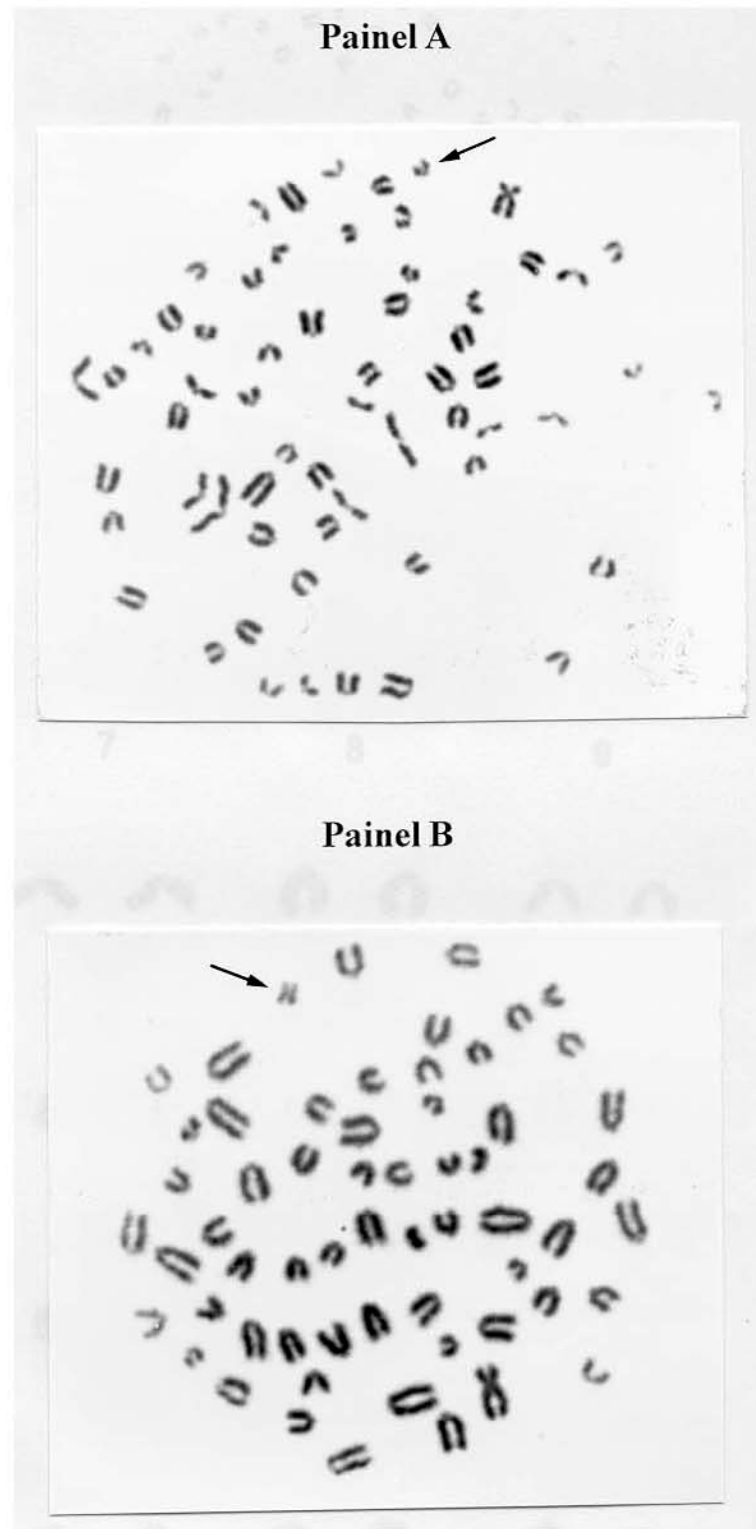


Figura 4.1. Célula em metáfase de linfócito de gado Pé-duro (aumento 960 X).

Painel A - Cromossomo Y acrocêntrico (Touro 216).

Painel B - Cromossomo Y submetacêntrico (Touro 72).

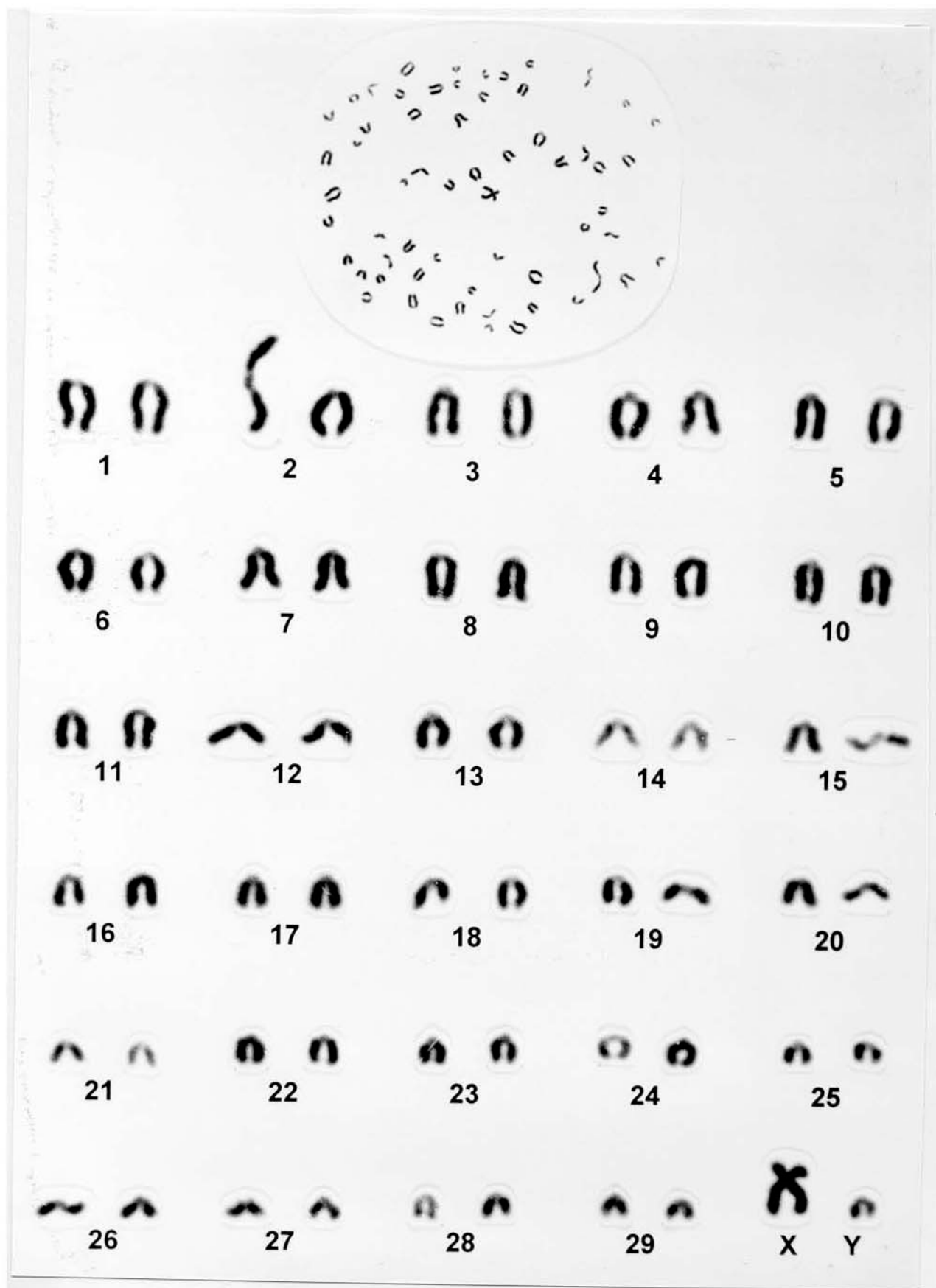


Figura 4.2. Cariótipo de gado Pé-duro exibindo cromossomo Y acrocêntrico, típico de *Bos taurus indicus*. Constituição $2n=60,XY$ (Touro 239).

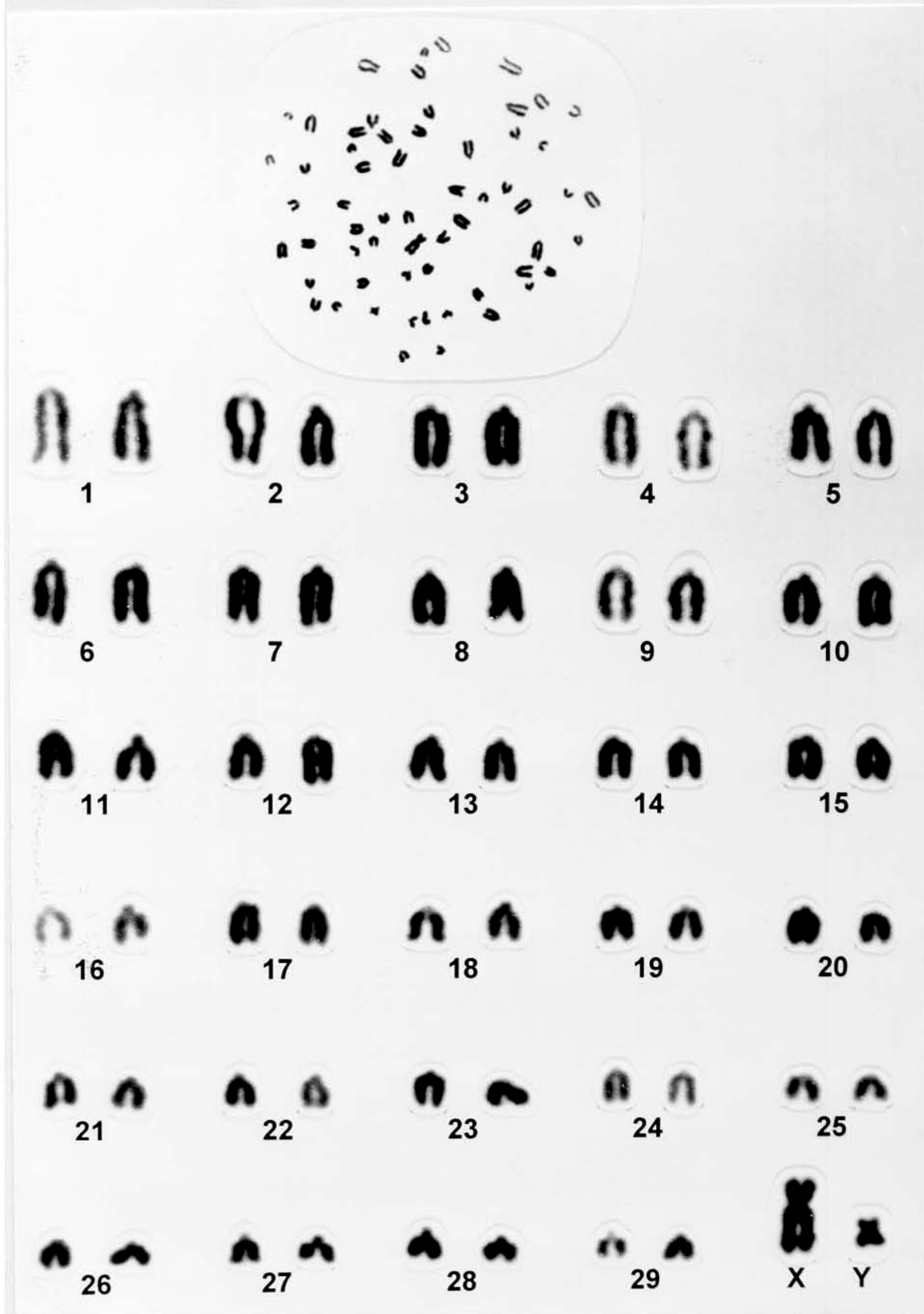


Figura 4.3. Cariótipo de gado Pé-duro exibindo cromossomo Y submetacêntrico, típico de *Bos taurus taurus*. Constituição $2n=60,XY$ (Touro 103).

4.2. POLIMORFISMO DO CROMOSSOMO Y

Constatada a existência de polimorfismo do cromossomo Y no plantel de gado Pé-duro estudado ficou comprovada no mesmo a existência de animais com cariótipo típico da subespécie *Bos taurus indicus* (gado Zebu) (Figura 4.2), bem como da subespécie *Bos taurus taurus* (gado europeu) (Figura 4.3). Devido à problemática do polimorfismo do cromossomo Y e de diferenças de idade entre os animais, dividiu-se a amostragem em dois grupos:

Grupo I - Abrange os animais com idade de 37 a 96 meses. Neste grupo foram incluídos 30 animais com Y acrocêntrico e 7 animais com Y submetacêntrico. O número baixo de animais com Y submetacêntrico possivelmente ocorra porque fazem parte deste grupo os animais mais velhos, na grande maioria mestiços.

Grupo II - Abrange os animais mais jovens, com idade de 12 a 36 meses. Neste grupo estão incluídos 21 animais com Y acrocêntrico e 17 animais com Y submetacêntrico. O número de animais com Y submetacêntrico é maior do que no grupo I porque à medida em que o trabalho ia sendo realizado, os animais mestiços foram sendo descartados do rebanho.

Os Quadros 1 e 2 relacionam os animais que apresentaram o cromossomo sexual Y acrocêntrico e submetacêntrico, grupo I e II respectivamente.

Quadro 1 - Touros do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com cromossomo Y acrocêntrico

Grupo I
Código dos Animais
55, 42, 59, 77, 81, 84, 89, 92, 94, 100, 104, 137, 185, 188, 202, 209, 217, 224, 225, 228, 240, 249, 258, 269, 274, 275, 276, 281, 292, 294.
Grupo II
Código dos Animais
207, 216, 222, 239, 245, 309, 326, 328, 334, 339, 350, 364, 362, 368, 370, 374, 383, 390, 403, 405, 409.

Quadro 2 - Touros do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com cromossomo Y submetacêntrico

Grupo I
Código dos Animais
14, 72, 103, 189, 193, 308, 314
Grupo II
Código dos Animais
270, 295, 299, 313, 318, 333, 359, 360, 361, 365, 369, 380, 391, 392, 397, 401, 415

A Tabela 1 apresenta o percentual de animais com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico presentes no total da amostra examinada.

Tabela 1 - Tipos de cromossomo sexual Y em touros do rebanho Pé-duro.

Cromossomo Y	Nº de Animais Observados		Cariótipo
Acrocêntrico	51 (30 + 21)	68%	60,XY
Submetacêntrico	24 (7 + 17)	32%	60,XY

Os dados da Tabela 1 mostram que na amostra examinada a maioria dos touros (68%) apresentam o cromossomo Y acrocêntrico.

4.3. MEDIDAS DAS ESTRUTURAS EXTERNAS DA GENITÁLIA DE MACHOS COM Y ACROCÊNTRICO E Y SUBMETACÊNTRICO E COMPARAÇÕES ESTATÍSTICAS

As medidas das estruturas externas da genitália de cada animal: escroto (comprimento, perímetro e largura), largura do testículo (direito e esquerdo), prepúcio (comprimento e bainha) foram comparadas entre os animais do Grupo I, entre os animais do Grupo II e no total da amostra. Para as comparações os dados foram tabulados e analisados estatisticamente, utilizando-se o teste t de Student.

