Documentos ISSN 1517-5111 Abril, 2006

Caracterização Genética de Bovinos por meio de Estudos do Cromossomo Y e do DNA Mitocondrial





Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Cerrados Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos 155

Caracterização Genética de Bovinos por meio de Estudos do Cromossomo Y e do DNA Mitocondrial

Wilham Jorge Érica Cunha Issa Fabiana Tavares Pires de Souza Sereno José Robson Bezerra Sereno

Embrapa Cerrados Planaltina, DF 2006 Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73310-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 3388-9898 Fax: (61) 3388-9879

http://www.cpac.embrapa.br

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: José de Ribamar N. dos Anjos Secretária-Executiva: Maria Edilva Nogueira

Supervisão editorial: *Maria Helena Gonçalves Teixeira* Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira* Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro*

Shirley da Luz Soares

Capa: Jussara Flores de Oliveira

Editoração eletrônica: Jussara Flores de Oliveira Tratamento das ilustrações: Jussara Flores de Oliveira Impressão e acabamento: Divino Batista de Souza Jaime Arbués Carneiro

Fotos da capa: José Robson Bezerra Sereno

1ª edição

1ª impressão (2006): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Cerrados

C257 Caracterização genética de bovinos por meio de estudos do cromossomo Y e do DNA mitocondrial / Wilham Jorge... [et al.]. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2006.

74 p.— (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 155)

1. Genética animal. 2. Bovino. 3. Marcador genético. I. Jorge, Wilham. II. Série.

636.2 - CDD 21

Autores

Wilham Jorge

Biólogo, Ph.D., Dep. Biologia Geral – ICB/Universidade Federal de Minas Gerais Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Cx. Postal 486 CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG wiljorge@icb.ufmg.br

Érica Cunha Issa

Bióloga, M.Sc., UNESP Campus de Botucatu - Distrito de Rubião Júnior, s/n CEP 18.618-000, Botucatu, SP erica_issa@yahoo.com.br

Fabiana Tavares Pires de Souza Sereno

Bióloga, Ph.D., Bolsista do CNPq Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UNB Cx. Postal 04508 CEP 70910-900, Brasília, DF fabiana_sereno@yahoo.com.br

José Robson Bezerra Sereno

Médico Veterinário, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Cerrados sereno@cpac.embrapa.br

Apresentação

As raças naturalizadas brasileiras, também denominadas de locais ou crioulas, são descendentes dos animais ibéricos, trazidas pelos espanhóis e portugueses na época da colonização da América. Com o passar do tempo, elas foram evoluindo, adaptando-se às condições ambientais encontradas nos mais diferentes habitats. No final do séc XIX e início do séc XX, raças consideradas exóticas foram introduzidas no Brasil e, por cruzamentos absorventes, foram causando erosão genética e uma rápida substituição das raças locais. Apesar de as raças locais apresentarem níveis mais baixos de produção que as raças exóticas, elas são muito mais hábeis para sobreviver e reproduzir em certos ambientes hostis, locais onde foram naturalmente selecionadas durante séculos.

Nos países desenvolvidos, por meio de seleções e aplicações de modernas tecnologias, surgiram raças altamente produtivas que vêm substituindo as locais. Dessa forma, é importante a conservação genética das características desses bovinos, uma vez que são eles que deverão fornecer dados e subsídios para o melhoramento genético animal. Ademais, contribuirão para evitar que o material genético dessas raças ameaçadas de extinção seja perdido.

O grande interesse no estudo do cromossomo Y e do DNA mitocondrial é que ambos são indicadores de ancestralidade paterna e materna, respectivamente. O cromossomo Y também é um valioso recurso na reprodução

animal, já que nele estão presentes genes importantes para a fertilidade dos bovinos.

No Brasil, a citogenética bovina tem sido utilizada mais especificamente para raças exóticas, podendo ser também usada em pesquisas sobre caracterização genética de animais brasileiros, contribuindo de forma significativa para o estudo potencial dessas raças nos seus próprios habitats, bem como para a sua conservação ou preservação em bancos de germoplasma.

Portanto, é com satisfação que a Embrapa Cerrados apresenta essa publicação para a sociedade brasileira com o objetivo de contribuir com a ciência animal, enfocando a utilização e a aplicação da citogenética e da análise molecular do cromossomo Y em bovinos.

Roberto Teixeira Alves Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução	9
Sistemática do gênero <i>Bos</i>	11
Critérios para classificação dos bovinos em <i>Taurus</i> e <i>Indicus</i>	19
Cromossomo Y na identificação de origem das raças e	
na caracterização genética de bovinos	21
Primórdios da citogenética dos bovinos	
Primeiras observações sobre o polimorfismo do Y no gênero <i>Bos</i> Hipótese da inversão pericêntrica como origem do polimorfismo do	
cromossomo Y em bovinos	23
Cromossomo Y dos taurinos	25
O cromossomo Y dos zebuínos	27
Diferentes formas do cromossomo Y em uma mesma raça	28
O cromossomo Y dos animais provenientes de cruzamentos entre	
taurus e indicus	30
Cromossomo Y das raças africanas	32
Identificação e caracterização do Y pelas técnicas de bandamento .	34
Bandamento G (GTG)	35
Bandamento C	38
Hibridização <i>in situ</i>	39
O cromossomo Y e a fertilidade dos bovinos	41
Translocações e a fertilidade nos bovinos	44

DNA mitocondrial na identificação de origem das raças	
e caracterização genética dos bovinos	. 48
Mitocôndria	. 48
DNA mitocondrial	. 49
DNA mitocondrial dos bovinos	. 51
Domesticação e origem das subespécies	. 56
Domesticação	
Origem	. 59
Conclusão	. 61
Referências	.62
Abstract	.74

Caracterização Genética de Bovinos por meio de Estudos do Cromossomo Y e do DNA Mitocondrial

Wilham Jorge Érica Cunha Issa Fabiana Tavares Pires de Souza Sereno José Robson Bezerra Sereno

Introdução

Nos mamíferos, o mecanismo de determinação do sexo é do tipo XX/XY, sendo nos machos o sexo heterogamético, com um cromossomo Y muito pequeno, heterocromático, com poucos genes ativos e, em grande parte, consistindo em seqüências altamente repetitivas de DNA não codificantes. Entretanto, o cromossomo Y contém genes importantes para a determinação do sexo e para a espermatogênese.

O cromossomo Y e o DNA mitocondrial (mtDNA) apresentam algumas propriedades genéticas em comum. Eles são herdados de apenas um dos pais: o cromossomo Y é transmitido pelo espermatozóide paterno apenas para filhos homens, e o DNA mitocondrial é transmitido pelo óvulo materno para filhos e filhas. Ademais, não sofrem recombinação, à exceção das regiões pseudo-autossômicas (PARs) do cromossomo Y, sendo transmitidos às gerações seguintes em blocos de genes denominados haplótipos. Os haplótipos permanecem inalterados até que ocorra uma mutação. Tais mutações ocorridas durante a evolução humana geraram variações (polimorfismos) dos haplótipos que servem como marcadores de linhagem. A maior parte (mais de 90%) do cromossomo Y humano não sofre recombinação, portanto, os haplótipos são transmitidos inalterados de pai para filho por gerações e gerações (PENA, 2000).

O cromossomo Y do gênero *Bos* e particularmente das subespécies *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* apresentam considerável polimorfismo. A primeira possui duas morfologias para esse cromossomo: submetacêntrico e metacêntrico e a segunda, apenas o cromossomo Y acrocêntrico. Ademais, têm sido relatadas diferenças de tamanho do cromossomo Y entre raças, com variação de tamanho equivalente entre o 22º e 26º pares de autossomos (HALNAN; WATSON, 1982).

A caracterização morfológica, padrões de bandamento e a sua possível associação com características morfológicas, como presença de cupim ou giba, bem como os estudos realizados com DNA mitocondrial, são muito promissores para a caracterização genética de bovinos. Há também grande interesse em encontrar no cromossomo Y algum fator que provoque a infertilidade dos bovinos, tal como genes que, quando ausentes, levem a azoospermia (ausência de células espermáticas no ejaculado).

Ainda existem muitas raças de bovinos, principalmente as chamadas raças nacionais ou naturalizadas, que foram introduzidas na época do descobrimento do Brasil há mais de 500 anos que ainda não possuem cariótipo estudado, como é o caso das raças: Pantaneira, Crioulo Lageano, Mocho Nacional e Junqueira. O estudo do cromossomo Y de cada uma delas tornase necessário para o estabelecimento de estratégias de conservação *in situ*, em razão não só do polimorfismo, mas também da possibilidade de verificação da ancestralidade dessas raças que possuem genes promissores de adaptação a cada região onde foram criadas, como características únicas de rusticidade, prolificidade, resistência a endo e a ectoparasitas e doenças distintas das regiões brasileiras. A caracterização citogenética desses bovinos pode fornecer dados e subsídios importantes para o melhoramento genético animal. Pode contribuir também para identificação precisa de cada raca nos dias atuais em face das duas subespécies de bovinos existentes.

O estudo de caracterização genética dos bovinos ocupa, na atualidade, um lugar de destaque, considerando a importância desses animais como fonte

de alimentos para a humanidade, além de eles representarem imensa população de mamíferos da face da terra. Por sua vez, constitui uma espécie que se caracteriza por sofrer rearranjos no seu cariótipo pelo processo de translocação robertsoniana, de fácil identificação citológica e com efeitos na reprodução, como acontece com a translocação dos autossomos 1 e 29. (Vide detalhes ao longo do texto).

Sistemática do gênero Bos

Para a classificação sistemática do gênero *Bos*, foi utilizado o trabalho de Walker (1975). Apesar de esse autor ter proposto nova sistemática do gênero em 1999, optou-se por utilizar a classificação de 1975, considerando que a grande maioria das bibliografias referidas neste trabalho usou a classificação de 1975.

Classe: Mammalia Ordem: Artiodactyla Subordem: Ruminantia

Família: Bovidae Gênero: *Bos*

Espécie: Bos primigenius (extinto) - nome comum: Aurochs

Bos taurus – nome comum: gado Europeu

Bos indicus - nome comum: gado Indiano (Zebu)

Bos grunniens – nome comum: Yak
Bos gaurus – nome comum: Gaur
Bos frontalis – nome comum: Gayal
Bos banteng – nome comum: Bali

Bos sauveli - nome comum: Kouprey

Segundo <u>Machugh (1996)</u>, o Yak pertence ao gênero *Poephagus* e não ao gênero *Bos* como relata <u>Walker (1975)</u>. Ademais, o Gayal é a espécie domesticada do Gaur. De acordo com esse autor, a classificação segue a <u>Figura 1</u>.

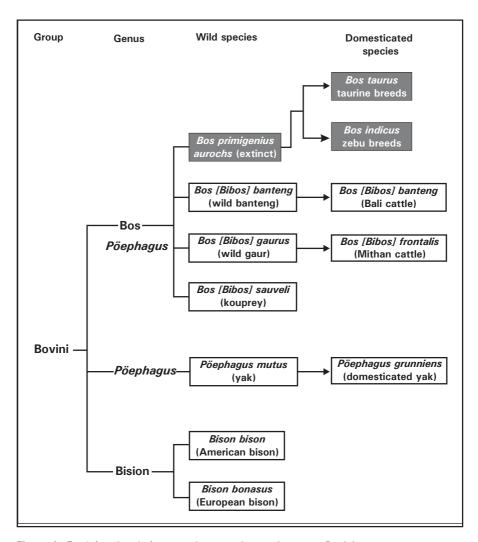


Figura 1. Espécies domésticas e selvagens dentro do grupo Bovini.

Fonte: Machugh (1996).

- Bos primigenius ou Aurochs

De acordo com Epstein e Mason (1984), todo gado doméstico foi originado do *Bos primigenius*, que foi extinto em 1627, na Polônia (Figura. 2). Entretanto, Machugh (1996) afirma que somente as espécies domésticas *Bos taurus* e *Bos indicus* foram originadas desse animal selvagem.



Figura 2. Bos primigenius ou Aurochs.