A constituição biométrica da genitália dos animais está representada por consideração de grupos e morfologia do cromossomo Y nas tabelas 2, 3 e 4.

Os resultados para os animais do grupo I indicaram que:

- Não existe diferença significativa ao nível de 5% entre as médias do comprimento, do perímetro e da largura do escroto dos animais com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico (Tabela 2).

- Quanto à comparação entre as larguras médias dos testículos dos animais com cromossomo Y acrocêntrico e dos animais com cromossomo Y submetacêntrico, também não se observou diferença significativa ao nível de 5% (Tabela 2).

Também não se observou diferença significativa, ao nível de 5% entre as médias do comprimento e bainha do prepúcio dos animais com cromossomo Y acrocêntrico e dos animais com cromossomo Y submetacêntrico (Tabela 2).

Os resultados para os animais do Grupo II também não indicaram diferença significativa ao nível de 5% entre as médias das medidas realizadas (Tabela 3).

Quando se reuniram as amostras dos Grupos I e II numa só, desconsiderando-se portanto o fator idade dos animais, não se constatou diferença significativa entre as médias do comprimento, do perímetro e da largura do escroto dos animais com cromossomo Y acrocêntrico e as médias dos animais com cromossomo Y submetacêntrico, ao nível de 5% (Tabela 4). O mesmo se comprovou para a largura dos testículos e os comprimentos médios do prepúcio. Por outro lado, no que se refere às bainhas dos prepúcios, observou-se diferença significativa ao nível de 5% (Tabela 4). Uma vez que observou-se haver contaminação racial nos animais com Y acrocêntrico, realizou-se o teste unilateralmente, e ao nível de significância de 5%, temos razões para aceitar a hipótese de que a média da bainha do prepúcio dos animais com Y acrocêntrico é maior que a média da bainha do prepúcio dos animais com Y submetacêntrico.

Tabela 2 - Valores Médios (\bar{X}) e Desvios Padrões (S) das Medidas em cm da Genitália Externa de Touros com Cromossomo Y Acrocêntrico e Submetacêntrico dos animais do Grupo I.

TIPO DE CROMOSSOMO	Nº DE ANIMAIS	ESCROTO						LARGURA TESTÍCULO				PREPÚCIO			
		COMP		PERÍMETRO		LARGURA		DIREITO		ESQUERDO		COMP		BAINHA	
		\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
Acrocêntrico*	30	21,97	2,82	41,97	6,96	28,60	2,82	15,47	2,14	15,97	1,75	6,60	1,97	34,20	4,85
Submetacêntrico*	7	24,57	5,53	45,28	11,69	29,57	3,10	16,28	1,60	15,86	1,68	5,43	1,90	31,43	5,97
	teálculeo		-1,800		-0,9891		-0,8050		-0,938		-0,151		+1,424		+1,330

* As comparações das médias obtidas para cada característica não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ($t = 2,0301$).

Tabela 3 - Valores Médios (\bar{X}) e Desvios Padrões (S) das Medidas em cm da Genitália Externa de Touros com Cromossomo Y Acrocêntrico e Submetacêntrico dos animais do Grupo II.

TIPO DE CROMOSSOMO	Nº DE ANI-MAIS	ESCROTO						LARGURA TESTÍCULO				PREPÚCIO			
		COMP		PERÍMETRO		LARGURA		DIREITO		ESQUERDO		COMP		BAINHA	
		\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
Acrocêntrico*	21	16,14	4,93	31,28	10,17	20,95	5,49	11,71	3,00	11,86	2,63	6,28	2,76	27,09	4,47
Submetacêntrico*	17	16,23	4,56	32,53	8,35	21,90	4,44	12,06	2,19	11,88	2,06	5,76	1,75	24,82	4,05
tcálculo		-0,058		-0,407		-0,577		-0,402		-0,026		0,674		1,622	

* A diferença entre as médias obtidas para cada característica não foi significativa ao nível de probabilidade de 5% ($t = 2,0281$).

Tabela 4 - Valores Médios (\bar{X}) e Desvios Padrões (S) das Medidas da Genitália Externa em cm de Touros com Cromossomo Y Acrocêntrico e Submetacêntrico dos Animais do Grupo I e II.

TIPO DE CROMOSSOMO	Nº DE ANIMAIS	ESCROTO						LARGURA TESTÍCULO				PREPÚCIO			
		COMP		PERÍMETRO		LARGURA		DIREITO		ESQUERDO		COMP		BAINHA	
		\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
Acrocêntrico*	51	19,57	4,77	37,57	9,88	25,45	5,58	13,92	3,12	14,27	2,95	6,47	2,31	31,27	5,84
Submetacêntrico*	24	18,67	6,12	36,25	10,92	24,12	5,38	13,29	2,80	13,04	2,66	5,67	1,76	26,75	5,35
tcálculo		0,695		0,522		0,974		0,842		1,736		1,502		3,209	

* Apenas a bainha do prepúcio apresenta diferença entre as médias significativa ao nível de probabilidade de 5% (t = 1,9930).

4.4. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DOS ANIMAIS, GRAU DE CONTAMINAÇÃO RACIAL APARENTE E RESULTADOS ESTATÍSTICOS

Para se estabelecer parâmetros biológicos e comparar o grau de contaminação racial aparente entre os animais com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico com relação ao padrão fenotípico do gado Pé-duro, foi realizado o levantamento das seguintes características fenotípicas dos animais: tipo de pelagem, tamanho das orelhas, formato dos chifres, barbela e chanfro.

Os animais que apresentaram algumas características tais como, chifres abertos, orelhas médias e barbela descolada são os que possuem grau de contaminação racial aparente, fugindo das características fenotípicas do gado Pé-duro típico (revisão em CARVALHO, 1983b; BRITTO, 1987).

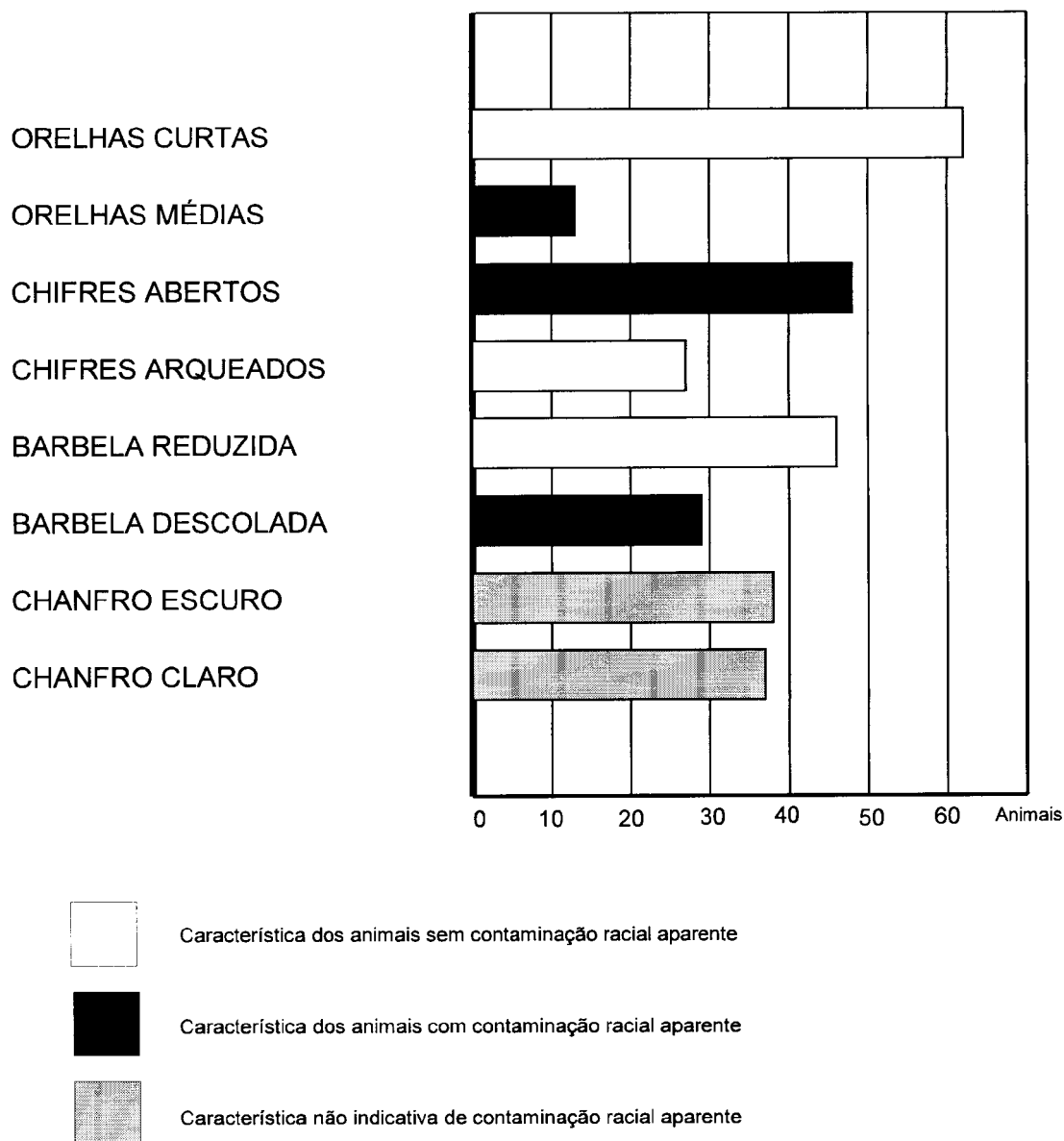
A Tabela 5 apresenta a proporção de animais segundo a característica fenotípica. A maioria dos animais apresentou chifres abertos (64,0%), barbela reduzida (61,3%), orelhas curtas (82,7%) e chanfro escuro (50,7%), conforme ilustrado no gráfico 1.

A característica chanfro claro ou escuro, embora conste na Tabela, não indica grau de contaminação racial aparente, pois esta característica varia muito com o tipo de pelagem dos animais.

Tabela 5 - Proporção de Animais segundo a característica fenotípica

Característica Fenotípica	CHIFRES		BARBELA		ORELHAS		CHANFRO	
	Arqueados	Abertos	Reduzida	Descolada	Curtas	Médias	Claro	Escuro
Nº de Animais	27	48	46	29	62	13	37	38
%	36,0	64,0	61,3	38,7	82,7	17,3	49,3	50,7

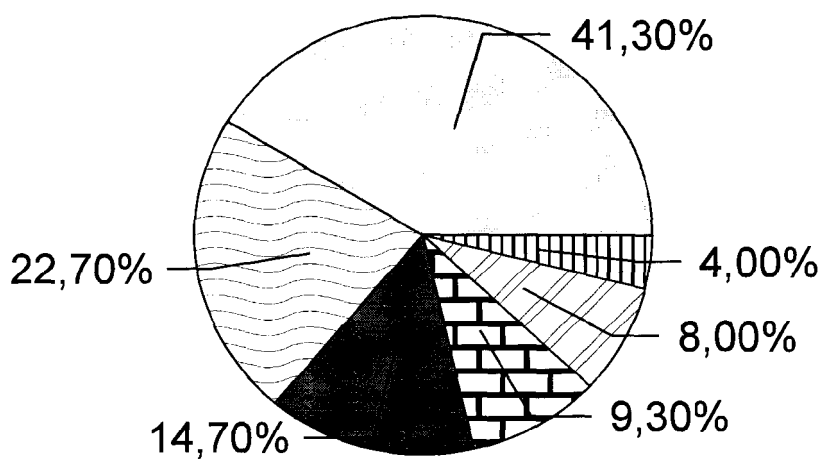
Gráfico 1 - Características Fenotípicas dos Animais Examinados do Plantel de Gado Pé-duro da EMBRAPA/PI.



Com respeito ao tipo de pelagem dos animais, a Tabela 6 apresenta a proporção de animais segundo o tipo de pelagem observada, dentre as quais houve predominância da pelagem amarelo liso (41,3%). Os mesmos dados são apresentados no gráfico 2. Diferenças em pelagem identificadas nesse rebanho podem ser observadas nas Figuras 4.4 - 4.7. Do mesmo modo, observando-se as figuras 4.8 e 4.9 algumas características de contaminação racial podem ser identificadas.

Tabela 6 - Proporção de animais segundo o tipo de pelagem observada

TIPO DE PELAGEM	Nº de Animais	%
Amarelo liso	31	41,3
Amarelo com fusco	17	22,7
Fusco	11	14,7
Vermelho liso	7	9,3
Alvaça	6	8,0
Preto	3	4,0
TOTAL	75	100,0

Gráfico 2 - Tipo de Pelagem dos Animais Examinados do Plantel de Gado Pé-duro da EMBRAPA/PI.

Legenda:







-  Amarelo liso
-  Amarelo com fusco
-  Fusco
-  Vermelho liso
-  Alvaça
-  Preto



Fig. 4.4 - Touro do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com pelagem AMARELO LISO



Fig. 4.5 - Touro do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com pelagem VERMELHO LISO



Fig. 4.6 - Touro do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com pelagem ALVAÇA