Fonte: http://www.prehistory.com/bosprimi.htm

O centro original da evolução desse animal foi a Ásia, de onde se espalhou pela Europa e África durante o Pleistosceno. Existem três subespécies do *B. primigenius*: a asiática (*B. p. namadicus*), a européia (*B. p. primigenius*) e a norte-africana (*B. p. opisthonomus*). Essas três subespécies ou raças eram diferenciadas somente pelo tamanho do corpo e pela forma do chifre, entretanto, atualmente, essa divisão considera um pouco mais a área geográfica Epstein e Mason (1984) (Figura. 3). Ademais, tais animais não apresentam cupim e nem barbela desenvolvida.

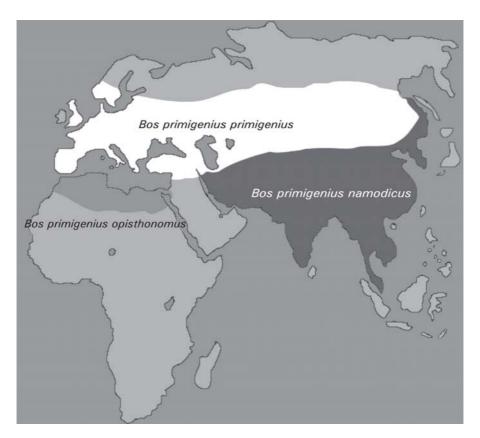


Figura 3. Distribuição das três subespécies de Aurochs.

Fonte: Machugh (1996).

- Bos grunniens ou Yak

O Yak caracteriza-se pela presença de cauda densa e pêlos longos (Figura 4). Vive em altas montanhas da Ásia Central e especialmente na península do Tibet, em número de 12,7 milhões. Embora o Yak selvagem seja oficialmente protegido na China, sua quantidade e sua larga distribuição têm diminuído drasticamente devido à caça indiscriminada. É adaptado ao frio, tolerando temperaturas de -40 a -50 °C (NOWAK, 1999).

Segundo Machugh (1996) o Yak é considerado como um gênero separado do Bos, o gênero Pöephagus (Figura 1). Linneu nomeou o Yak doméstico de Bos grunniens em virtude dos seus grunhidos (BONNEMAIRE, 1984). Esse animal não apresenta cupim e o cromossomo Y é submetacêntrico (MACHUGH, 1996) e, segundo Loftus et al., (1994a), o mtDNA é de Bos taurus indicus.



Figura 4. Bos grunniens ou Yak.

Fonte: http://www.saudeanimal.com.br/iaque print.htm

- Bos gaurus ou Gaur

Essa espécie (Figura 5) ainda é encontrada em áreas escassas da Índia na Indochina e na Península de Malay. O número total restante é estimado em aproximadamente 1000 (NOWAK, 1999). Segundo Machugh (1996), essa espécie selvagem deu origem à espécie doméstica *Bos* (*Bibos*) *frontalis*, o gado Mithan. Possui cupim, mtDNA de *Bos taurus indicus* (LOFTUS et al., 1994a) e o cromossomo Y é submetacêntrico (MACHUGH, 1996).



Figura 5. Bos gaurus ou Gaur.
Fonte: http://www.csew.com/cattletag/Cattle%20Website/

FactSheets/Gaur/gaur.htm

- Bos frontalis ou Gayal

Os termos "Gayal" ou "Mithum" são usados para se referirem aos bovinos domesticados das regiões montanhosas do leste da Índia, Blangadesh e Burma (SIMOONS, 1984) (Figura 6). Em Inglês, o nome "Mithan" é mais comum. A designação Bos frontalis é comumente usada para o Mithan que, às vezes, é chamado de Bos gaurus frontalis e, para quem acredita que Bibos seja um subgênero de Bos, Bos (Bibos) frontalis (SIMOONS, 1984; MACHUGH, 1996).

Existem três hipóteses em relação à origem do Mithum. A primeira é que ele seja a forma doméstica do Gaur (SIMOONS, 1984; MACHUGH, 1996), embora existam várias características diferentes entre eles. O Mithum apresenta chifre e forma de crânio (cabeça) diferentes do Gaur, além de serem animais menores. A segunda hipótese é que ele seja um híbrido resultante do cruzamento de touro Gaur com vaca Zebu. A terceira é que ele seja descendente de um bovino Indiano selvagem que está extinto. O cromossomo Y é submetacêntrico (MACHUGH, 1996) e não há relato de estudos do DNA mitocondrial.



Figura 6. Bos frontalis ou Gayal.

Fonte: http://www.arkive.org/species/GES/mammals/Bos frontalis/

- Bos banteng ou Bali

Bali é a forma domesticada do Banteng, *Bos javanicus* (Figura 7). É sinônimo de *Bos banteng* e *Bos sondaicus*. Embora o Bali seja muito similar ao gado em características gerais, ele é classificado com o Gaur e o Kouprey no subgênero *Bibos*, *Bos* (*Bibos*) *banteng* (ROLLINSON, 1984; MACHUGH, 1996).



Figura 7. Bos banteng ou Bali.

Fonte: http://www.csew.com/cattletag/Cattle%20Website/

Fact Sheets/Banteng/banteng.htm

Segundo (ROLLINSON, 1984), a literatura australiana refere-se a esse animal como gado Banteng. Eles desapareceram em várias áreas por causa dos danos causados ao seu *habitat* pela expansão da população humana, caça, comércio e hibridação, com a transmissão de doenças de gado doméstico. Estima-se que 1,5 milhão de Banteng doméstico seja usado para o trabalho e são animais excelentes na produção de carne. O Banteng existe principalmente na Indonésia.

O cromossomo Y é submetacêntrico (<u>HALNAN; WATSON, 1982;</u> <u>MACHUGH, 1996</u>) e o DNA mitocondrial é de *Bos taurus indicus* (LOFTUS et al., 1994).

- Bos sauveli ou Kouprey

É uma espécie em franco declínio, com o número total estimado em 1000 indivíduos em 1940, 500 em 1951 e 100 em 1969. Acredita-se que já podem estar extintos (IUCN, 1972). É nativo do Camboja (Indochina) e habita planícies cobertas por pastagens interrompidas por florestas. Não há relatos de cariotipagem ou análises de DNA mitocondrial. Segundo Machugh (1996), não existe a espécie doméstica desse animal (Figura 8).



Figura 8. Bos sauveli ou Kouprey. Fonte: http:// www.csew.com/cattletag/ Cattle%20Website/ Fact_Sheets/Kouprey/ kouprey.htm

Critérios para classificação dos bovinos em *Taurus* e *Indicus*

A nomenclatura clássica de Linneu distingue a existência de duas espécies do gênero Bos: *Bos indicus* (com cupim – Figura 9) e *Bos taurus* (sem cupim – Figura 10) (MANWELL; BAKER, 1980 citado por MEIRELLES et al., 1999). Entretanto, a completa interfertilidade entre *indicus* e *taurus* levou vários autores a considerar as duas como subespécies (EPSTEIN; MASON, 1984; PAYNE, 1991). Segundo Moraes (1978), a inexistência de isolamento reprodutivo e a produção de descendência fértil não justificam separá-las em entidades específicas distintas, como normalmente é feito, mas caracterizá-las como subespécies ou raças geográficas.

As raças atuais vêm sendo separadas em dois grandes grupos: as que possuem giba ou cupim e barbela abundante (*Bos taurus indicus*) e as que não possuem (*Bos taurus taurus*). Na linguagem corrente, os primeiros são denominados de Zebuínos ou Zebu e os outros, de gado Europeu ou Taurino. De acordo com Mariante et al. (1999), os Zebuínos são considerados exóticos e, hoje, são responsáveis pela quase totalidade da carne produzida no País.



Figura 9. Nelore (*Bos taurus indicus*). Fonte: Sereno (2005), Embrapa Pantanal.



Figura 10. Curraleiro ou Pé-duro (Bos taurus taurus).

Fonte: Sereno (2006, Embrapa Cerrados).

Epstein (1971) destaca que, tradicionalmente, as raças africanas com giba têm sido classificadas como *Bos indicus*, mas que devem ser diferenciadas em dois tipos: o Zebu com giba torácica e o Sanga (Zebu africano) com giba cérvico-torácica. Frisch et al. (1997) apóiam a classificação dos Sangas do Sul da África como *Bos taurus* e o Zebu do Leste da África como *taurindicus*.

Além do cupim (bastante desenvolvido nos machos), outra característica fenotípica diferencial entre as duas subespécies é o peso adulto. Nos *Bos taurus indicus*, os machos pesam de 600 a 700 kg e as fêmeas, de 350 a 450 kg. Já nos *Bos taurus taurus*, o peso dos machos é de 1000 a 1200 kg e o das fêmeas, de 700 a 800 kg (MARQUES, 1984).

As características típicas dos Zebuínos são pele com pigmentação abundante, pêlos curtos e lisos; maior tolerância ao calor; maior resistência a ecto e endoparasitas; maior capacidade de aproveitamento de forrageiras de baixo valor nutritivo (gramíneas tropicais); período de gestação mais longo, com média de 292 dias. Nos *Bos taurus taurus*, essa média é de 281 dias.

Cromossomo Y na identificação de origem das raças e na caracterização genética de bovinos

Primórdios da citogenética dos bovinos

A citogenética é a ciência que estuda os cromossomos de plantas e animais utilizando-se de técnicas citológicas e, nos últimos anos, também, de técnicas moleculares. Os primeiros estudos citogenéticos nos bovinos foram realizados em 1892, por Bardeleben, que descreveu os bovinos com 2n=16 cromossomos. Nas décadas de 1910 e 1920, vários autores descreveram o cariótipo dos bovinos com discrepantes números diplóides: Schoenfeld (1902) com 2n=20-25; Hoof (1919) citado por Postiglioni-Grimaldi (1956) com 2n=20-24; Masui (1919) com 2n=33/34; Wodsedalek (1920) com 2n=37/38, os dois últimos sugerindo uma determinação sexual do tipo X0/XX, respectivamente, para machos e fêmeas. Essas discrepâncias foram em razão das precárias técnicas existentes na época, utilizando-se de cortes histológicos.

Na década de 1930, Krallinger (1931) citado por Postiglioni-Grimaldi (1956) descreveu, pela primeira vez, o número correto de cromossomos dos bovinos europeus, com 2n=60, observando a presença de apenas um par de cromossomos submetacêntricos, sendo o restante acrocêntrico. Em 1944, Makino descreve o cariótipo dos zebuínos, não observando diferenças com o gado europeu. Melander e Knudsen (1953) também não observaram diferenças entre os dois cariótipos.

Com o aprimoramento das técnicas citológicas, a princípio pelo uso de preparações diretas de medula, fígado e pulmão de fetos e, posteriormente, pelo cultivo de leucócitos e fibroblastos, atingiu-se um preciso conhecimento do cariótipo desses animais (MORAES, 1984).

Primeiras observações sobre o polimorfismo do Y no gênero *Bos*

A constituição cromossômica 60 XY e 60 XX foi encontrada tanto em *Bos taurus taurus* quanto em *Bos taurus indicus*, sendo evidente a diferença morfológica de heteromorfismo do cromossomo Y. Na primeira subespécie, foi encontrado o Y submetacêntrico e na segunda, o acrocêntrico.

O dimorfismo do cromossomo Y dos bovinos foi, primeiramente, apresentado por <u>Monnier-Cambon (1964)</u> e logo a seguir por <u>Kieffer e Cartwright</u> (1968) ao comunicarem a natureza acrocêntrica desse dimorfismo na raça Zebuína Brahman (*Bos taurus indicus*).

Encontram-se bem estabelecidas, na literatura, as variações inter-raciais na posição centromérica e tamanho relativo do Y. Tais variações chegam a ponto de permitir, com certa segurança, diferenciar alguns grupos de raças taurinas, de outras, pelo simples exame do cromossomo Y (HALNAN; WATSON, 1982). De acordo com Rocha (1987), desde que na formação de muitas raças ocorreu contribuição de outras, seria de interesse averiguar possíveis diferenças intra-raciais na posição centromérica e no tamanho relativo do Y. Kieffer e Cartwright (1968) atribuíram a uma inversão pericêntrica a possível origem desse dimorfismo em bovinos. Dessa forma, o cromossomo Y pode ser considerado um marcador diferencial do cariótipo das duas subespécies (Figura 11).

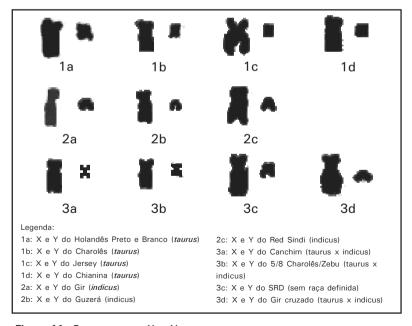


Figura 11. Cromossomos X e Y.

Fonte: Jorge, W. (1974).

Hipótese da inversão pericêntrica como origem do polimorfismo do cromossomo Y em bovinos

As inversões são alterações cromossômicas estruturais que, para acontecer, devem ocorrer os seguintes eventos:

- a. Duas quebras cromossômicas que podem estar localizadas no mesmo braço cromossômico ou uma no braço curto e outra no longo.
- b. Giro de 180º no fragmento localizado entre as duas quebras.
- c. Reunião do fragmento invertido nos mesmos locais das quebras.

As inversões não envolvem alterações na quantidade do material genético e, como regra, são viáveis.

Na inversão pericêntrica, há envolvimento do centrômero, portanto, as quebras ocorrem em braços diferentes, podendo dar origem a um cromossomo com posição do centrômero diferenciada (Figura 12).

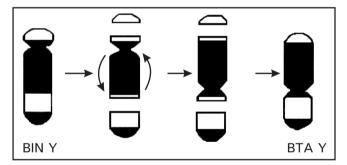


Figura 12. Representação esquemática da inversão pericêntrica no cromossomo Y da subespécie *Bos taurus indicus* (BIN) resultando o Y submetacêntrico da *Bos taurus taurus* (BTA).

Fonte: Tambasco (1976).

De acordo com Basrur e Gilman (1964) citados por <u>Schwerin et al. (1992)</u>, a metade distal do cromossomo Y acrocêntrico de *Bos indicus* é homólogo ao braço curto do cromossomo Y de *Bos taurus*, respaldando a idéia de que os cromossomos Y dessas duas espécies diferiram por uma inversão pericêntrica. Em contrapartida, <u>Märki e Robinson (1984)</u> questionaram essa

hipótese, propondo que a variação do cromossomo Y resultou de uma diferenca na quantidade de heterocromatina no Y.

Kieffer e Cartwright (1968) mostraram em seu trabalho que a origem dos dois tipos de cromossomos, submetacêntrico e acrocêntrico, pode ser conseqüência de uma inversão pericêntrica, podendo ter ocorrido nos dois sentidos, tanto da forma acrocêntrica para a submetacêntrica quanto no sentido inverso, sem perda de material genético. Jorge (1970) e Carvalho et al. (1994) aventam a mesma hipótese. Entretanto, Tambasco (1976) acredita que a inversão pericêntrica ocorreu no Y submetacêntrico da subespécie Bos taurus taurus, resultando no Y acrocêntrico em Bos taurus indicus.

Com técnicas de bandas G e C, <u>Moraes (1978)</u> mostrou que a posição dos segmentos terminais do cromossomo Y do animal estudado foi alterada, sendo responsável pela mudança na morfologia do cromossomo. O cromossomo Y da raça Ibagé revelou essas duas formas de Y (<u>PINHEIRO</u>, 1977).

Pinheiro et al. (1984), em análise de 16 animais da raça Ibagé, também mostraram que os dois tipos de cromossomo Y, encontrados nessa raça, podem ter sido originados por uma inversão pericêntrica. A partir de bandamentos G e C, constataram que as bandas cromossômicas eram idênticas e que as diferenças existentes entre *Bos indicus* e *Bos taurus* são evidentemente gênicas.

Analisando os cromossomos das duas subespécies, <u>Halnan e Watson (1982)</u> verificam que a parte terminal do braço longo de *Bos taurus indicus* é homóloga ao braço curto dos *Bos taurus taurus*.

Segundo <u>Pinheiro (1984)</u>, estudos realizados em diferentes partes do mundo demonstram que do cromossomo Y acrocêntrico originou o cromossomo Y submetacêntrico por meio de quebras e inversões pericêntricas. Entretanto, a existência de um animal da raça Gir (*Bos taurus indicus*) com Y submetacêntrico é vista como possibilidade remota de ter ocorrido inversão pericêntrica nas primeiras divisões mitóticas e menos

ainda na gametogênese. A explicação mais plausível é de que esse animal seja descendente de um progenitor *Bos taurus taurus*.

Em *Bos taurus*, a heterocromatina está localizada na metade distal do braço curto, enquanto em *Bos indicus*, acima da metade distal. A localização de duas sondas na parte distal de Yq em *Bos indicus* demonstra que essa região é homóloga a Yp em *Bos taurus*, apoiando a hipótese de que o cromossomo Y das duas espécies diferiu por uma inversão pericêntrica (SCHWERIN et al., 1992; GOLDAMMER et al., 1997).

Mediante técnicas de bandamento e de mapeamento por FISH, Lannuzzi et al. (2001) encontraram um cromossomo Y anormal que foi originado de uma inversão pericêntrica no braço Yq (Yq11→ q12,2).

Di Meo et al. (2005), utilizando igualmente técnicas de bandamento e mapeamento por FISH, concluem que o rearranjo estrutural do cromossomo Y dos bovinos durante o processo evolutivo foi uma transposição de centrômero ou uma inversão pericêntrica. A transposição do centrômero tem sido demonstrada como um mecanismo freqüente de rearranjo cromossômico.

Cromossomo Y dos taurinos

Melander (1959) descreveu, pela primeira vez, o cariótipo do gado Europeu sendo o cromossomo X um dos maiores com centrômero mediano e o Y como um dos menores com centrômero submediano e heteropicnótico. Gimenez-Martin e Lopes-Sez (1962) consideram o X como o maior cromossomo do cariótipo e o Y entre os cinco menores e com centrômero "mediano-submediano". Sazaki e Makino (1962) identificaram o Y com centrômero submediano e heteropicnótico e com tamanho equivalente entre os 23º e 25º pares de autossomos. Outros trabalhos, referentes ao cariótipo do gado Europeu, mostraram o dimorfismo cromossômico XX/XY, não relatando, todavia, sobre o tamanho relativo dos cromossomos X e Y (HERSCHLER et al., 1962; BARSUR; STOLTZ, 1966; BHAMBHANI; KUSPIRA, 1969; DUNN et al., 1968; GUSTAVSSON, 1969; TEPLITZ et al., 1967).

Jorge (1974) verificou que linhagens da subespécie *Bos taurus taurus* (Charolais, Chianina e Black and White Friesian) apresentam um cromossomo Y submetacêntrico e relatou, pela primeira vez, a raça Jersey (*Bos taurus taurus*) com cromossomo Y metacêntrico. <u>Potter et al. (1979)</u> examinaram 23 animais da raça Jersey provenientes da Austrália com cromossomo Y metacêntrico. Benjamin e Bhat (1977) relataram que a raça Holstein-Friesian possui cromossomo Y submetacêntrico.

Em 1975, Cribiu, analisando o cromossomo Y de cinco raças francesas (Maine-Anjou, Normands, F. F. P. N., Charolais e Montbéliards), observou que o cromossomo Y (submetacêntrico) não variava dentro de uma mesma raça e que o Y das raças Charolais e Montbéliards era maior que o das raças Maine-Anjou e Normanda. O autor sugere que as variações no comprimento do cromossomo Y submetacêntrico sejam devidas a diferenças na quantidade de material genético resultantes de remanejamentos estruturais, tais como duplicações, deleções ou translocações. A ausência de significativas variações inter-raciais no índice centromérico indica que a variação no comprimento do cromossomo ocorreu em ambos os braços.

Halnan e Watson (1982) relatam que o tamanho do Y varia entre as raças Taurinas. As raças Charolês e Simental têm o maior cromossomo Y, e a raça Romagnola, um dos menores até então analisados. As raças de *Bos taurus* puras e as AfriKander e Belmont Red (derivados de *Bos taurus*) possuíam pequeno cromossomo Y que variava de metacêntrico a submetacêntrico, com índice centromérico de 49% e 27% respectivamente.

Rocha et al. (2000) analisaram 95 touros da raça Chianina em cinco estados brasileiros. Todos os indivíduos analisados mostraram o cromossomo Y de Taurinos, com índice centromérico de 43,91%, o que permitiu classificar o centrômero desse cromossomo como localizado na região mediana. Foram utilizadas mensurações de comprimento e de índice centromérico do Y, acrescidas das de comprimento do X. Essa última serviu de padrão para a determinação do comprimento relativo do Y. A análise de variância mostrou diferenças entre touros apenas no tamanho relativo do Y, sendo que o índice centromérico não diferiu entre eles. A localização do

centrômero no cromossomo é utilizada para identificação morfológica dele. Dessa forma, o índice centromérico é calculado pela relação do braço curto em relação ao comprimento total do cromossomo ($i = s/c \times 100$) (Levan et al., 1964).

O cromossomo Y dos zebuínos

Monnier-Cambon (1964) relatou, pela primeira vez, o cromossomo Y na raça zebuína Gobra como acrocêntrico e o menor do cariótipo. Kieffer e Cartwright (1968) descreveram o cromossomo Y acrocêntrico para a raça Brahman e identificaram o Y como um "pequeno acrocêntrico, mas não o menor", equivalente em tamanho ao cromossomo Y dos taurinos e de difícil distinção dos autossomos pequenos. Observaram, também, que no Y a replicação do DNA é iniciada pelo menos duas horas mais tarde do que nos autossomos. Os autores sugeriram, pela primeira vez, que a diferença na posição do centrômero pode ter-se originado de uma inversão pericêntrica. Hsu e Benirschke (1968), em seu "Atlas", relatam que o gado zebuíno e o europeu têm cariótipo idêntico, à exceção do Y que é um "pequeno acrocêntrico" nos zebuínos. Hoje se sabe que não há variação do tamanho total entre o Y acrocêntrico e o submetacêntrico.

Jorge (1974) verificou o Y acrocêntrico nas linhagens Gir, Guzerá e Red Sindi, todas pertencentes à subespécie *Bos taurus indicus*. Gupta et al. (1974) encontraram Y acrocêntrico para a raça Red Sindi, comprovando os achados de Jorge. Na raça Sahiwal, também foi encontrado Y acrocêntrico (GUPTA et al., 1974; HALNAN; WATSON, 1982).

Segundo <u>Benjamin e Bhat (1977)</u>, o cromossomo Y da raça Hariana, descrito pela primeira vez pelos autores, é telocêntrico, não se observando os braços pequenos desses cromossomos. Isso pode ser devido ao fato de que, em muitas preparações, os cromossomos não se distendem suficientemente, e os braços curtos não podem, assim, ser observados com nitidez.

Halnan e Watson (1982) relatam que o cromossomo Y das raças *Bos indicus* puras (Sahiwal e Sindi), Brahman, Santa Gertrudis e Belmont Red (derivadas de machos Zebus) é acrocêntrico, com um índice centromérico inferior a 20%.

Penna et al. (1994) analisaram 25 animais da raça Tabapuã e verificaram a existência de um Y acrocêntrico e um polimorfismo de banda C nos autossomos, provavelmente no cromossomo 8 em dois animais.

Diferentes formas do cromossomo Y em uma mesma raça

Carvalho et al. (1994) detectaram heteromorfismo do cromossomo Y na raça Caracu: 75% dos animais tinham o Y acrocêntrico e 25%, submetacêntrico. Os autores sugerem que o fato poderia ser explicado pelo fenômeno da inversão pericêntrica ou pelo cruzamento com animais zebuínos.

Segundo <u>Pinheiro et al. (1984)</u>, a explicação mais plausível para o heteromorfismo é a de que tenha sido introduzido algum animal zebuíno no rebanho e ocorrido erros nos registros, todavia não fica excluída a possibilidade de ter ocorrido inversão pericêntrica no cromossomo Y original que deveria ser submetacêntrico.

Além do variável posicionamento do centrômero acima referido, o cromossomo Y de bovinos tem sido descrito com apresentações também variáveis no tamanho (<u>JORGE, 1974</u>).

Jaszczak et al. (1998) analisam 12 machos da raça Piemontesa e encontram duas formas morfológicas de cromossomo Y: submetacêntrico (com índice centromérico igual a 30%) em sete animais e metacêntrico (com índice centromérico de 49%) no restante, ambos provenientes de ancestrais não relacionados. No bandamento G, geralmente, ambas as formas tinham um braço p claro, com uma estreita banda escura na extremidade distal e um braço q com duas bandas positivas, semelhantes ao bandamento-padrão do ISCNDA (International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals). No bandamento C, os cromossomos eram completamente escuros embora em algumas preparações apenas o braço curto e a região centromérica coravam-se intensamente. Esses padrões de bandamento das duas formas de cromossomo Y encontradas nos machos Piemonteses, assim como seus índices centroméricos, são típicos da espécie Taurina (*Bos taurus*), o que indica a sua origem.