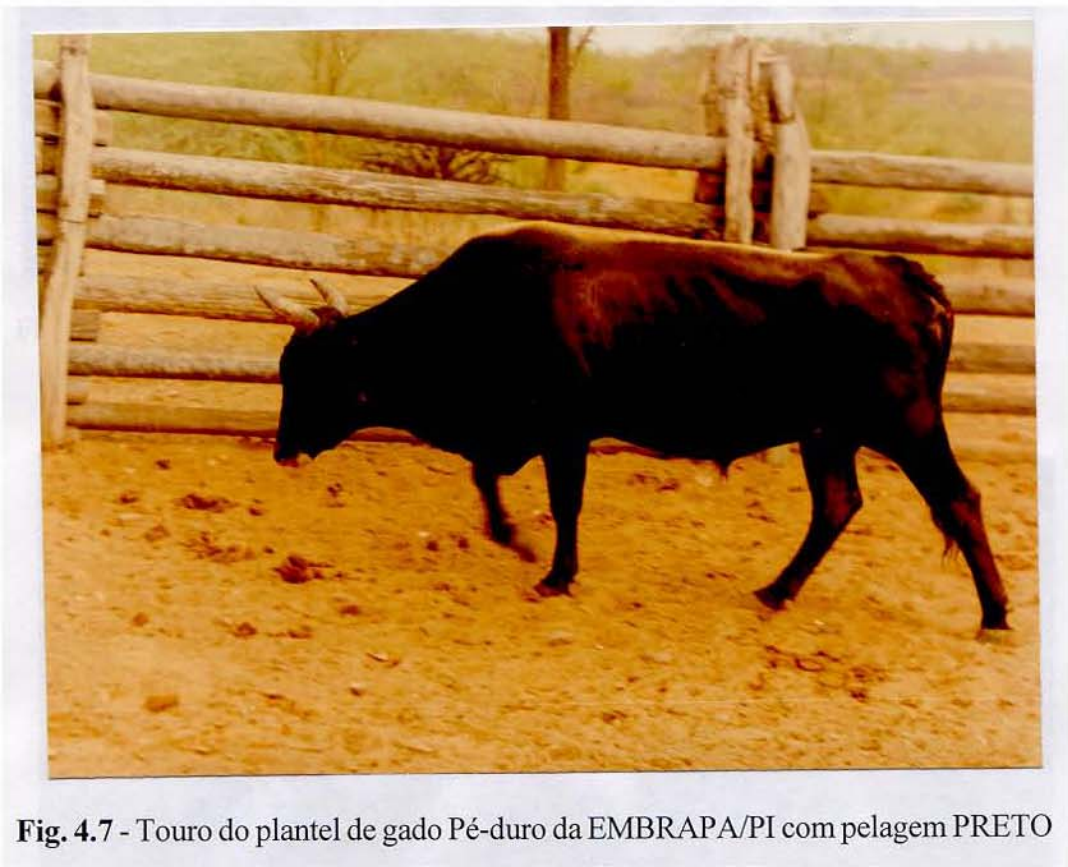


Fig. 4.7 - Touro do plantel de gado Pé-duro da EMBRAPA/PI com pelagem PRETO

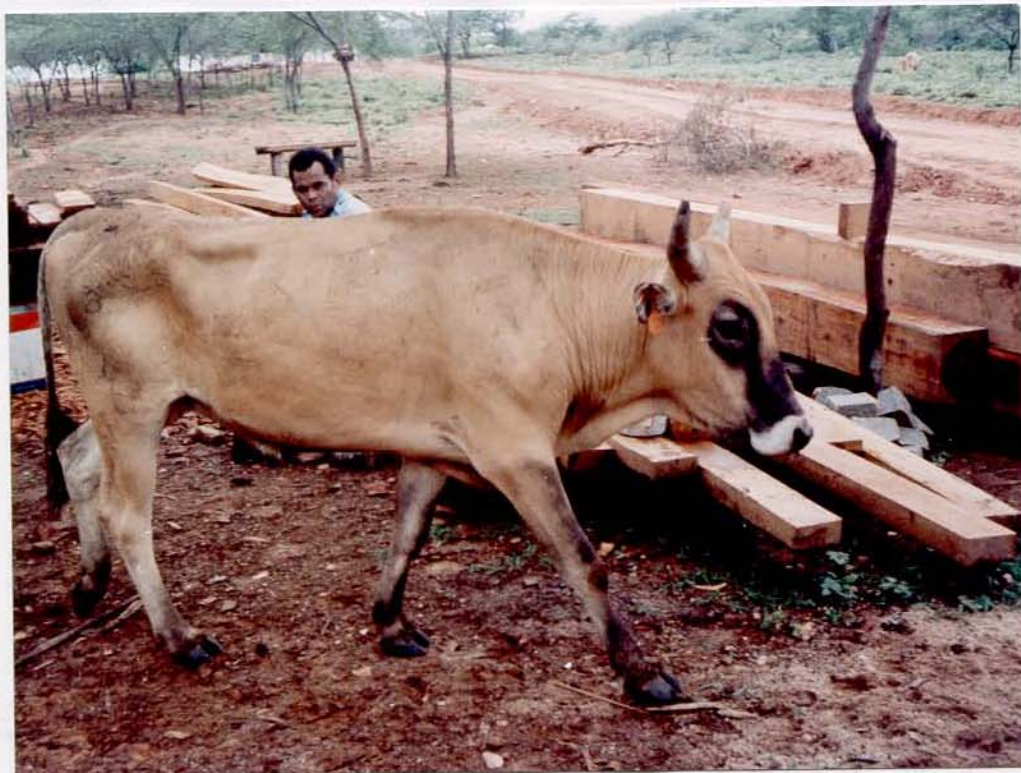


Fig. 4.8 - Exemplar de gado Pé-duro típico com aproximadamente 04 anos de idade. Pelagem Amarelo liso.



Fig. 4.9 - Touro mestiço de Pé-duro com Zebu. Características de contaminação racial aparente: orelhas médias, bainha descolada (a), prepúcio penduloso (b) e barbela descolada (c). Pelagem Amarelo com fusco.

Foi realizado o teste de quiquadrado para investigar se as variáveis grau de contaminação racial e tipo de cromossomo Y apresentavam algum grau de associação entre si. Para tanto, calculou-se o valor da estatística χ^2_v , conforme descrito na metodologia, com base nas frequências observadas e no cálculo das frequências esperadas, constantes na (Tabela 7).

Tabela 7 - Frequências observadas e esperadas do grau de contaminação racial conforme tipo de cromossomo Y.

TIPO DE CROMOSSOMO Y \ GRAU DE CONTAMINAÇÃO RACIAL	NENHUM		BAIXO		ALTO		TOTAL
	OBSERVADA	ESPERADA	OBSERVADA	ESPERADA	OBSERVADA	ESPERADA	
ACROCÊNTRICO	13	14,28	24	24,48	14	12,24	51
SUBMETACÊNTRICO	8	6,72	12	11,52	4	5,76	24
TOTAL	21		36		18		75
$\chi^2_{\text{cálculo}}$							1,18*

* comparável com o valor tabelado $\chi^2_2 = 5,99$ ao nível de probabilidade de 5%.

Foi considerada grau de contaminação racial baixo para os animais que tinham apenas uma característica e grau de contaminação racial alto para os animais que apresentavam duas ou mais.

Concluiu-se, após a realização do referido teste, a um nível de significância de 5%, que as variáveis estudadas são independentes, ou seja, não apresentam nenhum tipo de associação entre si.

4.5. PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIIS NO TOTAL DA AMOSTRA

As anomalias do tipo estruturais e que envolvem rearranjo cromossômico, não foram observadas nos animais analisados com a metodologia utilizada neste trabalho. No total da amostra, foram identificadas apenas alterações estruturais conhecidas como quebras cromossômicas ou intervalos acromáticos (I.A.) (Figuras 4.10 - 4.11), tendo sido também detectado em metáfases de alguns animais, um fragmento heterocromático arredondado.

As tabelas 8, 9 e 10 mostram os dados de anomalias estruturais analisados por consideração de grupos e morfologia do cromossomo Y.

No grupo I, os animais com Y acrocêntrico apresentaram uma prevalência máxima de 12% de quebras cromossômicas ou intervalos acromáticos, incluindo quebras no cromossomo sexual X e em cromossomo autossômico, contudo a frequência de quebras foi mais alta em cromossomo autossômico (12%) e mais baixa em cromossomo X (4%) (Tabelas 8 e 9). Foi detectado também a ocorrência de um fragmento heterocromático nas metáfases de alguns animais. No caso do touro 89, a prevalência foi alta em relação aos demais, atingindo 32% e no touro 209 em uma única metáfase, existiam três fragmentos heterocromáticos. Com respeito ainda ao grupo I, nos cromossomos dos animais com Y submetacêntrico não foram detectadas tais alterações.

No grupo II, os animais com Y acrocêntrico apresentaram uma prevalência máxima de 8% para quebras cromossômicas (Touro 380) e de 8% para presença de fragmento heterocromático nas metáfases examinadas. (Touro 299) (Tabela 9). Nos animais com Y submetacêntrico a prevalência máxima para as duas alterações foi a mesma (8%) (Touros 309 e 364 respectivamente) (Tabela 10).



Figura 4.10 - Célula em metáfase apresentando cromossomo com intervalo acromático em cromossomo autossômico e detalhe da quebra.

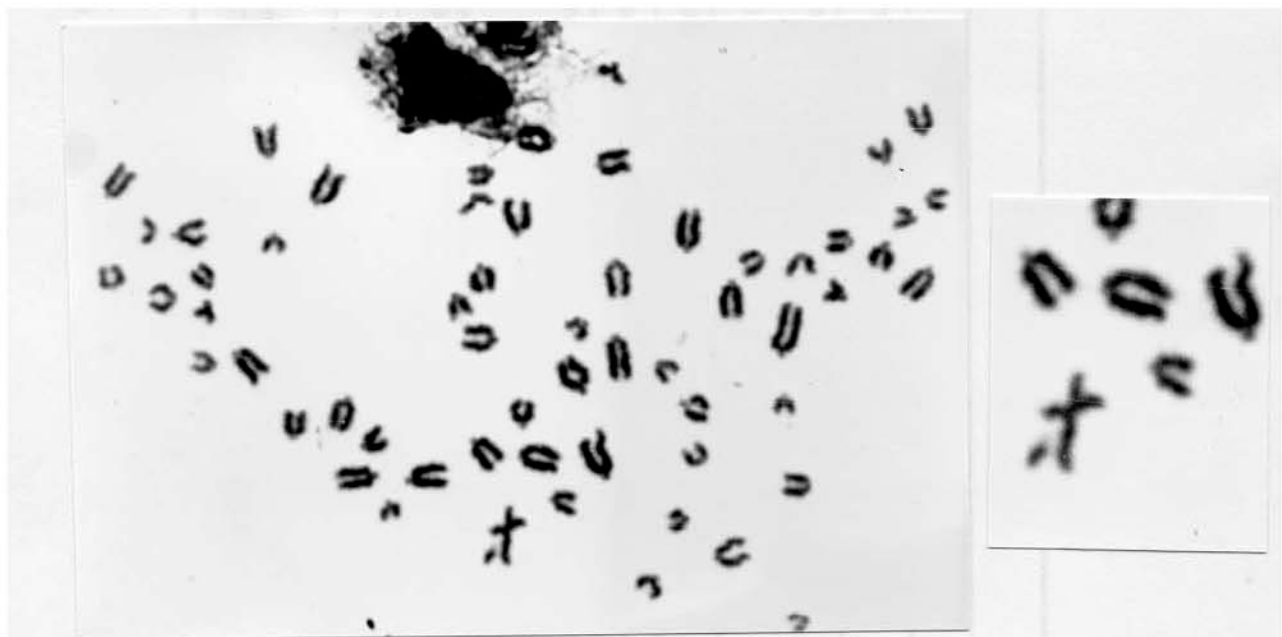


Figura 4.11 - Célula em metáfase apresentando cromossomo com intervalo acromático em cromossomo sexual X e detalhe da quebra.

Tabela 8 - Prevalência de quebras cromossômicas e fragmentos heterocromático em 25 metáfases examinadas (animais com Y acrocêntrico/grupo I)

CÓDIGO DO ANIMAL	TIPO DE ALTERAÇÃO	TOTAL DE METÁFASES COM ALTERAÇÃO	PREVALÊNCIA (%)
55	Fh	1	4
42	Fh	1 (quebra no cromossomo X)	4
81	I.A.	1 (quebra no cromossomo X)	4
89	Fh	8	32
	I.A.	3 (quebra em autossomo)	12
104	I.A.	3 (quebra em autossomo)	12
188	Fh	2 (quebra em autossomo)	8
209	Fh	1 (metáfase com 2n=60 e 3 fragmentos heterocromáticos)	4
224	I.A.	2 (quebra em autossomo)	8
225	Fh	1	4
281	Fh	1	4

Fh = Fragmento heterocromático

I.A. = Intervalo acromático

Tabela 9 - Prevalência de quebras cromossômicas e fragmento heterocromático em 25 metáfases examinadas (animais com Y acrocêntrico/grupo II)

CÓDIGO DO ANIMAL	TIPO DE ALTERAÇÃO	TOTAL DE METÁFASES COM ALTERAÇÃO	PREVALÊNCIA (%)
295	Fh	1	4
299	Fh	2	8
333	I.A.	1 (quebra em autossomo)	4
359	Fh	1	4
	I.A.	1 (quebra em autossomo)	4
369	Fh	1	4
380	I.A	1 (quebra no cromossomoX)	4
	I.A.	2 (quebra em autossomo)	8

Fh = Fragmento heterocromático

I.A. = Intervalo acromático

Tabela 10 - Prevalência de quebras cromossômicas e fragmento heterocromático em 25 metáfases examinadas (animais com Y submetacêntrico/grupo II)

CÓDIGO DO ANIMAL	TIPO DE ALTERAÇÃO	TOTAL DE METÁFASES COM ALTERAÇÃO	PREVALÊNCIA (%)
309	Fh	2	8
328	Fh	1	4
339	Fh	1	4
350	Fh	1	4
364	Fh	2	8

Fh = Fragmento heterocromático

I.A. = Intervalo acromático

4.6. PREVALÊNCIA DE DISTÚRBIOS DE NÚMERO CROMOSSÔMICO NO TOTAL DA AMOSTRA

Tendo em vista que os bovinos apresentam células diplóides com $2n=60$ cromossomos, os resultados observados nas culturas de linfócitos põem em evidência a existência de um número de células que não possuem o número modal de cromossomos. Estas metáfases não habituais apresentam número cromossômico que varia de uma hipodiploidia a uma tetraploidia (Figuras 4.12 - 4.15).

Nos dois grupos de animais, as metáfases examinadas apresentaram uma variação no número modal de cromossomos, $2n=60$, com o seguinte intervalo $57 \leq 2n \leq 120$.

A Tabela 11 apresenta os animais do Grupo I (animais com Y acrocêntrico) que apresentaram metáfases com variação no número de cromossomos. O percentual de metáfases com alteração variou de 4 a 32% por consideração individual. Os animais que apresentaram maiores índices de metáfases com distúrbios de número foram os touros 209 (24%) e 269 (32%) (Tabela 11). Com respeito aos animais com Y submetacêntrico a frequência total de variação cromossômica foi 16% refletida somente pela presença de células tetraplóides ou poliplóides (Tabela 12).

A Tabela 13 apresenta os animais do Grupo II (com Y acrocêntrico) que apresentam metáfases com variação no número de cromossomos. O percentual de metáfases com alteração variou de 4 a 20% entre os animais. Sendo o índice máximo de variação verificado no touro 409 (Tabela 13). Com relação aos animais com Y submetacêntricos, alguns apresentaram índices altos de metáfases com distúrbios de número cromossômico: 16% (Touro 401), 24% (Touros 318 e 359), 32% (Touro 391) (Tabela 14).

A presença de metáfases com $4n$ cromossomos (células poliplóides) detectada em 19 animais com uma incidência de 4 a 16% (Tabelas 11, 12, 13 e 14) pode ser ilustrada através da figura 4.15.

A Tabela 15 apresenta a comparação do percentual de células hipodiplóides, hiperdiplóides e poliplóides nos animais do Grupo I, Grupo II e no total da amostra.

Dentre as células hipodiplóides observadas, a maioria (2,35%), quando analisou-se o total de indivíduos, apresentou alterações do tipo monossomia ($2n-1$) que no caso dos bovinos corresponde a um cariótipo do tipo 59,XY.

No caso das células hiperdiplóides encontradas a maioria delas (0,64%) apresentou trissomia pelo ganho de um cromossomo ($2n+1$) que no caso dos animais estudados corresponde a um cariótipo do tipo 61,XY. O Grupo I apresentou um maior percentual de células com este tipo de alteração (0,86%) em relação ao Grupo II (0,42%).

O percentual de células poliplóides foi baixo quando se analisaram os animais por consideração de Grupos (2,38 e 1,47% para o Grupo I e II, respectivamente) e no total de indivíduos (1,92%).