Tambasco et al. (1985) verificaram esse dimorfismo em raças naturalizadas de bovinos existentes no Brasil, como as raças: Caracu, Mocho Nacional, Curraleiro e Crioulo Lageano. Todos apresentaram cariótipo normal, porém com o cromossomo Y submetacêntrico ou acrocêntrico. Concluíram que o cromossomo Y acrocêntrico é mais freqüente nas raças Caracu, Curraleiro e Mocho Nacional do que na raça Crioulo Lageano.

Em 1999, Britto e Mello estudaram a morfologia do cromossomo Y, elementos da genitália externa e outras características fenotípicas de touros "pé-duro", também conhecido como Curraleiro. A suspeita de contaminação racial por animais zebuínos (*Bos taurus indicus*), num gado que tem sido considerado mais próximo de sua origem européia (*Bos taurus taurus*), foi confirmada pela detecção de ambos os tipos de cromossomo no rebanho mantido no núcleo de preservação da Embrapa Meio-Norte. Neste mesmo trabalho, foi constatado que 68% dos touros apresentavam o cromossomo Y acrocêntrico e 32%, o Y submetacêntrico, o que confirma resultados de estudos de Tambasco et al. (1985).

De acordo com Potter et al. (1979), os touros Droughtmaster, provenientes da raça Brahman, possuem o Y acrocêntrico, enquanto os desenvolvidos a partir do Afrikander têm Y submetacêntrico. Dados apresentados por Halnan e Watson (1982) mostram que o cromossomo Y do Belmont Red (derivado de *Bos taurus*) foi identificado como pequeno metacêntrico ou submetacêntrico, enquanto o Belmont Red (derivado de machos Zebu) foi descrito com cromossomo Y acrocêntrico.

Xin e Lin (1993) encontraram, no gado amarelo da China, três tipos de cromossomo Y (metacêntrico, submetacêntrico e acrocêntrico) nas raças Qiuchuan e Jinnan na China central e dois tipos (metacêntrico e acrocêntrico) na raça Jinaxian. De acordo com Cungen e Longworth (1998), até 1949 havia pouco gado leiteiro e não havia nenhuma raça especial de corte na China, e a maioria do gado era destinada ao trabalho. A partir dessa época, a China introduziu mais de 20 raças especializadas de corte com propósito duplo de carne e de leite para o melhoramento do gado nativo. Todavia, não há estudos de análise cromossômica ou de mtDNA.

Giovambattista et al. (2000) estudaram a distribuição geográfica e a freqüência de haplótipos do cromossomo Y de Bos taurus e Bos indicus entre as raças crioulas argentinas e bolivianas usando técnicas citogenéticas e moleculares. O haplótipo taurino (cromossomo Y submetacêntrico) foi encontrado em 100% dos crioulos argentinos, já nas raças bolivianas, foram encontrados tanto cromossomo Y submetacêntrico quanto acrocêntrico, sendo o primeiro tipo morfológico em maior fregüência.

A presença dos dois tipos de Y (submetacêntrico e acrocêntrico) numa mesma raça deve ser atribuída aos cruzamentos direcionados que originaram as raças (PINHEIRO, 1979).

O cromossomo Y dos animais provenientes de cruzamentos entre *taurus* e *indicus*

A existência de duas apresentações morfológicas do cromossomo Y (acrocêntrico para as raças asiáticas e submetacêntrico para as européias) permite verificar se determinado animal, com suspeita de ser resultante de cruzamentos entre essas duas subespécies, apresenta progenitor paterno taurino ou zebuíno. No cruzamento clássico como foi utilizado, por exemplo, na formação do gado Canchim com formação de animais 5/8 taurinos 3/8 zebuínos, utilizaram-se *Bos taurus* e *Bos indicus* em três cruzamentos em sistema alternado, sendo que no último acasalamento foram usados machos taurinos (Figura 13). Dessa forma, obrigatoriamente o Canchim deverá ter seu cromossomo Y submetacêntrico, como foi demonstrado por Jorge (1974). Em outros cruzamentos (com menor freqüência na prática), o produto com a mesma fração genômica (5/8 taurino e 3/8 zebuíno) pode apresentar o cromossomo Y acrocêntrico, quando se utilizam ancestrais paternos zebuínos na última geração (Figura 14).

Examinando preparações cromossômicas de animais da raça Afrikander (resultantes do cruzamento de *Bos taurus* e *Bos indicus* e considerados como "taurindicus"), <u>Halnan e Francis (1976)</u> verificaram que o cromossomo Y desses animais é similar ao das espécies taurinas. Observando a anatomia e o comportamento dos animais, concluíram que podem ser resultantes de uma mistura de 3/4 *Bos indicus* e 1/4 *Bos taurus*.

<u>Pinheiro et al. (1977)</u> encontram coexistência de Y submetacêntrico e acrocêntrico na raça Ibagé (5/8 Aberdeen Angus e 3/8 Nelore) devido a três diferentes esquemas de cruzamentos não relatados no trabalho. Essa foi a primeira raça descrita com polimorfismo do cromossomo Y.

Benjamin e Bhat (1977) relataram que os animais provenientes do cruzamento das raças Hariana e Holstein possuem cromossomo Y submetacêntrico, típico da raça Holstein. Já a raça Santa Gertrudis, 5/8 Shorthorn (taurino) e 3/8 Brahman (zebuíno), foi descrita como tendo o cromossomo Y acrocêntrico (KIEFFER; CARTWRIGHt, 1968; HALNAN; FRANCIS, 1976; ISSA et al., 2004).

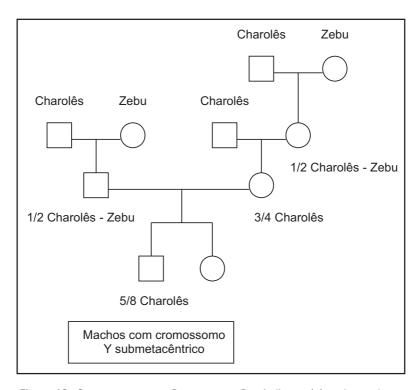


Figura 13. Cruzamento entre *Bos taurus* e *Bos indicus* originando machos com cromossomo Y submetacêntrico.

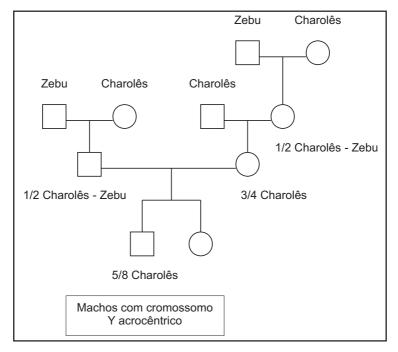


Figura 14. Cruzamento entre *Bos taurus* e *Bos indicus* originando machos com cromossomo Y acrocêntrico.

Cromossomo Y das raças africanas

As raças africanas, bem como a morfologia do Y delas, apresentam algumas peculiaridades que serão detalhadas a seguir.

Frisch et al. (1997) classificam o gado africano em sangas africanos do sul ou Tuli como *Bos taurus* e o zebu africano do leste como *taurindicus*. A classificação é baseada no cariótipo, na freqüência de marcadores de DNA e no polimorfismo de proteínas. O Boran, um tipo de zebu africano do leste, tem um cromossomo Y acrocêntrico típico de *Bos indicus*. As raças sangas africanas do sul têm um cromossomo Y submetacêntrico típico de *Bos taurus*. Freqüências de quatro marcadores de DNA apóiam a hipótese de que o Tuli, sanga africano do sul, teve um ancestral taurino e o Boran teve dois ancestrais: um taurino e outro *indicus*. Freqüências de vários polimorfismos de proteínas sugerem fortemente que os sangas africanos do sul têm mais em comum com taurinos do que com as racas indianas,

enquanto os zebus africanos do leste são uma mistura de taurinos africanos e raças indianas asiáticas. Na Figura 15, ilustra-se o descrito.

A presença de Y de *indicus* no Boran e em outras raças zebu africanas é uma clara evidência de que machos *Bos indicus* estavam presentes na África, e não há evidência de mtDNA *indicus* em outras raças africanas classificadas como *Bos indicus* (LOFTUS et al., 1994b). Isso indica que fêmeas *indicus* não são suas progenitoras. Esses dois fatores sugerem que a ingressão de genes *indicus* nas populações africanas foi predominantemente, se não exclusiva, por meio de machos *indicus*. (MEGHEN et al., 1994; LOFTUS et al., 1994b).

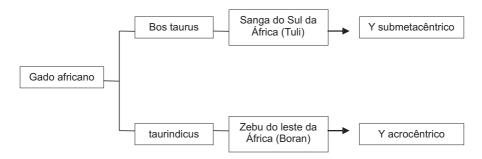


Figura 15. As morfologias do cromossomo Y das raças africanas.

A presença dos dois tipos de Y acrocêntrico e submetacêntrico em Zebu Malawi e a diferente proporção de alelos zebu no oeste da África e raças Sudano-Sahelian (MEGHEN et al., 1994) provam de forma clara e evidente que várias raças africanas, presentemente classificadas como zebu, são misturas de *taurus* e *indicus*. Igualmente, várias raças classificadas como Sanga, particularmente as próximas do centro de introdução dos zebus indianos, são também provavelmente misturas.

Segundo Frisch et al. (1997), o Tuli é morfologicamente intermediário entre raças européias e indianas devido ao cruzamento de raças. As freqüências de bandas similares no Tuli e nas raças européias e as maiores diferenças com as correspondentes freqüências no Brahman sugerem que o Tuli se originou principal ou exclusivamente de ancestrais taurinos, e a separação temporal entre o Tuli e as raças européias é muito recente se comparada com a separação de raças indianas. A diferença entre o Tuli e as raças

européias nas freqüências de marcadores é tão pequena que ele pode ser mais considerado como *Bos taurus* do que como um taxon separado. A similaridade do Boran com o Brahman sugere que são mais próximos que 50%. Foi sugerido que o Boran tenha sido originado de cruzamento entre taurinos e *indicus*, com os pais taurinos contribuindo pelo menos com 50% do total do material genético. Dessa forma, o Boran pode ser classificado como "taurindicus" em vez de um *indicus* verdadeiro.

As raças *Bos taurus* do oeste da África possuem uma capacidade inata de resistir aos efeitos das infecções da Tripanossomíase. Por sua vez, geralmente conferem improdutividade nas raças zebuínas ou mesmo os excluem totalmente de grandes áreas (TEALE et al., 1995). A raça N'Dama (EPSTEIN, 1971) é a mais conhecida e a mais numerosa raça de gado tripanotolerante do oeste da África. Como as décadas mais recentes têm sido muito secas, a mosca africana tsé-tsé, vetor da Tripanossomíase Africana, tem recuado permitindo aos animais zebus migrarem para regiões que antes eram inviáveis para eles, possibilitando o cruzamento das raças sem nenhuma restrição. Nas análises de metáfases de cromossomos de animais N'Dama examinadas, o cromossomo Y foi característico de *Bos indicus*. A detecção do cromossomo Y zebu no gado africano oferece uma prova significativa da introdução de genes zebuínos nas populações de gado taurino (BRADLEY et al., 1994).

O exame de preparações de cromossomos do gado Afrikander feito por <u>Halnan e Francis (1976)</u> mostrou que o cromossomo Y dessa raça é do tipo de *Bos taurus*. Baseando na anatomia e no comportamento do gado Afrikander, verifica-se que ele é derivado de ancestrais *Bos taurus* e *Bos indicus*, talvez na proporção de aproximadamente ¼ e ¾ respectivamente.

Hanotte et al. (2000) analisaram 69 populações de bovinos africanos de 22 países para um lócus marcador (INRA 124) do cromossomo Y. Dos 984 machos estudados, 693 (70%) apresentaram o alelo para *indicus* e apenas 291 (30%) para *taurus*.