Metáfases com $2n+2$ cromossomos foram mais difíceis de serem detectadas, sendo o percentual de 0,26% para o total da amostra.

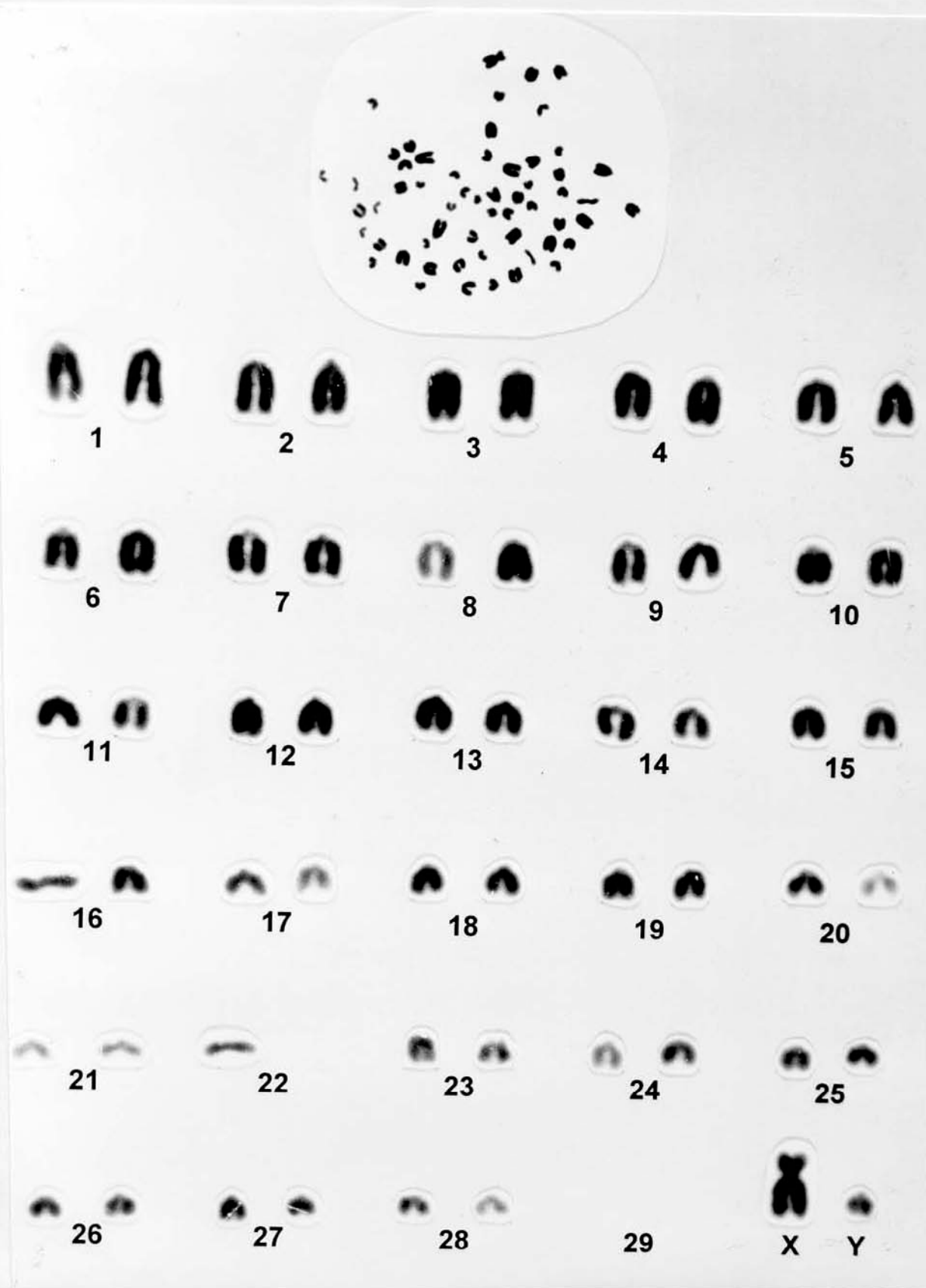


Fig. 4.12 - Cariótipo com cromossomos corados com Giemsa, evidenciando a constituição 57,XY de macho do rebanho de gado Pé-duro (Touro 239).

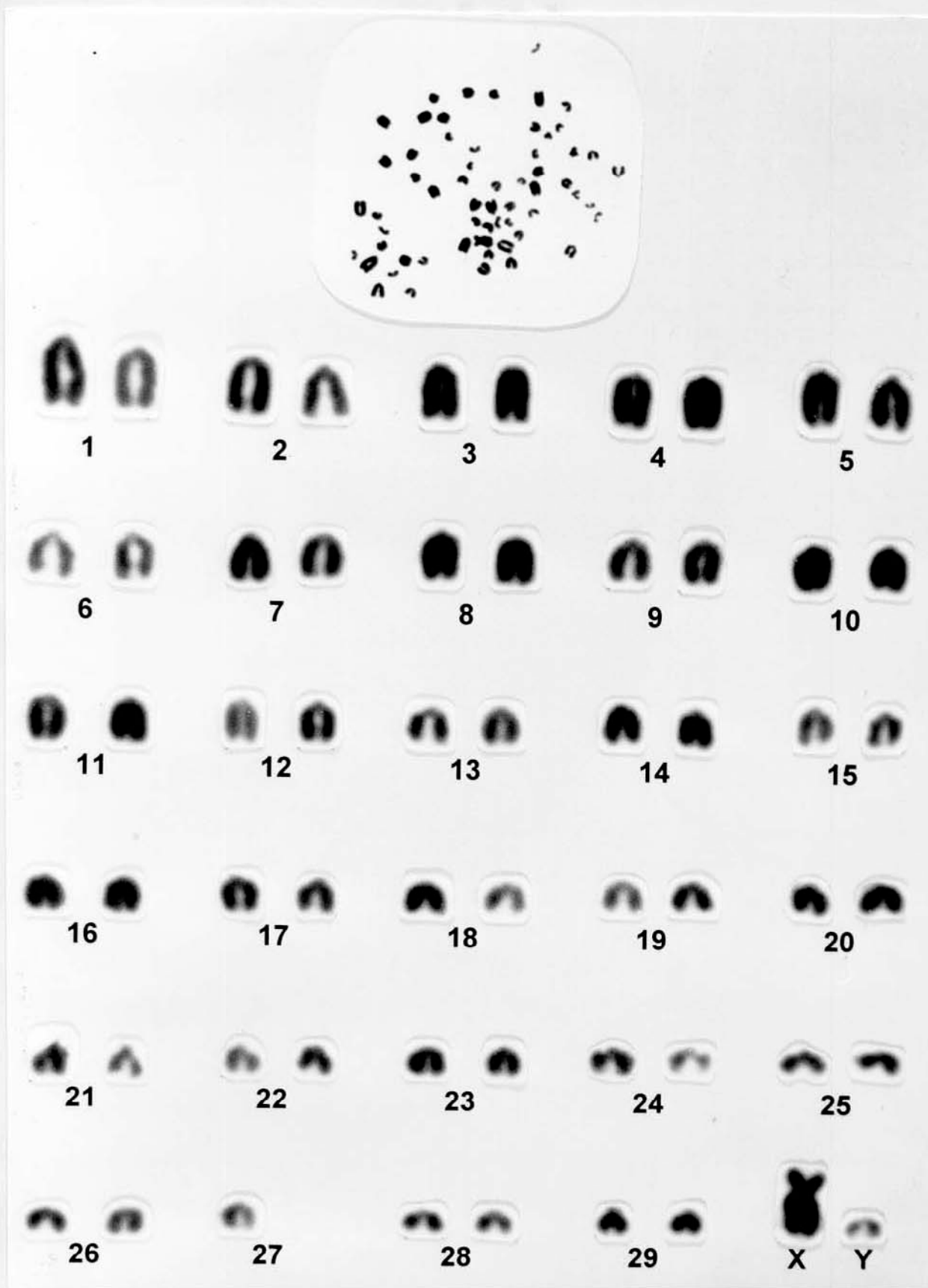


Fig. 4.13 - Cariótipo com cromossomos corados com Giemsa, evidenciando a constituição 59,XY de macho do rebanho de gado Pé-duro (Touro 318).

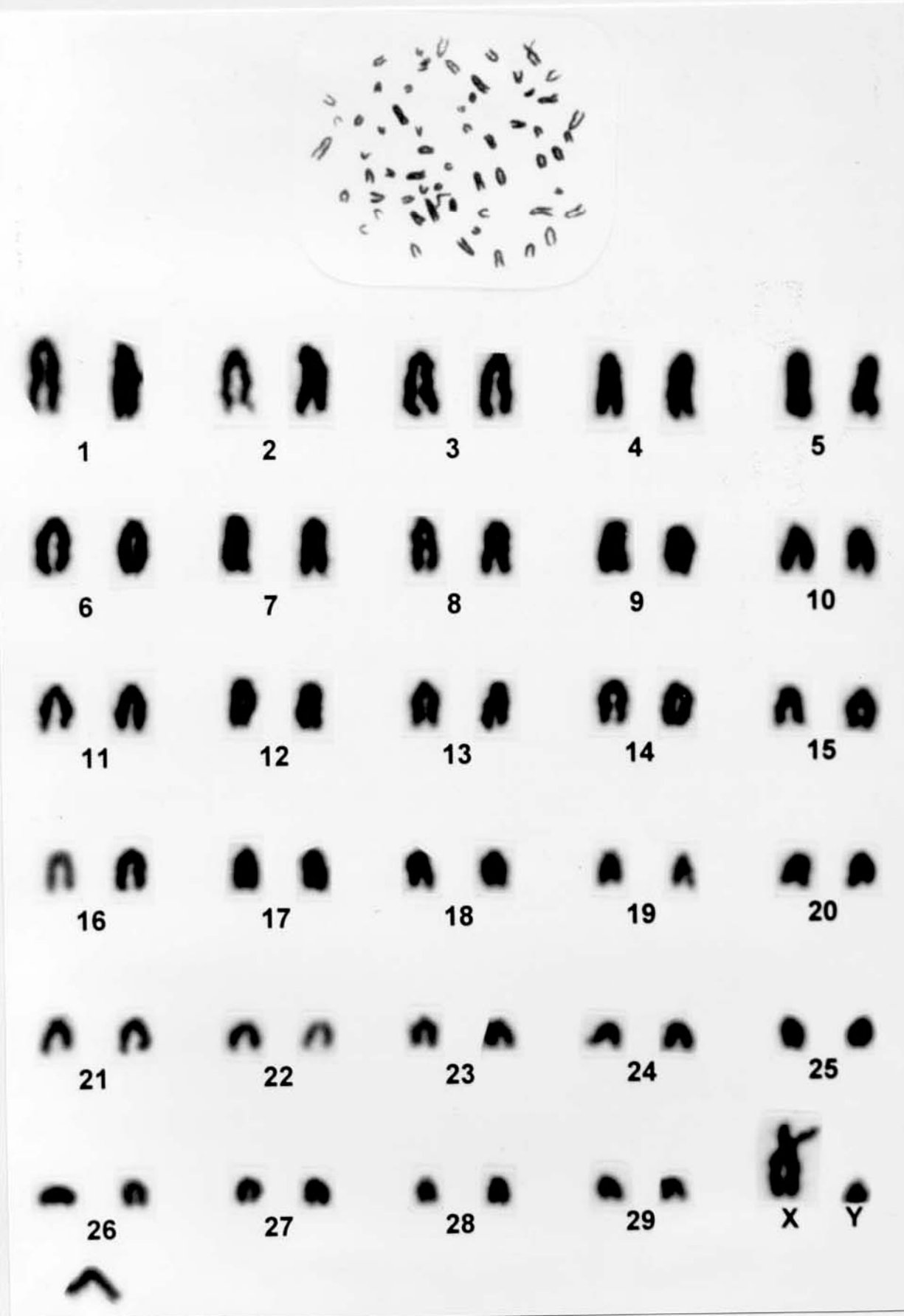


Fig. 4.14 - Cariótipo com cromossomos corados com Giemsa, evidenciando a constituição 61,XY de macho do rebanho de gado Pé-duro (Touro 77).

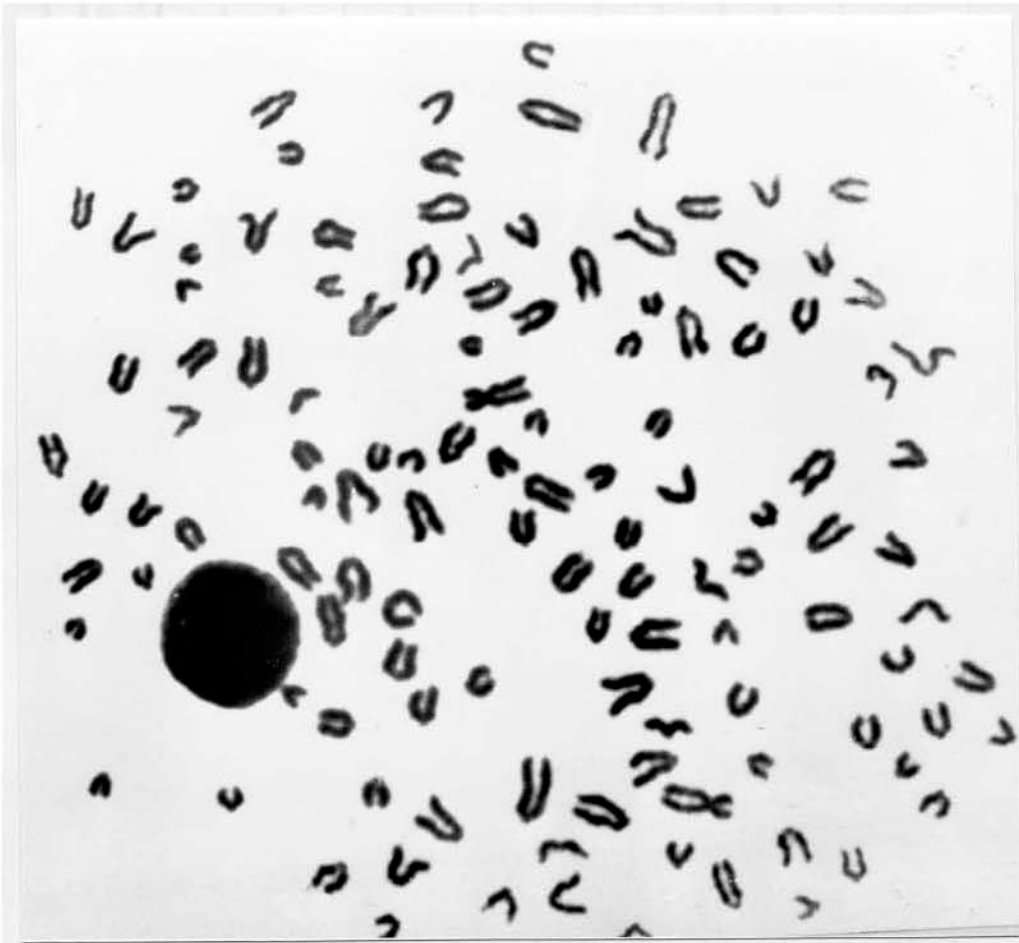


Fig. 4.15 - Célula em metáfase apresentando o fenômeno de poliploidia (Touro 189).