Identificação e caracterização do Y pelas técnicas de bandamento

As técnicas de coloração convencional são utilizadas para contagem total dos cromossomos e identificação de sua morfologia, entretanto não permitem a identificação precisa e individual dos cromossomos. Isso é

particularmente verdade para os cromossomos dos bovinos nos quais há uma ordem decrescente de tamanho dos autossomos com pequena diferença entre os pares, dificultando também a identificação dos homólogos.

Devido à morfologia dos cromossomos dos bovinos, todos acrocêntricos, à exceção do X e do Y em *Bos taurus taurus*, o pareamento cromossômico é difícil e bastante falho. Com o desenvolvimento de técnicas de formação de bandas cromossômicas, essas passaram a ser sistematicamente utilizadas nos estudos citogenéticos em bovinos, tais como: bandas Q, G, C, T, R, NOR e Brdu (PINHEIRO, 1979). Os bandamentos mais utilizados são os bandamentos G e C.

As técnicas de bandamento G, Q e R permitem uma inequívoca identificação dos homólogos pela diferenciação longitudinal dos cromossomos com a formação de regiões mais forte e levemente coradas (bandas e interbandas no bandamento G e o reverso no bandamento R). Essas regiões representam o DNA de forma mais espiralizado (banda positiva) e menos espiralizado (banda negativa).

Bandamento G (GTG)

O bandamento G consiste basicamente no pré-tratamento dos cromossomos nas metáfases com tripsina seguida de coloração com Giemsa. É mais utilizada em bovinos por causa das maiores facilidades na sua obtenção e por exigir apenas equipamento comum de microscopia ótica. Por sua vez, permite definir os homólogos, o que não acontece utilizando coloração convencional.

Schnedl (1972) utilizou, pela primeira vez, a técnica de bandas G nos bovinos, tendo conseguido o pareamento de todos os cromossomos. Mostra também que os centrômeros dos cromossomos autossômicos apresentavam-se pálidos contrastando com as bandas fortemente coradas que correspondem às regiões heterocromáticas. Para o autor, o DNA altamente repetitivo do centrômero seria removido pela Giemsa. Já o par sexual apresenta região centromérica fortemente corada, indicando que, nesses cromossomos, não haveria remoção do DNA.

A Segunda Conferência para Padronização do Cariótipo dos Animais Domésticos, realizada na França em 1989 e publicada em 1990 (DI BERARDINO et al., 1990), criou o sistema denominado International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals (ISCNDA). De acordo com a nomenclatura internacional (nos humanos e nos animais), os cromossomos são divididos em regiões e sub-regiões. Tanto em uma quanto na outra, a numeração começa do centrômero. Assim, pode-se constatar que a região 2.1 é mais próxima do centrômero do que a região 2.5. Conforme esse sistema, o cromossomo Y submetacêntrico dos bovinos caracteriza-se por apresentar pela técnica de bandas G (GTG):

- a) Uma banda larga negativa no braço curto (1.2) e uma banda estreita positiva, telomérica (1.3).
- b) Uma banda estreita negativa no meio do braço longo (2.2) e mais três bandas positivas estreitas (2.1, 2.3 e 2.5).

De acordo com o novo sistema, específico para a família Bovidae, publicado em 2001, ISCNDB (International System for Chromossome Nomenclature of Domestic Bovids) (CRIBUI et al., 2001), o cromossomo Y dos bovinos pelo bandamento G apresenta diferenças marcantes com o sistema de 1990 (Figuras 16 e 17):

- a) Uma banda larga negativa no braço curto (2.2), uma banda estreita telomérica (1.3) e uma banda larga positiva próxima ao centrômero (esta última inexistente no sistema de 1990).
- b) Duas bandas largas e escuras no braço longo com uma estreita interbanda entre ambas. Aqui há diferenças marcantes com relação ao sistema de 1990.

Quanto ao bandamento R, o padrão de bandas, dos dois sistemas, é muito próximo a uma banda larga positiva no braço curto nos dois sistemas e uma banda larga negativa em todo braço longo, à exceção de que, na Conferência de 2000, discutiu-se a existência de uma banda fina positiva no meio do braco longo.

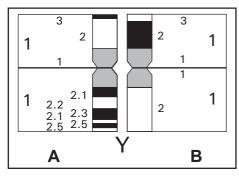


Figura 16. Idiograma do cromossomo Y discutido na Conferência Internacional de 1989 (esquerda). A) Bandamento G; B) Bandamento R.

Fonte: Di Berardino et al., 1990, p. 73.

Figura 17. Idiograma do Cromossomo Y, discutido na Conferência Internacional de 2000 (direita). A) Bandamento G; B) Bandamento R. Fonte: Cribui et al. (2001).

2.3 1 1 1 2.1 1 2.2 2.3 C Y D

A técnica de produção de bandas G permitiu visualizar que todas as linhagens de *Bos indicus* (Brahman, Sahiwal e Sindhi) estudadas possuíam um cromossomo Y acrocêntrico com o centrômero e a metade proximal do braço longo intensamente corada, enquanto a metade distal do braço longo estava descorada, exceto em sua porção terminal. Os braços curtos foram moderadamente corados. Em linhagens de *Bos taurus*, Sanga e Banteng (*Bibos banteng*), o Y era submetacêntrico e um dos menores cromossomos (HALNAN, 1989). Na raça Jersey, foi encontrado um Y metacêntrico em todos os animais analisados, confirmando resultados de pesquisas de <u>Jorge (1974)</u>. Todos os animais *Bos indicus* tinham um Y acrocêntrico, morfologicamente idêntico aos autossômicos. Somente foi possível identificá-lo pelo bandamento C e G. Uma pequena variação na morfologia do cromossomo Y dentro de cada linhagem foi constatada.

Bandamento C

As bandas C são produzidas pela coloração de heterocromatina constitutiva que está localizada, em grande parte, na região centromérica e daí o nome decorrente. Têm sido consideradas como método para distinguir o cromossomo Y acrocêntrico de outros pequenos autossomos nos zebuínos com coloração escura uniforme em todo o cromossomo (Figura 18).

Evans et al. (1973) citados por Pinheiro (1979) determinaram, pela primeira vez, os padrões de bandas C nos bovinos. Eles demonstraram que o centrômero dos autossomos corava-se fortemente. Entretanto, o cromossomo X e o Y submetacêntrico eram palidamente corados na região centromérica, e alguns cromossomos apresentavam bandas na região correspondente ao braço curto, deixando claro tratar-se de cromossomos acrocêntricos. Popescu (1977) encontrou, também, as mesmas particularidades, anotando, ainda, que o cromossomo Y submetacêntrico apresenta o braço curto marcado.

Schnedl e Czaker (1974), analisando o comportamento dos cromossomos dos bovinos em relação às técnicas de bandas C e G, concluíram que a região centromérica desses animais é composta de DNA repetitivo (seqüências de bases G-C), o que já era admitido por outros autores.

Utilizando técnicas de produção de bandas C, Potter et al. (1979) verificaram que o cromossomo Y tanto metacêntrico como submetacêntrico de Bos taurus corou-se intensamente por inteiro. Todavia, em algumas preparações, o braço longo corou-se pouco, enquanto o braço curto e a região centromérica coraram-se com uma intensidade intermediária entre a região centromérica e os braços dos cromossomos autossômicos. O Y acrocêntrico de Bos indicus corou-se, na maioria das vezes, intensamente por inteiro. Em algumas preparações, a região distal do braço corou-se fracamente, em comparação ao restante do braço e à região centromérica que apresentava uma coloração intermediária entre a coloração fraca dos braços e a coloração intensa da região centromérica dos cromossomos autossômicos. Essa coloração foi característica e possibilitou a identificação fácil e precisa do cromossomo Y.

Segundo <u>Halnan e Watson (1982)</u>, o bandamento C foi mais eficaz para a identificação do cromossomo Y do que o bandamento G.

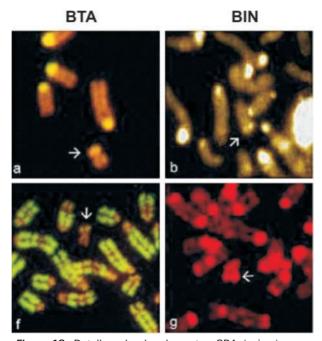


Figura 18. Detalhes dos bandamentos CBA (acima) e RBA (abaixo) no cromossomo Y (seta) de *Bos taurus* (BTA) e *Bos indicus* (BIN). As bandas típicas positivas C e R estão localizadas distalmente em todos os cromossomos.

Fonte: Di Meo et al. (2005).

Hibridização in situ

A hibridização *in situ* é uma técnica empregada em preparações celulares para visualização de seqüências definidas de ácidos nucléicos por meio de hibridização de seqüências complementares ou sondas (<u>ROGATTO</u>; <u>RAINHO</u>, 2000).

A marcação de ácidos nucléicos por fluorescência foi desenvolvida na década de 1980 e provou ser extremamente útil em muitas aplicações diferentes, incluindo a hibridização *in situ* de cromossomos, a hibridização *in situ* de tecidos e o seqüenciamento automático de DNA (STRACHAN: READ, 2002).

A técnica é baseada no fato de o DNA ser formado por duas fitas complementares, unidas por pontes de hidrogênio, ou seja, ligações fracas que podem ser rompidas com facilidade (desnaturação), originando duas fitas simples. Em condições adequadas, o DNA pode ser renaturado, voltando ao estado de fita dupla. Quando sondas são adicionadas (anteriormente a renaturação), essas competirão com a fita original e ocorre a hibridização *in situ* (HIS). A técnica FISH (fluorescence in situ hybridization) substitui os métodos isotópicos com ampliação de fluorocromos na marcação de sondas. Os cromossomos submetidos à FISH aparecem marcados com diferentes intensidades de cores, contrastando com o fundo escuro (Figura 19).

As técnicas de hibridização *in situ* em bovinos têm sido utilizadas para o mapeamento do cromossomo Y, particularmente da SRY (Região Determinante do Sexo no cromossomo Y) mostradas nos trabalhos de <u>Cui et al. (1995)</u>; <u>Solinas-Toldo et al. (1995)</u>; <u>Cui et al. (1998)</u>; lannuzzi et al. (2001); <u>Clawson et al. (2004)</u> e <u>Di Meo et al. (2005)</u>.

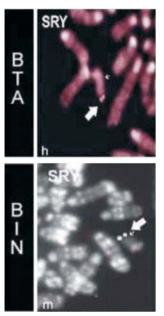


Figura 19. Detalhes do mapeamento por FISH no cromossomo Y de *Bos taurus* (BTA) e *Bos indicus* (BIN) mostrando as visualizações de bandamento RBH contendo SRY.

Fonte: Di Meo et al. (2005).

O cromossomo Y e a fertilidade dos bovinos

Machos da maioria das espécies de mamíferos têm um cromossomo X e um cromossomo Y, diferente da fêmea que tem dois cromossomos X. Na espécie humana, o cromossomo Y é muito menor que o cromossomo X. O cromossomo Y possui 65 megabases (Mb) de tamanho, o que representa 2% do genoma haplóide, ao passo que o X contém 160 Mb ou 5% do genoma. Os cromossomos X e Y não se recombinam na maior parte do seu comprimento, exceto nas regiões pseudo-autossômicas (PARs) localizadas nas extremidades.

A região distal do braço longo do Y é quase inteiramente heterocromática, composta de següências repetitivas de DNA. No braço curto, próximo à PAR, localiza-se a Região Determinante do Sexo no cromossomo Y (SRY), introdutora da formação de testículo que, por meio de testosterona e do hormônio antimuleriano, regula o desenvolvimento da genitália e do fenótipo sexual. Segundo Nussbaum et al. (2002), a SRY codifica uma proteína de ligação ao DNA que, provavelmente, seja fator de transcrição, embora os genes específicos que ela regula sejam desconhecidos. A SRY é equivalente ao gene TDF (Fator Determinante Testicular) no cromossomo Y. A ausência desse gene leva à formação da via ovariana. O desenvolvimento de um ovário ou de um testículo é determinado pela ação de uma següência de genes que normalmente leva ao desenvolvimento do ovário quando o cromossomo Y não está presente ou ao desenvolvimento de testículo quando o Y está presente. Di Meo et al. (2005), com base em estudos de mapeamento utilizando a técnica de FISH, observaram que a SRY nos taurinos está localizada na porção distal do braço longo do Y e nos zebuínos, na porção distal do braço curto (Figura 20). Segundo Cui et al. (1995), a posição da SRY nos bovinos, Yq12, é diferente da posição da SRY nos humanos, a qual está no braço curto.

Pouco se conhece sobre a relação entre o Y e a fertilidade dos bovinos. Estudos mais aprofundados com técnicas de citogenética e biologia molecular são necessários para o reconhecimento de regiões no Y responsáveis pela produção dos espermatozóides, como existe na espécie humana (regiões AZF do braco longo). A informação de que um ou mais genes,

chamados de fatores de azoospermia (AZF), que controlam a espermatogênese, estão localizados no braco longo do Y (Yq) nos humanos é conhecida desde a década de 1970 com o trabalho de Tiepolo e Zuffardi (1976). Nesse trabalho, os autores analisaram seis homens azoospérmicos e postularam que fatores que controlam a espermatogênese estariam na porção distal do braco longo do Y (Yg11). Utilizando técnicas da biologia molecular, demonstrou-se que o lócus da espermatogênese estaria na região Yq 11.23, que ficou conhecida como Azoospermia Factor (AZF) ou Fator de Azoospermia. Centenas de trabalhos sobre o assunto foram publicados a partir de 1974 e hoje se sabe da existência de mais três regiões de AZFs (VOGT, 1997), todas localizadas no braço longo do Y e cujas microdeleções são responsáveis pela ausência de células de Sertoli (AZFa); ausência de espermatogênese (AZFb) e ausência do processo de maturação pós-meiótico (AZFc). Em 1999, foi identificada uma guarta região (AZFd) localizada entre b e c (KENT-FIRST et al., 1999). Situados dentro da região de deleção AZFc, os genes deletados na azoospermia (DAZ) codificam proteínas de ligação ao RNA expressas apenas nas células germinativas pré-meióticas dos testículos (Figura 21).

Cerca de 3% dos homens são inférteis, tanto em função de fatores ambientais quanto genéticos, este último ainda pouco entendido. Os defeitos ligados à produção de espermatozóides estão, muitas vezes, relacionados com as mutações ou deleções *de novo*, entretanto, a freqüência desses fatores ainda é desconhecida na população masculina (NUSSBAUM et al., 2002).

Entre os casos de infertilidade nos bovinos relacionados com o cromossomo Y, Murakami et al. (1989) fizeram análises cromossômicas de 18 novilhas estéreis e dessas, três (16,7%) possuíam diferentes anormalidades cromossômicas. Uma novilha com cariótipo 60, XY, uma com mosaicismo 60, XX / 60, XY e outra com trissomia do 20 (61, XX + 20). No primeiro caso, a novilha mostrou características de fêmea típica, com ovário, útero e vagina, entretanto possuía cromossomo Y. Tanto as gônadas quanto a genitália externa desenvolveram como as de uma fêmea típica na presença do cromossomo Y.

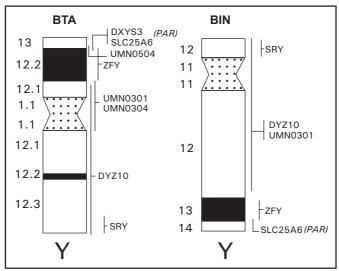


Figura 20. Mapas citogenéticos em ideogramas de bandamento R do cromossomo Y de *Bos taurus* e *Bos indicus*.

Fonte: Di Meo et al. (2005).

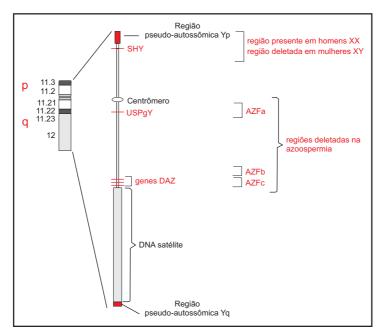


Figura 21. Cromossomo Y humano.

Fonte: Nussbaum et al. (2002).

Kondoh et al. (1992) examinaram, citogenética e molecularmente, uma novilha XY da raça Holstein Friesian que possuía útero e ovários, entretanto, não entrava no cio até os 23 meses de idade. Como resultado das análises cromossômicas, provenientes de leucócitos, fibroblastos de pele, baço e rim, só foi encontrado o cariótipo 60, XY. Os genes ZFYs (responsáveis pela proliferação e migração das células germinativas para a crista gonadal) e o gene AMG (amelogenin) foram localizados no braço curto do cromossomo Y (Yp), na fêmea XY e também em touros normais, mas não foram encontrados em vacas normais e na progenitora.

O primeiro caso estudado de SRY em bovinos foi reportado por <u>Kawakura et al. (1996)</u> ao analisarem seis novilhas estéreis, porém, aparentemente, normais. Os autores encontraram um único tipo de cariótipo: 60,XY. Embora a SRY tenha sido detectada por PCR em touros normais, esta não foi detectada em vacas normais e nos casos estudados de fêmeas 60,XY. Essas fêmeas 60,XY não possuíam a SRY e, devido a esse fato, mostraram-se aparentemente fêmeas, embora não tivessem entrado no cio até os dois anos de idade.

Já em 1997, <u>Kawakura et al. (1997)</u> verificaram a estrutura do cromossomo Y por FISH e bandamento G em três casos de fêmeas bovinas XY. Foi feita uma comparação entre um touro normal e essas fêmeas. A hibridização ocorreu no braço curto do cromossomo Y do touro normal e nos dois braços do cromossomo Y das fêmeas XY. Por bandamento G, no Y das fêmeas XY, apenas a região centromérica mostrou-se corada, já no cromossomo Y do touro normal, o braço longo ficou todo escuro. O resultado mostrou que o cromossomo Y das fêmeas estéreis parecia um isocromossomo com dois braços curtos. Segundo os autores, essa análise sugere que a SRY esteja localizada no braço longo do cromossomo Y do touro normal e ausente nas fêmeas XY.

Translocações e a fertilidade nos bovinos

A translocação robertsoniana é um rearranjo estrutural de cromossomos, envolvendo a fusão cêntrica de dois cromossomos acro(telo)cêntricos para formar um único cromossomo meta(sub)metacêntrico. Essa designação foi dada em homenagem a Robertson que, pela primeira vez, em 1916, deu ênfase a esse tipo de translocação ao estudar o significado evolutivo das alterações cromossômicas em insetos.

As translocações robertsonianas foram chamadas por Beiguelman (1982) de translocações por fusão cêntrica. Elas constituem um tipo especial de translocação que ocorre entre cromossomos acrocêntricos e pode iniciar-se pela fratura dos cromossomos em regiões muito próximas ao centrômero, sendo que, em um dos cromossomos, a quebra ocorre no braço superior, enquanto no outro, no inferior. Em conseqüência disso, os segmentos trocados entre eles constituem braços cromossômicos praticamente completos. O cromossomo pequeno que resulta dessa translocação, composto de braços menores dos cromossomos é, quase sempre, perdido durante as divisões mitóticas (Figura 22). Dessa forma, ao invés de o cariótipo de um bovino apresentar 60 cromossomos, vai apresentar 59.

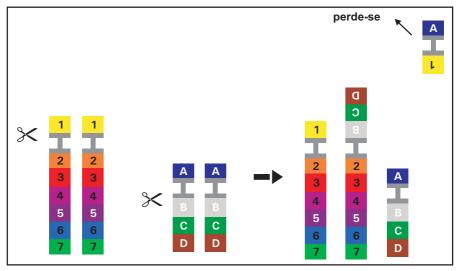


Figura 22. Esquema de uma translocação robertsoniana.

Esse cariótipo anômalo, contudo, não provoca, em regra geral, alterações fenotípicas detectáveis. Ao que tudo indica, essa ausência de alterações decorre do fato de os braços curtos de todos os acrocêntricos autossômicos terem estrutura idêntica, já que são constituídas por DNA repetido e não-codificante, de modo que a perda de duas dessas regiões cromossômicas não faria falta às células. O cromossomo translocado possui a maior parte dos dois cromossomos que lhe deram origem e, assim, esse animal pode ser chamado de balanceado.

As translocações por fusão cêntrica são as mais freqüentes entre os bovinos. Essas translocações envolvendo os pares autossômicos 1 e 29 foram descritas em bovinos pela primeira vez por <u>Gustavsson e Rockborn</u> (1964) citados por <u>Moraes (1984)</u> e são denominadas de translocação 1/29 (<u>Figuras</u> 23 e 24).

Os dados existentes sobre a formação de gametas de um animal com translocação 1/29, embora escassos, parecem indicar a existência de seleção contrária à formação dos gametas aneuplóides, ou seja, gametas com cromossomos a mais ou a menos. Essa possível seleção implicaria freqüência menor de zigotos aneuplóides. Como pode ser verificado por meio dos relatos sobre estudos em portadores de translocação 1/29, a redução de fertilidade tem sido discutida perante as possíveis perdas embrionárias causadas pela formação de zigotos aneuplóides. É importante salientar que a grande maioria dos animais balanceados que possui essa translocação não apresenta malformações somáticas e, nos casos em que essas ocorrem, não foi possível correlacioná-las especificamente com esse defeito cromossômico

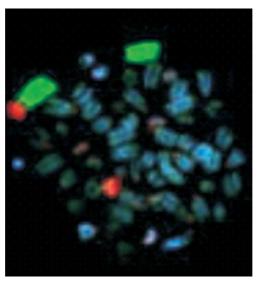


Figura 23. Translocação 1/29 por FISH.

Fonte: http://www.cambio.co.uk.

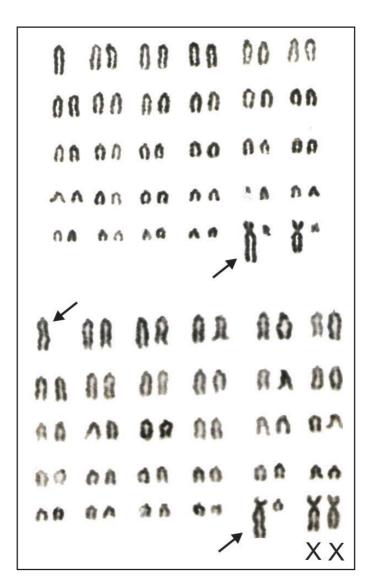


Figura 24. Cariótipo em coloração convencional com Giemsa de um macho (XY) (superior) e uma fêmea (XX) (inferior) portadores da translocação 1/29. A setas indicam a ausência de um cromossomo no par número 1 e o cromossomo translocado no par 29.

Fonte: Rocha (1987).

A translocação robertsoniana 1/29 é a mais freqüente entre os bovinos, todavia há ainda, em menor freqüência, fusão cêntrica na raça Holandesa envolvendo os cromossomos 2 e 4. Além desses dois tipos bem estudados, já foram relatadas as translocações: t(11/12 e 15/16) descobertas pelos autores: Bruere e Chapman (1973) citado por Moraes (1984); t(5 ou 6 / 15 ou 16), Eldridge (1974) citado por Moraes (1984); t(13/21), Harvey (1974) citado por Moraes (1984); t(1/27), Eldridge (1975) citado por Moraes (1984); t(27/29), Bongso e Basrur (1976) citado por Moraes (1984); t(1/25), Stranzinger e Foster (1976); t(3/4), Popescu (1977); t(14/20), Logue e Harvey (1978) citado por Schumutz et al. (1997); t(8/23), Biltueva et al. (1994); t(7/21), Geshi et al. (1996) e t(16/20 e 14/20). Rubes et al. (1999) examinaram machos da raça Montbéliarde que exibiam dados de fertilidade mais baixos que 30% em mais de 400 inseminações artificiais e verificaram a presença da translocação recíproca (12; 17) (q22; q14).

DNA mitocondrial na identificação de origem das raças e caracterização genética dos bovinos

Mitocôndria

As mitocôndrias são organelas existentes no citoplasma dos eucariotos e acredita-se que sejam vestígios de bactérias aeróbicas as quais se tornaram simbióticas e foram incorporadas a procariotos anaeróbicos há cerca de 1,5 bilhão de anos, evoluindo assim para as células eucariotas atuais (GRAY et al., 1999).

A quantidade de mitocôndrias existente nos diferentes tecidos é em resposta à demanda energética de cada um deles (CUMMINS, 1998). Essas organelas atuam na síntese de ATP e o seu DNA é uma molécula fita dupla circular que contém alguns genes envolvidos no processo de fosforilação oxidativa, necessários à sobrevivência e ao crescimento celular. O DNA mitocondrial contém os genes denominados extranucleares e tem sido muito utilizado em estudos de genética e filogenia.