Tabela 11 - Frequência de células com número diplóide normal de cromossomos ($2n=60$) e com variação em 25 metáfases examinadas (animais com Y acrocêntrico/Grupo I).

Código do animal	Número de cromossomos							Frequência total de variação por animal
	57	58	59	60	61	Células $4n$ *		
55 NC F		4 12%	1 4%	21 84%				16%
42 NC F				22 88%		3 12%		12%
59 NC F				23 92%		2 8%		8%
77 NC F				22 88%	3 12%		1 4%	12%
81 NC F							2 8%	4%
89 NC F				23 92%			2 8%	8%
209 NC F		1 4%	3 12%	19 76%	1 4%	1 4%		24%
217 NC F		2 8%		23 92%				8%
225 NC F		1 4%	1 4%	23 92%				8%
249 NC F				23 92%	2 8%			8%
269 NC F		3 12%	3 12%	16 64%	2 8%	1 4%		32%
274 NC F				22 88%		3 12%		12%
275 NC F				22 88%		3 12%		12%
281 NC F	1 4%	2 8%	1 4%	20 80%		1 4%		20%
292 NC F			3 12%	22 88%				12%

NC = número de células

F = frequência em porcentagem

* $4n$ = célula poliploide

Tabela 12 - Frequência de células com número diplóide normal de cromossomos ($2n=60$) e com variação em 25 metáfases examinadas (animais com Y submetacêntrico/Grupo I).

Código do animal	Número de cromossomos					Frequência total de variação por animal
	57	59	60	Células 4n *		
189	NC			21	4	16%
	F			84%	16%	
308	NC	1	2	22		12%
	F	4%	4%	88%		
314	NC	1		22	1	8%
	F	4%		88%	4%	

NC = número de células

F = frequência em porcentagem

* 4n = célula poliplóide

Tabela 13 - Frequência de células com número diplóide normal de cromossomos (2n=60) e com variação em 25 metáfases examinadas (animais com Y acrocêntrico/Grupo II).

Código do animal	Número de cromossomos										Frequência total de variação por animal
	57	58	59	60	61	62	Células 4n *				
222 NC F			2 8%	23 92%							8%
239 NC F	3 12%			22 88%							12%
326 NC F			3 12%	22 88%							12%
328 NC F			3 12%	22 88%							12%
339 NC F		1 4%	1 4%	22 88%			1 4%				12%
350 NC F				24 96%			1 4%				4%
364 NC F				23 92%	2 8%						8%
374 NC F		1 4%		24 96%							4%
383 NC F	1 4%	1 4%		22 88%		1 4%	2 8%				12%
403 NC F			1 4%								4%
405 NC F			2 8%	22 88%							12%
409 NC F			3 12%	20 80%			2 8%				20%

NC = número de células F = frequência em porcentagem * 4n = célula poliplóide

Tabela 14 - Frequência de células com número diplóide normal de cromossomos ($2n=60$) e com variação em 25 metáfases examinadas (animais com Y submetacêntrico/Grupo II).

Código do animal	Número de cromossomos										Frequência total de variação por animal	
	58	59	60	61	62	Células 4n *						
295 NC F		1 4%	24 96%									4%
318 NC F		6 24%	19 76%									24%
359 NC F	2 8%	2 8%	19 76%			2 8%						24%
361 NC F			23 92%			2 8%						8%
415 NC F			24 96%		1 4%							4%
369 NC F		1 4%	23 92%	1 4%								8%
380 NC F		2 8%	23 92%									8%
391 NC F	1 4%	3 12%	19 76%		1 4%	3 12%						32%
401 NC F			21 84%	1 4%	2 8%	1 4%						16%

NC = número de células F = frequência em porcentagem * 4n = célula poliplóide

Tabela 15 - Percentual de Células Hipodiplóides, Hiperdiplóides e Poliplóides nos animais do Grupo I, Grupo II e no total da amostra.

Tipos de células	Nº de cromosomas contados	Grupo I N = 37	Grupo II N = 38	Total de Indivíduos N = 75
Células Hipodiplóides (%)	57	0,32	0,42	0,37
	58	1,40	0,63	1,01
	59	1,51	3,16	2,35
Células Hiperdiplóides (%)	61	0,86	0,42	0,64
	62	0,00	0,53	0,26
Células Poliplóides (4n) (%)	120	2,38	1,47	1,92
Total de Células com Variação (%)		6,47	6,63	6,55

5. DISCUSSÃO

5.1. MORFOLOGIA DOS CROMOSSOMOS AUTOSSÔMICOS E SEXUAIS

Como já é bem conhecido, o número diplóide de cromossomos de bovinos, tanto para animais da subespécie *Bos taurus taurus*, como da subespécie *Bos taurus indicus* é $2n = 60$. Este número, já havia sido determinado por KRALLINGER (1927; 1931), há mais de 60 anos. Desse modo, o número de cromossomos encontrado neste trabalho para os bovinos do rebanho Pé-duro ($2n = 60$), está de acordo com o esperado, considerando que o número de cromossomos é uma característica constante dentro das espécies. Do mesmo modo, a morfologia dos cromossomos autossômicos dos animais não se apresentou diferente da esperada para os bovinos, sendo todos os autossômicos com centrômero terminal e acrocêntricos.

Com respeito aos cromossomos sexuais, o cromossomo X, de tamanho comparável ao primeiro par de autossomos não apresentou variação morfológica em todos os animais analisados, sendo de centrômero subterminal e submetacêntrico o que também já era esperado, pois não existe nenhuma citação na literatura sugerindo a existência de alguma diferença morfológica no cromossomo X, entre os bovinos. Já no caso do cromossomo sexual Y foi constatado heteromorfismo e os resultados mostraram que a maioria dos animais apresentam cromossomos Y acrocêntrico numa proporção de 68% acrocêntricos para 32% submetacêntricos no total da amostra.

5.2. POLIMORFISMO DO CROMOSSOMO Y

A existência de duas apresentações morfológicas do cromossomo Y em bovinos é fato conhecido desde 1968 por KIEFFER & CARTWIGHT e WURSTER & BENIRSCHKE. Há relatos de cariótipos similares, para diferentes raças bovinas, com única diferença no cromossomo Y, que nas raças de origem européia é submetacêntrico (HALNAN, 1975; POPESCU, 1976) e nas de origem asiática é acrocêntrico, (ex., raças Brahman, Gyr, Guzerá, Hariana, Nelore, Sahival, Shindi e Red Shindi) (JORGE, 1974; GUPTA et alii, 1974; HALNAN, 1976; TAMBASCO, 1976; BENJAMIM & BHAT, 1977). Além do posicionamento variável do centrômero acima referido, o cromossomo Y de bovinos tem sido descrito com apresentações também variáveis de tamanho (FECHHEIMER, 1973; JORGE, 1974).

TAMBASCO (1976) comparando os cariótipos de duas subespécies concluiu que a diferença morfológica existente entre os cromossomos Y desses animais poderia ser explicada através de uma inversão pericêntrica. Embora considere mais provável que o cromossomo Y acrocêntrico tenha se originado do submetacêntrico, não despreza a possibilidade do inverso ter ocorrido.

LUZ & GIANNONI (1978) consideram maior a possibilidade do cromossomo Y de *Bos taurus indicus* ter se originado, por inversão pericêntrica, do Y de *Bos taurus taurus*, levando-se em conta o porte deste cromossomo na primeira subespécie. A biometria do cromossomo Y dos zebuínos indica que este corresponde a 57,39% do cromossomo Y dos taurinos e que é aproximadamente 0,98 μm menos longo (taurinos - Y \cong 2,30 μm , zebuínos - Y \cong 1,32 μm). Consideram ainda a possibilidade do Y submetacêntrico possuir DNA repetitivo. Mas apesar disto, julgam mais provável que o Y acrocêntrico tenha perdido DNA inativo durante o processo de sua formação por inversão pericêntrica a partir de um cromossomo maior submetacêntrico. Assim, descrevem o mecanismo provável de evolução do Zebu, que deve ter sido o seguinte: a) quebras no cromossomo Y submetacêntrico; b) inversão pericêntrica; c) fusão com perda de material genético. Esta linha de pensamento tem apoio nas observações feitas por BLAZAK & ELDRIDGE (1977) sobre o menor tamanho do cromossomo translocado 1/29 em

relação à soma dos comprimentos dos cromossomos pertencentes aos pares 1 e 29. Neste caso foi verificada a perda de aproximadamente 10% de heterocromatina centromérica, durante o processo de fusão dos cromossomos acrocêntricos envolvidos na translocação.

Em nove cruzamentos entre zebuínos e gado europeu, com 92 indivíduos testados, encontrou-se Y acrocêntrico quando o pai era zebuíno e Y submetacêntrico quando o progenitor paterno tinha origem européia (KIEFFER & CARTWRIGHT, 1968; JORGE, 1974; HALNAN & FRANCIS, 1976; TAMBASCO, 1976; BENJAMIM & BHAT, 1977; ELDRIDGE & BLAZAK, 1977).

Na raça Ibagé, produto de cruzamento entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* (5/8 Aberdeen Angus e 3/8 Nelore), PINHEIRO et alii, (1979) encontraram uma situação peculiar, caracterizada pela coexistência do Y submetacêntrico e acrocêntrico no rebanho, devido a três diferentes esquemas de acasalamento. De 40 machos analisados quanto ao tipo de cromossomo Y, 62,50% apresentaram o tipo acrocêntrico. A respeito deste polimorfismo do cromossomo Y foi concluído que se tratava de uma herança devida ao uso simultâneo de reprodutores *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*.

Na raça Pé-duro, encontramos uma situação semelhante à dos descendentes da raça Ibagé, e acreditamos que a presença de Y acrocêntrico, em maior proporção (68%), se deva aos cruzamentos absorventes, que foram mais intensos com o gado Zebu, tornando assim a raça mestiça. Considerando a origem *Bos taurus taurus* do gado Pé-duro, e a identificação de Y submetacêntrico em 32% dos animais associada às características fenotípicas da raça podemos supor que esses animais, são os mais próximos de sua ancestralidade européia, ou seja, representam dentro do rebanho, os exemplares mais típicos do gado Pé-duro.

Por outro lado, o dimorfismo do cromossomo Y no gado Pé-duro poderá indicar a participação das duas subespécies de bovinos na formação desta raça.

TAMBASCO (1985) realizando estudo cromossômico em raças naturalizadas de bovinos existentes no Brasil analisou metáfases de linfócitos de 42 animais pertencentes às raças Caracu, Mocho Nacional, Curraleiro (ancestral do gado Pé-duro) e Crioulo Lageano. Em termos qualitativos 3 raças (Caracu, Mocho Nacional e Curraleiro) apresentaram dimorfismo para o cromossomo Y, o que indica a participação das subespécies *Bos taurus taurus* (Y submetacêntrico) e *Bos taurus indicus* (Y acrocêntrico) na formação destas raças. Para análise

quantitativa do dimorfismo do cromossomo Y, através do teste de X^2 com correção de continuidade, as 4 raças estudadas foram agrupadas, de acordo com a semelhança das frequências relativas do cromossomo Y acrocêntrico, em 2 tratamentos: Crioulo Lageano (CL) e Caracu-Curraleiro-Mocho Nacional (CCMN). O valor de X^2 obtido, com 1 grau de liberdade foi significativo ao nível de 5% de probabilidade. Desse modo foi concluído que existia diferença significativa entre os dois grupos raciais quanto à frequência dos cromossomos Y acrocêntrico e submetacêntrico. O cromossomo Y acrocêntrico foi mais freqüente nas raças Caracu, Curraleiro e Mocho Nacional (0,92%) do que na raça Crioulo Lageano (0,43%).

Considerando que as raças heteromórficas quanto ao cromossomo Y (submetacêntrico e acrocêntrico) recebem contribuições para a sua formação de machos das duas subespécies existentes (PINHEIRO et alii., 1976b; PINHEIRO, 1979c; TAMBASCO, 1985), com respeito à raça Pé-duro podemos fazer as seguintes suposições: ser a raça heteromórfica pelo fato de que o gado Curraleiro (ancestral do gado Pé-duro) apresenta o heteromorfismo do cromossomo Y; ser uma raça de origem européia e pertencente à subespécie *Bos taurus taurus*; neste caso, os animais representantes típicos da raça, seriam os que apresentam o Y submetacêntrico; serem os animais com Y acrocêntrico, animais mestiços, com contaminação racial aparente. Neste último caso, os animais com Y acrocêntrico certamente possuiriam progenitores de origem diversa, sendo o macho Zebu e a matriz Pé-duro. Como já foi bem relatado por CARVALHO (1985), no caso do gado Pé-duro, os machos vinham sendo castrados e colocados para o corte enquanto a matriz Pé-duro era usada nos cruzamentos absorventes, o que provocou o processo de extinção parcial ou quase total do gado Pé-duro no Estado do Piauí.

Conforme TAMBASCO (1976) o cruzamento de *Bos taurus taurus* com *Bos taurus indicus*, associa certas qualidades do primeiro como maturidade precoce e produtividade à rusticidade e resistência à doenças do segundo.

Os animais formados pelo cruzamento das duas subespécies reúnem qualidades como: maiores índices de desenvolvimento ponderal, maior rendimento em carne, reduzida taxa de perdas, marcante capacidade de adaptação a diferentes condições de meio e elevados padrões de produtividade e fertilidade. Esse fato explica a importância dos cruzamentos do gado Pé-duro com o gado zebu.

5.3. MEDIDAS DAS ESTRUTURAS EXTERNAS DA GENITÁLIA DE MACHOS COM Y ACROCÊNTRICO E Y SUBMETACÊNTRICO E COMPARAÇÕES ESTATÍSTICAS.

As diferenças entre as duas subespécies de bovinos são muito evidentes, seja na origem e distribuição geográfica das raças, na morfologia do cromossomo Y e no padrão fenotípico dos animais. Contudo, a maioria das diferenças existentes entre o *Bos taurus taurus* e o *Bos taurus indicus* é evidentemente gênica, uma vez que os padrões de bandas cromossômicas têm evidenciado uma identidade entre todos os cromossomos das duas subespécies (GUPTA et alii, 1974; TOLL & HALNAN, 1976).

As análises conduzidas para os dados biométricos referentes às medidas da genitália externa dos touros não demonstraram no presente estudo diferença estatística entre as variáveis enfocadas. A única diferença significativa ao nível de 5% foi para as médias das bainhas do prepúcio dos animais com cromossomo Y acrocêntrico comparadas com as médias das bainhas do prepúcio dos animais com cromossomo Y submetacêntrico quando os dois grupos de idade foram reunidos (Tabela 4).

Segundo PINHEIRO et alii, 1979 uma das diferenças mais marcantes entre as subespécies *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* está na conformação prepucial. Os animais *Bos taurus indicus* possuem prepúcio longo, enquanto os animais *Bos taurus taurus* possuem prepúcio curto, sendo esta uma característica da conformação genética normal dentro de cada subespécie. Com base nos resultados obtidos para as médias das bainhas do prepúcio no total da amostra e na diferença da conformação prepucial entre as duas subespécies, é possível a suposição de que os animais com Y acrocêntrico sejam os animais que apresentam conformação prepucial maior, pois quanto maior a bainha, maior o prepúcio. Embora sejam do rebanho de gado Pé-duro, apresentam grau de contaminação racial de Zebu.