DNA mitocondrial

Os eucariotos possuem células que contêm dois genomas distintos. O genoma que está localizado no núcleo (nDNA) e o que está localizado nas mitocôndrias (mtDNA). O nDNA é transmitido de acordo com a teoria mendeliana, enquanto o mtDNA é transmitido por herança materna. Mudanças na seqüência de nucleotídeos do mtDNA ocorrem muito mais rapidamente do que no nDNA.

O genoma mitocondrial é bastante distinto do genoma nuclear. O mtDNA não é transmitido de acordo com os princípios mendelianos (diploidia ou reprodução assexuada). Ele é passando de uma geração a outra através do citoplasma do oócito, sendo então, o mtDNA de um indivíduo inteiramente derivado de sua mãe.

Os machos herdam seu mtDNA de suas mães, mas não podem transmiti-lo para sua prole, pois os espermatozóides só possuem algumas moléculas de mtDNA que não entram no ovócito. Dessa forma, a herança mitocondrial em animais superiores é uniparental ou, mais precisamente, maternal. O ovócito humano contém mais de 100.000 cópias de mtDNA, o que representa cerca de um terço do conteúdo total de DNA dessas células (NUSSBAUM et al., 2002).

Embora a herança mitocondrial seja considerada estritamente materna em mamíferos, há relatos de vazamento de mtDNA paterno em cruzamentos interespecíficos de murinos. Várias hipóteses surgiram para explicar esse fato. Uma delas é que a simples diluição de cerca de 75 mitocôndrias espermáticas em 100.000 ou mais mitocôndrias oocitárias torna muito difícil a detecção da contribuição paterna pelas técnicas de PCR atuais (GYLLENSTEN et al., 1991). Segundo Cummins (2000), há outra hipótese: a de que o mtDNA paterno seria danificado por espécies reativas de oxigênio (ROS) e a contribuição desse mtDNA poderia ser prejudicial ao zigoto ou mesmo estaria inapto a competir com mitocôndrias oocitárias mais viáveis.

Dentro de uma única célula e, mesmo dentro de uma só mitocôndria,

podem existir moléculas de DNA que diferem uma da outra em seqüência de pares de bases. Chama-se de homoplasmia quando uma célula contém mtDNA todo normal ou todo mutante e de heteroplasmia quando há presença tanto de mtDNAs normais quanto mutantes na mesma célula. A expressão fenotípica de uma mutação no mtDNA depende das proporções de mtDNA normal ou mutante nas células. Dessa forma, a penetrância reduzida, a expressividade variável e a pleiotropia são características de distúrbios mitocondriais (NUSSBAUM et al., 2002).

Uma das características da herança mitocondrial é que a heteroplasmia pode reverter-se em homoplasmia dentro de poucas gerações. Há experimentos que demonstraram um fenômeno conhecido como "gargalo genético", segundo o qual uma molécula mutada de mtDNA pode ser selecionada e predominar em poucas ou em apenas uma geração (MEIRELLES et al., 2001).

As mitocôndrias não contêm DNA repetitivo ou íntrons. A ausência de seqüências íntron (exceto em fungos) leva a uma maior chance de ocorrerem mutações de substituição nas regiões codificantes e nas partes cruciais de um gene, aumentando, assim, a possibilidade de que uma única mudança de base leve a um fenótipo mutante (HOFFEE, 1998).

O mtDNA humano possui duas regiões com propriedades evolutivas diferentes. A maior região (mais de 90% do total) é codificante, ou seja, é usada como molde para a síntese de RNA. A taxa de mutação nessa região é aproximadamente cinco vezes maior do que do nDNA (PENA, 2000). Isso é causado por uma falha dos mecanismos de reparo do DNA no mtDNA e também, provavelmente, pelos danos causados pelos radicais livres de oxigênio liberados durante o processo de fosforilação oxidativa (JORDE et al., 1999).

A única região não-codificadora, denominada *d-loop* (*displacement loop*), contém elementos para o início da fita principal de replicação, as origens de transcrição para as duas fitas de DNA e regiões regulatórias para a replicação e transcrição (<u>LARSSON; CLAYTON, 1995</u>).

A alça D tem em torno de 1222 pares de bases e evolui cinco vezes mais rápido que o resto da molécula, portanto, 25 vezes mais rápido que o nDNA (PENA, 2000). Essa região contém duas outras regiões hipervariáveis, HV1 e HV2 que, segundo <u>Ivanov et al. (1996)</u>, são freqüentemente utilizadas para DNA *fingerprinting* em medicina forense devido ao alto grau de polimorfismo. De acordo com <u>Evans et al. (1999)</u>, as regiões hipervariáveis também são usadas para a análise de padrões de herança mitocondrial em modelos experimentais com animais.

O genoma das mitocôndrias varia grandemente em tamanho, de 16kb nos mamíferos a 570kb em plantas superiores. Em mamíferos, o genoma mitocondrial tem cerca de 16,5Kb (ALBERTS et al., 1997), correspondendo a pouco mais que 1% do DNA celular total. Segundo Jorde et al. (1999), as doenças mitocondriais humanas têm expressividade variável: quanto maior a proporção de moléculas mutantes de mtDNA, mais grave será a expressão da doença. Entretanto, de acordo com Cummins (2001), a análise molecular do mtDNA é complicada pela presença de genes nucleares existentes na mitocôndria denominados pseudóginos (Numts) que podem ser erroneamente amplificados pela técnica de PCR.

A técnica de caracterização de haplótipo DNA mitocondrial é feita em cinco etapas: extração de DNA de sangue periférico; eletroforese em gel de agarose; amplificação; digestão e nova eletroforese em gel de agarose para visualização da amplificação.

DNA mitocondrial dos bovinos

O DNA mitocondrial bovino contém 16.338 nucleotídeos que codificam 13 polipeptídeos essenciais à cadeia respiratória, além de 22 RNAs transportadores e dois RNAs ribossômicos (GIBSON et al., 1997). Devido ao fato de as mitocôndrias desempenharem papel fundamental no processo de fosforilação oxidativa, pode-se esperar que alterações no genoma mitocondrial tenham reflexos sobre o metabolismo celular e, conseqüentemente, no desempenho produtivo.

Segundo <u>Anderson et al. (1982)</u>, a seqüência de nucleotídeos do mtDNA bovino é homóloga à do genoma mitocondrial humano, e os genes são

organizados de maneira virtualmente idêntica. Os genes mitocondriais bovinos são 63% a 79% homólogos aos genes mitocondriais humanos, e a maioria das diferenças nos nucleotídeos ocorrem na terceira posição dos códons.

Bell et al. (1985) estudaram, em bovinos de leite, a possibilidade de a herança citoplasmática contribuir para diferenças no desempenho e verificaram que houve uma variação significativa. Os efeitos citoplasmáticos maternalmente transmitidos influenciaram em 2% na produção de leite e em 3,5% para porcentagem de gordura.

De acordo com Schutz et al. (1993), a substituição do par de base (adenina por guanina) na posição 169 do nucleotídeo do mtDNA de gado definiu dois grupos de linhagem maternal que diferem significativamente pela porcentagem de gordura produzida e energia concentrada no leite. A maioria dessas mutações ocorre na região hipervariável da *d-loop*. Boettcher et al. (1996) mostraram significante relação entre linhagem materna e porcentagem de gordura e linhagem materna e concentração da energia do leite.

Em contrapartida, Pelicioni e Queiróz (2001), estudando a influência da linhagem citoplasmática sobre as características peso ao nascer e ganho médio diário de peso na pré-desmama em bovinos da raça Caracu, observaram que, para as duas características, o efeito linhagem citoplasmática mostrou-se muito baixo. Dessa forma, faz-se necessário mais estudo visando à identificação da existência do efeito de linhagem citoplasmática sobre características produtivas nos rebanhos leiteiros e de corte. Esses estudos são de grande importância para programas de melhoramento em bovinos, pois linhagens citoplasmáticas superiores aumentariam a cotação comercial das vacas tanto para transferências de embriões quanto para raças maternas usadas em cruzamentos terminais ou fundadoras na formação de novas raças.

O mtDNA, além de influenciar nas características produtivas dos bovinos, tem sido utilizado, também, para detectar a origem materna desses animais. Watanabe et al. (1989) observaram, por meio da análise dos

padrões de quebra do mtDNA por endonuclease de restrição, em nove indivíduos da população nativa de gado filipino, a existência de dois tipos de mtDNA, muito diferentes um do outro. Considerando que o gado nativo filipino é reconhecido como sendo uma mistura do gado europeu com indiano, os dois tipos de mtDNA devem ser derivados dessas duas variedades.

Analisando o mtDNA de duas raças de gado, Hariana (*Bos indicus* do norte da Índia) e Holstein Friesan, (*Bos taurus*, importado da Austrália) e o búfalo indiano (*Bubalus bubalis*), usando treze endonucleases de restrição, <u>Bhat et al. (1990)</u> mostraram que os animais Holstein diferiram em seis sítios de restrição, enquanto a raça Hariana não mostrou nenhum local de polimorfismo. Surpreendentemente, o tipo Hariana difere em apenas um sítio de restrição em relação a um dos tipos de Holstein. Quase nenhum dos fragmentos de restrição do mtDNA do búfalo relacionou-se com o mtDNA do gado.

Loftus et al. (1994b) estudaram as seqüências de mtDNA e verificaram que as linhagens geográficas (*Bos taurus* e *Bos indicus*) não correspondem à dicotomia taurina-zebuína, porque todas as raças européias e africanas estão em uma linhagem e as indianas, em outra. Foram encontrados genes do Zebu asiático nos africanos que, provavelmente, foram introduzidos durante as invasões árabes na África, originando a típica raça Zebu do leste africano (BOYNS, 1947 citado por LOFTUS et al., 1994a; MAULE, 1990). Segundo Machugh (1996), não foi encontrado haplótipo mitocondrial de Zebu nas populações do gado africano. A aparente falta de mtDNA de *Bos indicus* asiático nesse gado pode ser entendida como forte evidência para sua origem cruzada, sugerindo que a transmissão do gene de muitos Zebus deve ter ocorrido através do macho, e a presença do cromossomo Y de *Bos indicus* asiático na população do gado africano apóia essa evidência (BRADLEY et al., 1994).

<u>Meirelles et al. (1999)</u> evidenciaram a participação de fêmeas de origem taurina na formação das raças puras de Zebu das Américas. Esses autores utilizaram o polimorfismo de mtDNA (vide o mapa de restrição na Figura

25). De acordo com os autores, em relação aos zebuínos do Brasil (Nelore e Gir) analisados, em média, 58% possuíam mtDNA de origem taurina, indicando forte influência das raças taurinas na formação do Zebu da América do Sul. Os animais da raça Brahman (Zebu dos EUA) apresentavam exclusivamente mtDNA de *Bos taurus taurus* indicando que a participação de *Bos indicus* na formação dos animais era inteiramente de origem paterna. Esse estudo sobre herança mitocondrial revelou informações sobre a formação de raças bovinas e erros em registros genealógicos. O gado Zebu foi o primeiro trazido da Índia para o continente americano. A maioria dos Zebus trazidos da Índia era macho que foram cruzados com fêmeas *Bos taurus taurus* provenientes da Península Ibérica, originando o Zebu Americano.

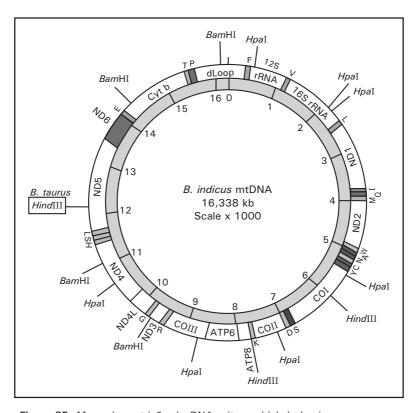


Figura 25. Mapa de restrição do DNA mitocondrial de bovinos.

Fonte: Meirelles et al. (1999).

O estudo do mtDNA de clones possibilitou a informação sobre a origem mitocondrial de animais derivados de oócitos reconstituídos por transferência nuclear (MEIRELLES et al., 2001). A análise do mtDNA da primeira ovelha clonada de uma célula somática, a Dolly, mostrou que seu haplótipo diferiu do mtDNA da linha celular progenitora, indicando que as mitocôndrias foram provenientes da ovelha doadora do oócito receptor.