5.4. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DOS ANIMAIS, GRAU DE CONTAMINAÇÃO RACIAL APARENTE E RESULTADOS ESTATÍSTICOS

Conforme descrito em resultados a maioria dos animais estudados apresentou as características típicas do gado Pé-duro que são orelhas curtas (82,7%) e barbela reduzida (61,3%), o que já era esperado para os animais do rebanho Pé-duro, que se caracterizam por pequeno porte.

Do mesmo modo, a maioria dos animais apresentou o tipo de pelagem amarelo liso (41,3%), que é a pelagem predominante no rebanho Pé-duro, seguido do tipo amarelo com fusco (22,7%) o que está de acordo com descrições de CARVALHO, (1983) e BRITTO, (1987).

A contaminação racial é a presença "indesejada", em uma raça, de genes de outras raças que não contribuíram para sua formação. Assim, podemos determinar o grau de contaminação racial observando as características qualitativas da raça (fenótipo) ou quantitativamente, durante os processos de acasalamento. Para o rebanho Pé-duro, de acordo com critérios pré-estabelecidos foi observada contaminação racial nos animais, sendo esta mais nítida nos animais portadores de cromossomos Y acrocêntrico (apresentavam duas ou mais características de contaminação racial simultaneamente). Embora essas informações sejam verdadeiras, não têm suporte estatístico, pois conforme os resultados dos teste de qui-quadrado, as variáveis grau de contaminação racial e tipo de cromossomo Y são duas variáveis independentes ao nível de 5% de significância. Assim, o fato do animal ter o cromossomo Y do tipo acrocêntrico ou submetacêntrico independe do grau de contaminação racial e vice-versa. Desse modo, podemos afirmar que o tipo de cromossomo Y funciona apenas como indicador da subespécie de bovino a que pertence o animal e da diferenciação sexual do mesmo (formação de testículo), não influenciando nas demais características fenotípicas.

A pureza biológica seria a ocorrência, em uma raça, de homozigose com relação a todos os caracteres qualitativos e quantitativos. Na realidade não existe uma raça biologicamente pura com relação a todos esses caracteres. No caso do gado Pé-duro que é uma raça nativa-derivada e que sofreu cruzamentos absorventes com o gado zebu, visando melhorias para essa

raça (aquisição da resistência do Zebu), apresenta, embora não passível de cálculo, grau de contaminação racial de gado Zebu, como foi bem constatado no levantamento das características fenotípicas. Além disso, é possível supor, teoricamente, frente aos diferentes tipos de cor da pelagem, diferenciação no porte dos animais, e de outras características que a raça apresente variedade o que seria uma subdivisão da raça, como ocorreu com a raça de gado holandêsa que apresenta duas variedades, a preta e branca e a vermelha e branca. Como as análises conduzidas no material de estudo não demonstraram dependência entre as variáveis enfocadas (Tabela 7), tal resultado permite pensar que no único cromossomo diferente no cariótipo das duas subespécies, haja o mesmo material genético.

5.5. PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS CROMOSSÔMICAS NO TOTAL DA AMOSTRA

No total da amostra os animais com alterações cromossômicas estruturais do tipo quebras cromossômicas ou intervalos acromáticos apresentaram uma frequência baixa para este tipo de alteração. Fazem exceção os touros 89 e 104 com frequência de 12% de quebras cromossômicas.

Existem condições de patologia humana que são acompanhadas de quebras cromossômicas, como na Síndrome de Fanconi, Síndrome de Bloom, Ataxia e Telangiectasia (SCHROEDER et alii, 1964; GERMAN, 1964; HECHT et alii, 1966). Ainda no xeroderma pigmentoso, um defeito enzimático de reparo de DNA leva ao aparecimento de múltiplas quebras cromossômicas nas culturas. Todos estes casos, entretanto, são acompanhados de patologias variadas nos afetados.

No caso dos bovinos, os intervalos acromáticos são alterações estruturais identificadas tanto em animais normais como em animais com distúrbios diversos como: paraqueratose, subfertilidade e infertilidade, infecção por vírus ou micoplasmas e nanismo hereditário (HERZOG & HOHN, 1971; HALNAN, 1975; BONGSO & BASRUR, 1976; MAGARAJA & HEDGE, 1987; HERZOG et alii, 1977). HALNAN (1976a), encontrou esta alteração autossômica em 5 e 10% das células mitóticas de touros com anotações de sub-fertilidade e infertilidade. BONGSO & BASRUS (1976), identificaram em touros Guernsey de fertilidade reduzida, 10 a 15% de células com

intervalos acromáticos e quebras, em comparação com 2,8 a 5,8%, naqueles de fertilidade normal. Desse modo, os 12% de células com intervalos acromáticos ou quebras encontrados para os touros 89 e 104 são indicativos de que estes animais possam ter alterações de fertilidade, considerando que a frequência de quebras está na faixa considerada indesejável e o fato de que os animais não apresentam outras patologias.

Como já descrito em resultados, além das quebras cromossômicas, nas células mitóticas dos animais, foi identificado a presença de um fragmento arredondado heterocromático em metáfases com número diplóide ($2n=60$) normal.

TAMBASCO, (1976) e MORAES, (1978) descreveram a presença do fragmento heterocromático em dois casos particulares de zebuínos sem anormalidades fenotípicas. Detectaram a presença do fragmento arredondado em 50% das metáfases examinadas.

MORAES & MATTEVI (1980) observaram a mesma estrutura em um touro normando que apresentou uma linhagem celular com a presença de um fragmento cêntrico extra, em nove das vinte metáfases examinadas. O cariótipo desta linhagem, tratado para banda C, evidenciou claramente a natureza heterocromática do referido fragmento.

No caso dos animais em estudo a frequência de 32% de células com essa alteração para o touro 89 (Tabela 8) se aproxima dos achados da literatura. Contudo, não foi possível ainda correlacionar a presença do fragmento heterocromático com alguma anormalidade nos animais.

A existência de três fragmentos heterocromáticos em uma única metáfase, como foi encontrado para o touro 209 (Tabela 8) é um dado que foge do padrão normal descrito. Em decorrência disso descartamos a hipótese inicial de que o fragmento heterocromático possa ser uma cromossomo marcador, como foi sugerido por TAMBASCO (1976) em um touro Canchim, que apresentou em 9 células analisadas, 4 com cariótipo 61, XY + mar e 5 células 60,XY. O cromossomo marcador, conforme TAMBASCO (1976), era menor do que o menor acrocêntrico de todo o cariótipo, o que dificultou a identificação de sua origem mesmo com técnicas de formação de bandas G e nas células em que o marcador não era encontrado ou mesmo nas metáfases onde estava presente, o estudo dos cromossomos não mostrou qualquer anormalidade estrutural.

Devido à falta de aparente efeito fenotípico deste segmento cromossômico, MORAES (1978) sugeriu que sua origem poderia ser, teoricamente, atribuída como proveniente dos cromossomos X e Y cuja duplicação não levaria a distúrbios neste nível ou de porções autossômicas de DNA repetitivo. Neste caso, como em bovinos os cromossomos X e Y mostram apenas traços de heterocromatina centromérica e, tendo em vista a natureza heterocromática deste fragmento, é fácil supor ser o mesmo um resquício de uma região pericentromérica autossômica.

Com base em nossas observações acreditamos que o fragmento heterocromático represente pedaços de cromossomos espalhados, provenientes de outras metáfases vizinhas onde existiam quebras cromossômicas. Supomos ainda que esse espalhamento possa ter sido provocado pela centrifugação, etapa da técnica de cultura, anterior à fixação.

5.6. PREVALÊNCIA DE DISTÚRBIOS DE NÚMERO CROMOSSÔMICO NO TOTAL DA AMOSTRA

As alterações no número de cromossomos são classificadas em termos de adições ou eliminações de partes de cromossomos, de todo o cromossomo, ou de todo o conjunto de cromossomos (genomas). Estas alterações podem ser refletidas em variações fenotípicas, as quais constituem um dado valioso para identificar a influência de cada cromossomo no indivíduo. As aneuploidias são distúrbios de número em que o organismo apresenta um número cromossômico que não é múltiplo exato do número haplóide (n). Desse modo, existem as monossomias que se caracterizam pela perda de um cromossomo no genoma ($2n-1$) e as trissomias pelo ganho de um cromossomo ($2n+1$) (BEIGUELMAN, 1982).

Nas aneuploidias em que há diminuição do número cromossômico (hipodiploidias), diz-se que uma célula somática apresenta monossomia de um determinado autossomo, quando esse cromossomo não possui homólogo na célula. Nas aneuploidias em que existe aumento do número de cromossomos homólogos (hiperdiploidia), a célula é dita polissômica do cromossomo afetado e, nesse

caso, ela será especificada como trissômica, tetrassômica, pentassômica, etc., conforme existam na célula três, quatro, cinco etc. homólogos. Nas situações em que mais de um par cromossômico de uma mesma célula apresentam aberrações numéricas, tais células são referidas como apresentando aneuploidia dupla, tripla ou múltipla, conforme o número de pares afetados (BEIGUELMAN, 1982; BURNS & BOTTINO, 1991; THOMPSON et alii, 1993).

Quanto às euploidias, que dizem respeito ao aumento de pelo menos um ou à diminuição de um conjunto cromossômico haplóide, as células podem ser classificadas como triplóides, tetraplóides, octoplóides etc., de acordo com o grau de ploidia múltipla que apresentam, isto é, conforme mostrem um número cromossômico $3n$, $4n$, $8n$ etc. (BEIGUELMAN, 1982).

Conforme descrição neste trabalho, foram detectados níveis de aneuploidia e euploidia nas metáfases dos animais examinados.

De acordo com as tabelas 11, 12, 13 e 14, que relacionam os níveis de aneuploidia e euploidia por consideração individual e de grupo, a maioria dos animais apresentou simultaneamente metáfases com variação numérica que abrangia a perda de um cromossomo (monossomia), ganho de um cromossomo (trissomia) e até de todo o conjunto de cromossomo (poliploidia).

Em função dos dados encontrados, para as células hipodiplóides com o seguinte intervalo $57 \leq 2n \leq 59$ e hiperdiploides com $61 \leq 2n \leq 62$ cromossomos, não foi possível correlacionar um tipo específico de problemática nos animais, considerando que as variações numéricas nas metáfases não são constantes nem de um mesmo nível.

Duas hipóteses permitem explicar a existência de tais células: as condições de tratamento ou uma não disjunção dos cromossomos durante a anáfase.

Dois fatores podem ter ocasionado perdas de cromossomos durante o tratamento das culturas de linfócitos: um choque hipotônico demasiado violento, estourando a célula e induzindo uma dispersão importante nas metáfases; uma exposição das lâminas a um choque calórico muito intenso. Esses dois fatores podem resultar em células hiperdiploides ou com cromossomos supra-numerários, que possivelmente, poderiam ter vindo de uma outra célula (CRIBIU & POPESCU, 1977). Entretanto, esta possibilidade frequentemente pode ser descartada, porque os cromossomos

de tais células são facilmente identificáveis, em razão da diferença na espiralização dos mesmos entre as duas metáfases. Uma não disjunção de um cromossomo durante a anáfase traz por consequência, segundo HAMERTON et alii, (1965) e HANSMANN et alii, (1984), a formação de duas células filhas, onde uma possui um cromossomo em excesso e a outra um a menos.

Como a frequência de células com 57, 58 e 59 cromossomos por consideração individual (Tabelas 11, 12, 13 e 14) e por consideração de grupo (Tabela 15) é muito maior em relação à frequência para as células com 61 e 62 cromossomos, podemos admitir que essa diferença deva estar calcada nas condições de tratamento das culturas, evidenciando assim efeitos drásticos do tratamento hipotônico nos linfócitos destes organismos ou mais provavelmente, uma exposição das lâminas a um choque calórico muito intenso (CRIBIU & POPESCU, 1977).

Em geral, os distúrbios de número, descrevem malformações somáticas variáveis associadas. Para os animais que apresentaram metáfases com cariótipo do tipo 61,XY (trissomia), as alterações podem ser supostamente indicadoras de produtos não-disjuncionais decorrentes de divisões celulares anormais, que por sua vez, para o caso dos animais pés-duros, podem estar associadas com ligeiro nanismo, identificado pelo pequeno porte dos animais e que também pode ser visto por uma redução no peso do animal, que se traduz numa deficiência corporal (GLUHOVSCHI & BISTRICRANU, 1970; DARRÉ, et alii, 1970).

Ainda com respeito às células hiperdiploides com 61 cromossomos, o maior percentual de células com este tipo de alteração nos animais do grupo I (0,86%) pode ser atribuído ao fator idade dos animais em relação ao grupo II (0,42%), considerando-se que existe correlação entre os mecanismos de não disjunção dos cromossomos durante a anáfase e o avanço da idade sendo mais relatado ainda casos em humanos (HAMERTON, 1971; EATON, et alii, 1975; BEIGUELMAN, 1982; THOMPSON et alii, 1993).

Como mostram as tabelas 11, 12, 13, 14, dez animais no total da amostra, apresentaram uma incidência de 8 a 12% de células poliplóides (4n). Os animais 58, 89, 383, 409, 359, 361 (8%) e os animais 274 e 275, 391 (12%) ultrapassaram o percentual estimado de 2 a 6% por DARRÉ et alii (1970) para indivíduos normais. Supõe-se que esses níveis anormalmente altos de células poliplóides

estejam correlacionados com o acasalamento no rebanho entre linhagens consanguíneas, à semelhança do que foi detectado por ZARTMAN & FECHEIMER, (1967), para a raça Hereford e ainda mais considerando que a probabilidade de cruzamentos endogâmicos no rebanho de gado Pé-duro é altíssima, pelo próprio regime de criação extensivo dos animais. Por esse mesmo motivo foi difícil realizar o exame citogenético dos pais e dos filhos para observar a segregação do cromossomo Y nos filhos. Como não existem divisões na fazenda, as coberturas não são controladas, devido às dificuldades de pastagens, impedindo o isolamento reprodutivo. As secas são grandes e os pastos são poucos. Somente alguns acasalamentos puderam ser controlados e nestes a segregação do cromossomo Y acrocêntrico ou submetacêntrico conforme o tipo de cromossomo Y paterno foi comprovada.

6. CONCLUSÕES

i. O número diplóide de cromossomos dos bovinos da raça Pé-duro analisado em 75 machos ($2n = 60$) não difere daquele descrito para os bovinos das subespécies *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*. Do mesmo modo, a morfologia dos cromossomos autossômicos, não difere da esperada para os bovinos, sendo todos com centrômero terminal e acrocêntricos.

ii. Com respeito aos cromossomos sexuais, no plantel analisado, pertencente à EMBRAPA/PI, o cromossomo X não apresentou variação morfológica, sendo de centrômero subterminal e submetacêntrico o que também já era esperado. No entanto, foi constatado polimorfismo do cromossomo Y nos animais do rebanho, sendo a maioria dos animais (68%) portadores de cromossomo Y acrocêntrico, típico da subespécie *Bos taurus indicus* e 32% dos animais portadores de cromossomo Y submetacêntrico, típico da subespécie *Bos taurus taurus*.

iii. Com base nos achados do polimorfismo do cromossomo Y no plantel de gado Pé-duro, podemos afirmar que nos dias atuais, frente às duas subespécies de bovinos existentes, a raça Pé-duro é heteromórfica.

iv. Como a raça Pé-duro é de origem européia, sendo seus primeiros ancestrais os bovinos pertencentes ao tronco *Bos taurus ibericus*, o tipo de cromossomo Y transportado era o Y submetacêntrico, contudo, chegando ao Brasil, o tronco deu origem, entre outros, aos bovinos Curraleiro (ancestral mais próximo do gado Pé-duro) os quais se instalaram no Nordeste e Norte de Goiás. A partir de então, os animais sofreram um processo longo de contaminação racial através de cruzamentos absorventes com o gado Zebu, adquirindo os representantes da raça, o cromossomo Y acrocêntrico.

v. Considerando que o gado Pé-duro tem um padrão fenotípico próprio, a contaminação racial de Zebu pode ser detectada simplesmente através do levantamento das características fenotípicas e da comparação das medidas da genitália externa dos animais, visto que os animais com características de contaminação racial de Zebu, além de transportarem o Y acrocêntrico, apresentam uma conformação prepucial maior.

vi. A contaminação da raça Pé-duro por raças zebuínas não invalida os esforços da EMBRAPA/PI na preservação de uma raça ameaçada de extinção. Rebanhos famosos que foram preservados apresentavam contaminação racial. Como exemplos, podem ser citados: a) a raça Longhorn Americana (EUA), que apresentava contaminação principalmente pelas raças Hereford e Shorthorn e b) a raça Cinzenta de Estepe (Hungria), que apresentava contaminação pela raça italiana Maremma e pela Cinzenta Ucraniana. Considerando que o gado Pé-duro está sendo preservado no Estado do Piauí, cabe à EMBRAPA decidir se faz a "descontaminação" da raça. Neste caso, deverão ser acrescentadas ao projeto metodologias adequadas para o processo de "purificação", iniciando com a seleção dos animais e realizando estudos de cruzamentos.

vii. Como não foi empregada a técnica de banda G para todos os animais, os tipos de alterações estruturais detectadas mais frequentes foram as quebras cromossômicas. A frequência indesejável de 12% de quebras cromossômicas em dois animais, é indicativa de que estes podem apresentar alterações de fertilidade, considerando a não identificação de outras patologias nos mesmos.

viii. Com respeito aos distúrbios de número cromossômico, considerando que as variações numéricas nas metáfases não eram constantes ou de um mesmo nível, nem sempre foi possível correlacioná-las com um tipo específico de problemática nos animais. Como em geral os distúrbios de número descrevem malformações somáticas variáveis, para os animais com cariótipo 61,XY (trissomia) este tipo de alteração pode estar associado a uma deficiência corporal, identificada por um ligeiro nanismo e pela redução no peso do animal. O maior percentual de células com este tipo de alteração nos animais do grupo I (0,86%) pode ser atribuído ao fator idade dos animais, em relação ao grupo II (0,42%).

ix. Os níveis anormalmente altos de células poliplóides ($4n$) de 8 a 12% nas culturas, ultrapassando o percentual de 2 a 6% para indivíduos normais, possivelmente esteja correlacionado com linhagens consanguíneas no rebanho.

7. RESUMO

Metáfases de linfócitos do sangue periférico de 75 machos do rebanho de gado Pé-duro do Plantel da EMBRAPA/PI, foram examinadas para a identificação de seu cariótipo normal e de possíveis anomalias cromossômicas estruturais e/ou numéricas. O objetivo do estudo foi caracterizar a raça a esse nível bem como avaliar possíveis heteromorfismos e suas causas, visando-se contribuir para a seleção do plantel.

Nos animais estudados foi constatada a ocorrência de polimorfismo do cromossomo Y. Isto significa existirem no plantel animais com cariótipo típico de *Bos taurus taurus* de origem européia (Y submetacêntrico) e de *Bos taurus indicus* de origem Afro-asiática/Zebu (Y acrocêntrico). A maioria dos animais (68%) apresentou cromossomo Y acrocêntrico. Dentre as alterações cromossômicas detectadas, alguns distúrbios de número se salientaram. Embora os bovinos apresentem $2n = 60$ cromossomos, foram encontradas metáfases hipodiplóides ($57 \leq 2n \leq 59$) e poliplóides (células $4n$). Em geral, as alterações de número foram devidas às condições de tratamento das culturas, mas, para os animais que apresentaram metáfases com cariótipo $61,XY$ (trissomia) as alterações foram associadas a uma deficiência corporal dos animais e ao fator idade dos mesmos. Os níveis anormalmente altos de células poliplóides (8 a 12%), superiores ao percentual considerado normal na literatura (2 a 6%) foram supostamente correlacionados com a existência de acasalamento no rebanho entre linhagens consanguíneas, pelo próprio regime de criação extensivo dos animais.

Para se estabelecer se o grau de contaminação racial aparente e o tipo de cromossomo Y estavam associados entre si, foi realizado levantamento das características fenotípicas e medidas da genitália externa de cada animal. Concluiu-se através de teste de χ^2 que as variáveis grau

contaminação racial aparente, baseada em características fenotípicas escolhidas, e tipo de cromossomo Y são independentes. Por outro lado, quando da análise realizada para os dados biométricos da genitália externa através do teste t de Student, concluiu-se que a bainha do prepúcio dos animais com Y acrocêntrico e Y submetacêntrico difere ao nível de 5%.

Visto que os animais *Bos taurus indicus* (gado Zebu) possuem reconhecidamente prepúcio longo, enquanto os animais *Bos taurus taurus* (gado europeu) possuem prepúcio curto, sendo esta uma característica da conformação genética normal dentro de cada subespécie, supõe-se que os touros com Y acrocêntrico, que apresentam grau de contaminação racial por Zebu, possam ter esta característica de contaminação talvez mais facilmente detectável pela mensuração do prepúcio.

8. SUMMARY

Metaphases from peripheral blood lymphocytes obtained from 75 males of a "Pé-duro" herd of bovine breeding stock belonging to EMBRAPA/PI, were examined for the identification of their normal karyotype and any possible structural and/or numerical abnormalities of their chromosomes. The objective of the study was to characterise the breed at this level and evaluate possible heteromorphisms and their causes with the idea of contributing to the selection of the breeding stock.

The occurrence of polymorphism on the Y chromosome was shown in the animals studied. This signifies the existence of a karyotype typical of *Bos taurus taurus*, which is of European origin (submetacentric Y) and of *Bos taurus indicus*, which is of Afro-asiatic/Zebu origin (acrocentric Y) in the breeding stock. The majority of the animals (68%) presented acrocentric Y chromosomes. Of the chromosomal alterations detected, some numerical abnormalities stand out. Although cattle present chromosomes with $2n=60$, hypodiploidic metaphases ($57 \leq 2n \leq 59$) and polyploids (4n cells) were found. In general, the numerical alterations were due to the conditions of treatment of the cultures, but for those presenting metaphases with karyotype 61, XY (trisomic), the alterations were associated with a deficiency in body size of the animals and the age factor. The abnormally high levels of polyploidic cells (8-12%), higher than the levels considered normal in the literature (2-6%), were supposedly due to inbreeding between blood relations within the herd, as a result of the extensive breeding system used.

In order to determine if the degree of apparent racial contamination and the type of Y chromosome were associated with each other, a survey of the phenotypic characteristics was carried out and also measurement of the external genital organs of each animal. By application of the χ^2 test, it was concluded that the variables apparent degree of racial contamination, based on the chosen

phenotypic characteristics, and the type of Y chromosome, were independent of each other. On the other hand, the analysis of the biometric data of the external genital organs, carried out using Student's test, concluded that the sheath of the foreskin of the animal carrying acrocentric Y chromosomes, differed from those carrying the submetacentric Y chromosome, at the level of 5%.

Considering that the *Bos taurus indicus* (Zebu) animals are known to have a long foreskin, whereas the *Bos taurus taurus* (European cattle) have a short foreskin, this being a characteristic of the normal genetic conformation within each subspecies, it is to be supposed that in the case of those bulls with acrocentric Y chromosomes, which present a degree of racial contamination by Zebu, it might be possible to detect this contamination characteristic more easily by measuring the foreskin.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATHANASSOF, N. Raças de gado comum sem aptidões especializadas. In: Manual do Criador de Bovinos. São Paulo, Melhoramento, p. 191-214, 1958.
- BARDELEBEN, K. von. Ueber Spermatogenese bei Säugetieren, besonders beim Menschen. Anat. Anz. 7: 202-208, 1892.
- BASRUR, P.K.; LILMAN, I.P. & Mc SIERRY, B.I. Cytological observations on a bovine lymphosarcoma. Nature. 201: 268-379, 1964.
- BEIGUELMAN, B. As aberrações cromossômicas. In: Citogenética humana. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A., 1982. 328 p.
- BENJAMIN, B.R. & BHAT, P.N. Chromosomal studies on cattle with special reference to cross. breeding. Indian J. Anim. Sci. New Delli, 47: 4-7, 1977.
- BIGGERS, J.D. & Mc FEELY, R.A. A simple method for the display of chromosomes from cultures of white blood cells with special reference to the ox. Nature. 199: 718-9, 1963.
- BONGSO, A. & BASRUR, P.K. Chromosome anomalies in Canadian Guernsey bulls. Cornell Vet., Iitaca, 66: 476-89, 1976.
- BRITTO, C.M.C. Características morfológicas e citoquímicas de sêmen de bovinos de rebanho de elite e de gado "Pé-duro". Campinas, 138p., 1987 [Tese - Mestrado - Universidade Estadual de Campinas -].
- BRUÉRE, A.N.; MARSHALL, R.B. & WARD, D.P.J. Testicular hypoplasia and XXY sex chromosome complement in two rams: the ovine counterpart of klinefelter's syndrome in man. J. Reprd. Fert., 19: 103-8, 1969.
- BRUÉRE, A.N. & CHAPMAN, H.M. Autosomal translocation in two exotic breeds of cattle in New Zealand. Vet. Rec. London, 92: 615-18, 1973.

- BUCKLAND, R. A. & EVANS, H. J. Cytogenetics aspects of phylogeny in the bovidae. I. G. banding. citogenet. Cell. Genet. 21: 42-63, 1978.
- BURNS, G. W. & BOTTINO, P. J. Genética. 6ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A., 1991. 381 pág.
- CAMARGO, A.H.A. Ganado Criollo del Brasil: Origen y Características zootécnicas. Boletín de informacion sobre Recursos Genéticos Animales. Roma, p. 11-16, 1990.
- CARVALHO, J.H. Gado Pé-duro: esperança de preservação. BNB Notícias, Fortaleza, 42, p.4, 1983.
- _____. Relatório de atividades do núcleo de preservação do gado Pé-duro ou Curraleiro. EMBRAPA Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual/UEPAE de Teresina, 1984.
- _____. Pé-duro, patrimônio preservado no Piauí. Dirigente Rural, São Paulo, 24: 26-8, 1985.
- CENSO AGROPECUÁRIO/PIAUI - IX Recenseamento Geral do Brasil, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), vol. 2. Tomo 3, número 8, 1980.
- CHIARELLI, B.; DE CARLI, L & NUZZO, F. Analisi morfométrica dei cromosomi di *Bos taurus* L. Caryologia, 13: 766-74, 1960.
- COSTA NETO, P. L. de O. Estatística. Ed. Blücher, São Paulo, 1977.
- CRIBIU, E.P. & POPESCU, C.P. Un cas de chromosome Y anormalement long chez *Bos taurus* L. Ann. Génét. Sél. Anim. 6 (3): 387-390, 1974.
- CROSSLEY, R. & CLARKE, G. The application of tissue culture techniques to the chromosomal analysis of *Bos taurus*. Genet. Res. 3: 167-8, 1962.
- DARRÉ, R.; QUÉINNEC, G.; BERLAND, H. M.; RUCKEBUSCH, Y. e FARGEAS, I. Sur un cas de nanisme dans l'espèce bovine. I. Étude cytogénétique. II. Étude comportementale. Rev. med. Vet. 33: 1115-1126, 1970.
- DUNN, H. O. & JOHNSON, R. H. A 61 XY cell line in a calf with extreme brachygnathia. J. Dairy Sci. Illinois, 55: 524-6, 1972.
- DYRENDAHL, I. & GUSTAVSSON, I. Sexual functions, semen characteristics and fertility of bulls carrying the 1/29 chromosome translocation. Hereditas, 90: 281-289, 1979.
- _____. High frequency of a robertsonian translocation in a herd of British white cattle. Vet. Rec., London, 96: 71-3, 1975.

- EATON, A. P., KONTRAS, S. B., SOMMER, A. & WEHE, R. A. Long-term survival in trisomy 18. Em BERGSMA, D. (Ed.) *New chromosomal and malformation syndromes. Birth Defects: Original Article Series*, **11**: 327-328, 1975.
- ELDRIDGE, F. E. A dicentric robertsonian translocation in a Dexter cow. *J. Hered.*, Washington, **65**: 353-5, 1974.
- ELDRIDGE, F. E. & BLAZAK, W. F. Comparison between the Y chromosomes of chianina and brahma crossbred steers. *Cytogenet. Cell. Genet.* **18**: 57-60, 1977.
- EVANS, H. J.; BUCKLAND, R. A.; SUMER, A. T. Chromosome homology and heterochromatin in goat, sheep and ox studied by banding techniques. *Chromosoma*. **42**: 383-402, 1973.
- FECHHEIMER, N.S. A cytogenetic survey of young bulls in the U.S.A. *Vet. Rec.*, **93**: 535-36, 1973.
- FREDGA, K. Chromosomal changes in vertebrate evolution. *Proc. R. Acad. Sci. Lond. B.*, **199**: 377-397, 1977.
- GERMAN, J. Cytological evidence for crossing over in vitro in human lymphoid cells. *Science*, **144**: 298, 1964.
- GIMENEZ - MARTIN, G. & LOPEZ - SAEZ, J.F. Dotaciones cromosomicas em los mamiferos domésticos. *Genet. Ibérica*, **14**: 7-17, 1962.
- GLUHOVSCHI. N & BISTRICEANU, M. Clinical and cytogenetical studies of some cases of dwarfism in cattle. *Animal Breeding Abstracts*. Edinburgh, **41**: 442, 1970.
- GUPTA, P.; SINGH, L.; RAY-CHAUDHURI, S.P. Chromosomes of Indian breeds of cattle. *Nucleus*, **17**: 129-32, 1974.
- GUSTAVSSON, I & ROCKBORN, G. Chromosome abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature*. Paris. **203**: 990, 1964.
- GUSTAVSSON, I. Chromosome abnormality in cattle. *Nature*. Paris, **211**: 865-6, 1966.
- GUSTAVSSON, I. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Hereditas*. **63**: 68/169, 1969.
- _____. Economic importance of a translocation in Swedish cattle. *Europäisches Kolloquium über Zytogenetik (Chromosomenpathologie) in Veterinärmedizin und Säugetierkunde*, Giessen, p. 108-14, 1970.

HALNAN, C.R.E. Chromosomes of cattle: present clinical status and promise. Vet. Rec. London, 96: 148-51, 1975.

_____. Cytogenetic survey of 1101 Australian cattle of 25 different breeds. Ann. Genet. Sél. Anim. Versailles, 8: 131-139, 1976a.

HALNAN, C.R.E. & FRANCIS, J. *Bos taurus* Y chromosome of Africander cattle and the development for the improved breeds for the tropics. Vet. Rec., London, 98: 88-90, 1976b.

HALNAN, C.R.E. An improved technique for the preparation of chromosomes from cattle whole blood. Res. Vet. Sci., London, 22: 40/43, 1977.

HAMERTON, J. C. Human cytogenetics. New York and London Academic Press, INC., 1971 V. II, 545 pág.

HANSEN, K.M. Identification of bovine chromosomes of quinacrine mustard fluorescence technique. Hereditas, 69: 295, 1971.

_____. Bovine chromosomes identified by quinacrine mustard and fluorescence microscopy. Hereditas, 70: 225-34, 1972.

_____. Heterocromatin (C bands) in bovine chromosomes. Hereditas, 73: 65-70, 1973a.

_____. Q-band karyotype of the goat (*Capra hircus*) and the relation between goat and bovine Q-bands. Hereditas, 75: 119-130, 1973b.

HANSMANN, I. Aspects of Nondisjunction. In: Mutation in Man. 5^a ed. Springer - Verlag Berlin Heidelberg, 147-155, 1984.

HARVEY, M.J.A. Chromosome analysis of cattle populations. Vet. Rec. London, 94: 227, 1974.

HECHT, F.; KOLER, R.D., RIGAS, D.A., DAHNKE, G.S., CASE, M.P.; TISDALE, V. & MILLER, R.W. Leukaemia and lymphocytes in ataxia - telangiectasia. Lancet, 2: 1193, 1966.

HERZOG, A. & HOHN, H. Autosomal trisomy in lethal brachygnathia of cattle. Cytogenetics. 10: 347- 55, 1971a.

_____. Cytogenetic analysis of calves with congenital abnormalities of the central nervous system. Ann. Genet. Sél. Anim. Versailles, 3: 225 - 34, 1971b.

- HERZOG, A.; HOHN, H. & RIECK, G.W. Survey of recent situation of chromosome pathology in different breeds of German cattle. Ann. Génét. Sel. Anim., 9: 471 - 491, 1977.
- HSU, T.C. & BENIRSCHKE, K. An Atlas of mammalian chromosomes. New York, Springer - Verlag. 1: 44, 1967.
- _____. An Atlas of mammalian chromosomes. New York. Springer - Verlag. 2: 90, 1968.
- JORGE, W. Cariologia comparada de algumas raças de *Bos taurus taurus* (L.), *Bos taurus indicus* (L.) e de seus cruzamentos. Botucatu, 47 p., 1970 [Tese - Mestrado - Universidade de São Paulo -].
- _____. Chromosome study of some breeds of cattle. Caryologia. 27: 325 - 9, 1974.
- JOHANSSON, I & RENDEL, J. Genetica y mejora animal, Zaragoza, Acríbia, 567p., 1971.
- KIEFFER, N.M. & CARTWRIGHT, T.C. Sex chromosome polymorphism in domestic cattle. Journal of heredity, Washington, 59: 35 - 7, 1968.
- KRALLINGER, H.F. Über die Chromosomenzahl beim Rinde sowie einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomenforschung in der Säugetierklasse. Verhandl., Anat. Ges., Wien. 36: 209 - 14, 1927.
- _____. Cytologische Studien an einigen Haussäugetieren. Arch. Tiererhahar. Tierzucht., 5: 127 - 187, 1931.
- LEVAN, A.; FREDGA, L. & SANDBERG, A. A Nomenclature for centromeric position of chromosome. Hereditas, 52 (52): 201 - 202, 1964.
- LIN, C.C.; NEWTON, D.R.; SMINK, W.K. & CHURCH, R.B. A rapid and simple method for the isolation and culture of leucocytes for chromosome analysis in domestic animals. Can. J. Anim. Sci. Ottawa, 56: 27 - 31, 1976.
- LUZ, M.R. & GIANNONI, M.A. Estudo biométrico do cariótipo da subespécie *Bos taurus indicus*. Científica. 6 (1): 105 - 119, 1978.
- MAGARAJA, C.S. & HEDGE, B.P. Cytogenetic studies on cow, with reduced fertility. Indian J. anim. Sci., 57: 220 - 221, 1987.

- MAKINO, S. Karyotypes of domestic cattle, zebu and domestic water buffalo (chromosome studies in domestic mammals IV.) Cytologia, 13: 247 - 64, 1944.
- MASUI, R. The spermatogenesis of domestic mammals. II. The spermatogenesis of cattle (*Bos taurus*). J. Coll. Agr. (Tokyo) 3: 377 - 403, 1919.
- MAYR, B. & SCHLEGER, W. Zytogenetische Untersuchungen im osterreichischen Enbhygiene Program beim Rind. Züchtungskunde, 49: 343 - 6, 1977.
- MELANDER, Y. & KNUDSEN, O. The spermiogenesis of the bull from a caryological point of view. Hereditas, 39: 504 - 17, 1953.
- MELANDER, Y. The mitotic chromosomes of some cavicorn mammals (*Bos taurus L.*, *Bison bonasus L.*, and *Ovis aries L.*). Hereditas, 45: 644 - 64, 1959.
- MOORHEAD, R.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M. & HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes culture from human peripheral blood. Expl. Cell. Res. 20: 613 - 616, 1960.
- MORAES, J. C. F. Estudos cromossômicos em diferentes raças do rebanho bovino do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 105p. 1978 [Tese - Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul -].
- MORAES, J.C.F. & MATTEVI, M.S. Estudos cromossômicos em diferentes raças do rebanho bovino do Rio Grande do Sul. Anu. Téc. IPZFO. Porto Alegre, 7: 117 - 203, 1980.
- MORAES, J.C.F.; MATTEVI, M.S.; SALZANO, F.M.; POLI, J.L.E.H. & ERDTMANN, B.A. A cytogenetic survey of five breeds of cattle from Brasil. J. Hered., 71: 146 - 148, 1980.
- MORAES, J.C.F.; MATTEVI, M.S. & FERREIRA, J.M.M. Chromosome studies in Brazilian rams. Vet. Rec., 107: 489 - 90, 1980.
- MORI, M.; SASAKI, M.; MAKINO, S.; ISHIKAWA, T. & KAWATA, K. Autossomal trisomy in a malformed newborn Calf. Proc. J. Acad., 45: 955 - 9, 1969.
- NAHASS, E.E.; MICHELMANN, H.W. & PAUFLER, S. Chromosomale Untersuchungen von zucht und Schlachtrinderm. Züchtungskunde, 48: 264 - 277, 1976.
- NICHOLS, W.W.; LEVAN, A. & LAWRENCE, W.C. Bovine chromosome by the peripheral blood method. Hereditas. 48: 536 - 8, 1962.

- NORGERG, H.S.; REFSDAL, A.O.; GARM, O.N. & NES, N. A case report on X trisomy in cattle. Hereditas. 82: 69 - 72, 1976.
- NOGUEIRA NETO, A.F. Aspectos da pecuniária piauiense. Teresina, Sociedade de Medicina Veterinária do Piauí, 7 p. (Folheto nº 267 - UEPA/Te.), 1980.
- NOWELL, P.C. Phytohemagglutinin: An iniciator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res. 20: 462-466 (1960).
- OHNO, S.; TRUJILLO, J.M.; STENIUS, C.; CHRISTIAN, L.C. & TEPLITZ, R.L. Possibile germ cell chimeras among newborn dizygotic twincalves (*Bos taurus*). Cytogenetics, 1: 258 - 65, 1962.
- PINHEIRO, L.E.L. Considerações sobre a constituição cromossômica do gado zebu. Informe Agropecuário, 10(112): 69 - 71, 1971.
- PINHEIRO, L.E.L.; FERRARI, I. & LOBO, R.B. Robertsonian translocation in imported bulls utilized at artificial insemination centers in Brazil. Rev. Bras. Genét. 2: 135 - 143, 1979a.
- PINHEIRO, L.E.L.; ERDTMANN, B.; MATTEVI, M.S.; MIES FILHO. A análise citogenética em bovinos da raça Ibagê. Científica(nº especial) 29 - 32, 1979b.
- PINHEIRO, L.E.L. Estudos citogenéticos de algumas raças da subespécie *Bos taurus taurus*. Ribeirão Preto, 194p. 1979c. [Tese - Doutorado - Universidade de São Paulo -].
- PINHEIRO, L.E.L. & LOBO, R.B. Influence of chromosome anomalies on the reproductive performance of a cross - breed cattle herd. In International Congress Animal Reproduction. Proceedings, Urbana, p. 529, 1984.
- POLLOCK, D.L. Chromosome abnormality in Friesian cattle in Great Britain. Vet. Rec., London, 90: 309 - 10, 1972.
- POPESCU, C.P. Cytogenetic observation in normal and Culard Charolais cattle. Ann. Génét., 11: 262 - 4, 1968.
- _____. A possible case of pericentric inversion in cattle. Ann. Génét., 15: 197 - 9, 1972.
- _____. L'etude du caryotype bovin (*Bos taurus L.*) par les méthodes des bandes. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 15: 751 - 6, 1975.

- _____. New data on pericentric inversion in cattle (*Bos taurus* L.) Ann. Génét. Sel. Anim., 8: 443 - 8, 1976.
- _____. A new type of robertsonian translocation in cattle. J. Hered., 68: 138 - 42, 1977a.
- _____. Observations sur le caryotype normal et anormal des bovins. Can. Vet. J., 18: 143 - 9, 1977b.
- _____. Anomalies chromosomiques et troubles de la fertilité. Elev. & Insem., 159: 11 - 15, 1977c.
- _____. Cytogenetics of Domestic Animals. Present statement and Perspectives. 1º Simp. Nac. Top. Avan. em Rep. Anim. Jaboticabal. SP, 1980.
- ROCHA, P.G. & JORGE, W. Citogenética de bovinos. Revista Ciência e Cultura., 41(7): 629 - 645, 1989.
- RIECK, G.W.; HOHN, H. & HERZOG, A. Hypogonadism, intermittierender kryptorchismus ind segmentare aplasie der Ductus Wolffii bei einem männlichen Rind mit XXY - Gonosomen - konstellation bzw. XXY/XX/XY - Gonosomen Moraik. Dtsch. Tierarztl. Wschr., 76: 133 - 8, 1969.
- SANTIAGO, A.A. Os cruzamentos na pecuária bovina. São Paulo. Instituto de Zootecnia, p. 254 - 255, 1975.
- SANTIAGO, A.A. O zebu nos cruzamentos. In: Zebu e Cruzamentos. São Paulo. Departamento de Produção Animal, 3ª parte, XIX Cap. 1985.
- SASAKI, M.S. & MAKINO, S. Revised study of the chromosomes of domestic cattle and the horse in somatic cells in vitro. J. Hered. 53: 157 - 62, 1962.
- SCHROEDER, T.M., ANSCHÜTZ, F. & KNOPP, A. Spontane chromosomen aberrationen bei familiärer Panmyelopathie. Humangenetik, 1: 194 (1964).
- SCHERES, J.M.J.C. Human chromosome banding. Lancet. 1: 849, 1972.
- SINNOT, E.W., DUNN, L.C. & DOBZHANSKY, T. Princípios de Genética. 5ª Ed. Barcelona. Ediciones Omega S/A., p. 356 - 363, 1961.

- SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating heterochromatin. Expl. Cell. Res., 75: 304, 1972.
- STRANZINGER, G.F. & FORSTER, M. Autosomal chromosome translocation of Piebald cattle and brown cattle. Experientia, 32: 24 - 27, 1976.
- TAMBASCO, A.J. Contribuição ao estudo citogenético em bovinos normais e em bovinos com problemas de reprodução. Ribeirão Preto, 97p., 1976 [Tese - Doutorado - Universidade de São Paulo -].
- TAMBASCO, A.J.; TROVO, J.B.F. & BARBOSA, P.F. Estudo cromossômico em raças naturalizadas de bovinos. In. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22. Camboriú, S.C., Anais, p. 154, 1985.
- THOMPSON, M.W.; McInnes, R.R.; WILLARD, H.F. Genética Médica. Editora Guanabara Koogan S.A. 5ª ed. Rio de Janeiro, 1993.
- TORRES, A.D.P. Melhoramento dos rebanhos. Livraria Nobel S.A., São Paulo, Cap. 2, p. 64, 1981.
- TOOL, G. L. & HALNAN, C. R. E. The giemsa banding pattern of the Australian swamp buffalo (*Bubalus bubalis*): Chromosome homology with other bividæ. Can. J. Genet. Cytol. 18: 303-310, 1976.
- VAN HOOFF, L. La spermatogenèse dans les mammifères. III. Les spermatozytes leptótenes et amphotènes dans le taureau. La Cellule. 3: 7 - 26, 1919.
- WILSON, A. C.; BUSH, G. L.; CASE, S. M.; KING, M. C. Social structuring of mammalian populations and rate of chromosomal evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72: 5061-5065, 1975.
- WURSTER, D. H. & BENIRSCHKE, K. Chromosome studies in the superfamily Bovidea. Chromosoma, 25: 152-171, 1968.
- WODSEDALEK, J.E. Studies on the cells of cattle with special reference to spermatogenesis, oögonia, and sex determination. Biol. Bull. Woods Hole, 38: 290 - 317, 1920.
- ZARTMAN, D.L. & FECHHEIMER, N.S. Somatic aneuploidy and poliploidy in inbred and linecross cattle. J. Anim. Sci., 26: 678 - 82, 1967.

**POLIMORFISMO DO CROMOSSOMO Y NO PLANTEL D.
GADO PÉ-DURO DA EMBRAPA/PI**

Carmen do Monte de Carvalho Britto

ERRATAS

pg. 49, 3^o §, 3^a e 4^a linha, onde se lê 32%, leia-se 36%.

pg. 55, Tab. 11, 7^a linha, 5^a Col., incluir os valores 24 e 96%; 13^a linha e último Col., onde lê 32%, leia-se 36%.

pg. 56, Tab. 12, 4^a linha, última Col., onde se lê 12% leia-se 8%; 5^a linha, 4^a Col onde se lê 22 e 88%, leia-se 23 e 92%.

pg. 57, Tab. 13, 11^a linha, 8^a Col., excluir os valores 2 e 8%; 12^a linha, 5^a Col incluir 24 e 96%; 13^a linha, 4^a Col., onde se lê 2 e 8%, leia-se 3 e 12%.

pg. 58, Tab. 14, 10^a linha, 4^a Col., onde se lê 19 e 76%, leia-se 17 e 68%.