Em um estudo das mitocôndrias em bovinos verificou-se, em uma bezerra clonada a partir de células de um animal adulto (em que a célula doadora do núcleo foi uma célula somática com mtDNA de uma vaca *Bos indicus*) e o óvulo de *Bos taurus*, que o clone possuía apenas 3% de mtDNA de *Bos indicus*, mostrando que prevalecem as mitocôndrias do óvulo, apesar de ela ser um clone de Zebu. Ainda não se sabe como serão os gametas da bezerra clonada, se eles terão mitocôndrias das células doadoras do núcleo ou do óvulo.

Outro aspecto importante no estudo do mtDNA envolve a preservação de espécies em risco de extinção pela utilização de citoplasma receptor de espécies próximas. Existem fatores epigenéticos próprios da raça ou espécie dos oócitos receptores que podem levar a incompatibilidades núcleo-citoplasmáticas tanto imediatamente quanto em estágios avançados. Por sua vez, foi demonstrado que a transferência nuclear envolvendo subespécies é uma alternativa viável para a criação de novas raças de gado e na preservação de espécies em vias de extinção, já que permite o acoplamento dos genomas mitocondrial e nuclear. Ademais, é possível que polimorfismos do mtDNA tenham papel significativo no que diz respeito à seleção natural para adaptação de diferentes raças bovinas em condições ambientais distintas (MEIRELLES et al., 2001).

Os mesmos autores mostraram a grande variação entre os modelos inter e intra-específicos em bovinos. No modelo interespecífico, foram utilizados blastômeros doadores de embriões de vacas puras Nelore (mtDNA *Bos taurus indicus*) e os oócitos derivados de vacas Holandesas (mtDNA *Bos taurus taurus*). Logo após a fusão, a taxa de mtDNA *Bos indicus:Bos taurus* foi de aproximadamente 4%, decrescendo para 1% no estádio de mórula.

Ao nascimento, não havia nenhum traço de mtDNA de *Bos taurus indicus*. Esse mtDNA foi gradualmente removido do embrião reconstituído e deve ter desaparecido completamente no final da gestação.

Ferreira (2002), visando obter embriões heteroplásmicos, usou a técnica de transferência nuclear utilizando blastômeros de embriões em estádio de 16 células e fibroblastos *Bos taurus indicus* como células doadoras de núcleo e citoplasma receptor contendo mtDNA *Bos taurus taurus*. Avaliou-se o comportamento dos mtDNAs heterólogos nos embriões reconstituídos durante os estágios embrionários de pré-implantação e foram relatados tanto padrões rápidos de segregação do mtDNA como heteroplasmias persistentes.

Domesticação e origem das subespécies

Domesticação

A domesticação dos animais pelo homem ocorreu há vários anos em função, primeiramente, de ser uma maneira de o homem assegurar comida. Os homens capturavam os animais e guardavam-os em currais, matando-os de acordo com a necessidade de alimento e de utilização da pele (ZEUNER, 1963). Somente com o passar do tempo que o homem compreendeu a importância dos animais e passou a guardá-los em cativeiros e criando-os em condições controladas. Segundo Ferreira (1986), domesticar significa tornar doméstico, amansar, domar, civilizar e colonizar. Naik (1978) traduz a domesticação como sendo a interferência deliberada na vida dos animais pelo homem.

A domesticação aconteceu independentemente em vários lugares e em épocas diferentes. O cachorro foi o primeiro animal a ser domesticado. Esse animal invadia o *habitat* dos humanos para comer sobras de comidas. Depois do cachorro, foram domesticados o carneiro e a cabra, não estando claro, ainda, qual foi domesticado primeiro. Somente durante o início da agricultura que o gado, o búfalo e o porco também foram domesticados. Não há relatos de domesticação do gado antes de 5000 a.C. (NAIK, 1978). Nos tempos da Pré-História, e até hoje, os bovinos são considerados a

maior fonte de carne e de leite e, na Índia, lembrados como riqueza e graça divina.

Segundo Athanassof (1946), como a maioria dos animais domésticos provém da época pré-histórica, torna-se impossível datar com exatidão a data da domesticação. O autor fala que parece ter sido primeiro na Ásia, durante o período neolítico (Idade da Pedra Polida), possivelmente, na Índia, que se realizou a domesticação do Zebu. Dessa época, existem vários documentos que mostram os bois e as vacas prestando servico, pinturas em túmulos de egípcios e vasos furados que arqueólogos julgam ser destinados para o leite a fim de separar o coáqulo do soro para fabricar queijo. Os indo-arianos, ao emigrarem do Oriente para o Ocidente, além de outras coisas, ensinaram ao europeu a arte de domesticar animais. Não se sabe com precisão onde e quando a domesticação dos bovinos na Europa teve início. Ainda que iniciada na Ásia, essa prática só foi terminada na Europa, onde novas formas autóctones de bovinos selvagens foram domesticadas. Os bovinos espalharam-se por toda parte, exceto em regiões onde o clima não permitia sua exploração, já que provinham de regiões de clima temperado.

Segundo Naik (1978), as diferenças morfológicas, arqueológicas e genéticas encontradas entre as raças de gado Zebu do norte e do sul e a suas existências contemporâneas indicam a possibilidade de dois diferentes centros de domesticação do Zebu indiano. Entretanto, ainda há necessidade de mais estudos que comprovem esse fato.

De acordo com Mazza et al. (1994), a domesticação dos bovinos selvagens ocorreu em várias partes da Europa entre 4000 e 2600 a.C. aproximadamente. Quando cessou o retrocruzamento com os Auroques, e os rebanhos domésticos se fixaram, provavelmente, a diferenciação entre as populações tornou-se mais rápida, originando tipos locais distintos. No início da era Cristã, as migrações humanas assumiram valioso papel na distribuição dos animais domésticos. Os celtas, romanos e árabes foram de grande importância para o deslocamento dos bovinos na direção do oeste da Europa e, dessa forma, na formação das racas da Península Ibérica.

De acordo com alguns autores, existe apenas um evento de domesticação para as raças de bovinos, sendo os zebuínos, *Bos taurus indicus*, derivados dos europeus, *Bos taurus taurus*, domesticados. Esse evento único data de 8000 a 10.000 anos atrás. Em contrapartida, <u>Loftus et al. (1994a)</u> mostraram por meio de estudos do mtDNA dois eventos distintos de domesticação das subespécies *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* com início entre 200.000 e 1 milhão de anos atrás.

Loftus et al. (1994a) analisaram següências de mtDNA e perceberam que essas caíram entre duas linhagens geográficas que não correspondem à dicotomia taurina-zebuína: todas as racas européias (taurinas) e africanas (três zebuínas e uma taurina) estão em uma linhagem e todas as raças indianas (zebu), em outra. Há pequena indicação de um agrupamento de raças dentro de cada linhagem. Aplicações da Biologia Molecular sugerem que os dois maiores grupos de mtDNA divergiram, pelo menos, há 200.000 e possivelmente há um milhão de anos. Essa divergência relativamente grande é interpretada simplesmente como evidência de dois eventos de domesticação separados, presumivelmente de subespécies diferentes do Bos primigenius. O agrupamento de todas as sequências de mtDNA do Zebu africano dentro da linhagem taurina é atribuído ao ancestral cruzamento da raça com o antigo Bos taurus habitante do continente. Já que foi achado gene (cromossomo Y) do Zebu asiático nos africanos, isso indica que os indicus asiáticos foram introduzidos durante as invasões Árabes na África originando a típica raca Zebu do leste africano (BOYNS, 1947 citado por LOFTUS et al., 1994a; MAULE, 1990). A aparente falta de mtDNA indicus asiático nesse gado pode ser entendido como forte evidência para sua origem cruzada, sugerindo que a transmissão do gene de zebus deve ter sido pelo macho.

Dessa forma, segundo os autores, fica evidenciada a domesticação independente do *Bos indicus* e, juntamente com estudos arqueológicos, esses dados apontam em direção à origem e ao desenvolvimento da domesticação do gado em duas localizações separadas. Esse dado também demonstra a presença exclusiva de mitocôndria taurina na origem do zebu da África *Bos indicus*, ilustrando uma notável discordância entre as

relações filogenéticas baseadas na morfologia e no mtDNA e reforçando a necessidade de cautela quando os estudos baseiam-se em um único marcador genético. Machugh (1996) também fornece evidências de que os dois tipos de gado foram domesticados independentemente por duas culturas separadas no Neolítico.

Miyamoto e Boyle (1989) afirmam que o mtDNA de mamíferos é altamente conservado no que se refere ao seu conteúdo gênico, à estrutura e à função. Apesar de a taxa de mutação no mtDNA ser alta, esse ritmo rápido de substituição de bases conduz a um acúmulo de mutações principalmente entre *taxa* mais distantes. Em conseqüência desse efeito, grupos relativamente pouco distanciados apresentam percentual semelhante de divergência de seqüência. Dessa forma, o mtDNA é considerado instrumento útil para a investigação de fenômenos evolutivos ocorridos nos últimos 20 milhões de anos.

Origem

Segundo Athanassof (1946), o grande número de teorias e divergências de vários autores sobre a origem dos bovinos deve ser atribuído à deficiência de dados históricos e de material paleontológico. Ademais, um mesmo bovino pode sofrer variações em decorrência da região onde se encontra e ainda está sujeito a cruzamentos aleatórios.

Naik (1978) revelou que, em diferentes partes da Índia, existiam ossadas de gado com cupim (*Bos taurus indicus*) e somente no Norte foi encontrado material arqueológico do gado sem cupim (*Bos taurus taurus*). Esse fato mostra que esses animais sem cupim devem ter sido levados por pessoas que foram do Ocidente para a Índia. Esse gado não conseguiu sobreviver ao clima tropical indiano. O autor mostrou, ainda, que o centro de origem do gado Zebu com cupim é a Índia e que estes se estenderam para o Sudeste da Ásia e para a África. Entretanto, não se sabe o momento e o lugar exatos da origem desse gado na Índia.

Todo o gado doméstico (exceto Bali e Mithan) pode ser derivado do extinto boi selvagem Aurochs ou *Bos primigenius* (EPSTEIN, 1971; GRIGSON,

1980 citado por LOFTUS et al., 1994a; MACHUGH, 1996). De acordo com Loftus et al. (1994a), três raças continentais foram identificadas: *Bos primigenius namadicus* (Ásia), *Bos primigenius opisthonomus* (Norte da África) e *Bos primigenius primigenius* (Europa). O último provavelmente tenha sido extinto por volta de 1627 na Polônia.

Naik (1978) mostra que o gado *Primigenius* foi provavelmente levado para a Índia por um grupo de pessoas do Oeste da Ásia. A evidência da presença desse gado foi observada apenas no período inicial de uma das civilizações da Índia. Eles devem ter morrido devido a sua inabilidade para se adaptar ao clima tropical e também por causa de sua alta susceptibilidade a doenças tropicais. Dessa forma, não puderam alcançar o Sul, onde não há evidência de sua presença. O autor não tem dúvida de que a origem do Zebu foi tão primitiva quanto a do *Primigenius*.

Há várias teorias propostas para explicar a origem do gado Zebu. Entretanto, para Naik (1978), a sugerida por Zeuner (1963) é a mais aceitável. De acordo com ele, o Zebu descendeu do *Bos namadicus* que foi um gado selvagem encontrado por toda parte da Índia no Pleistoceno. A hipótese de que o Zebu tenha sido originado na África não pode ser mantida devido à falta de evidências pré-históricas e paleontológicas para provar a existência de uma raça selvagem de *Bos* na África tropical no Pleistoceno. A presença de Zebu em vários lugares da Índia na Pré-História confirma sua origem indiana. Hoje, o Zebu é encontrado somente em países tropicais como o subcontinente indiano, a África, o Sudeste da Ásia e a América do Sul. Eles não prosperaram em países não-tropicais, assim como os *Bos taurus taurus*, em tropicais.

Naik (1978), com base em pesquisas arqueológicas, na presença de antígenos e no polimorfismo do cromossomo Y, afirma que as duas subespécies (*taurus* e *indicus*) têm origens independentes. É válido ressaltar que o autor não os considera como subespécies e sim como espécies. Já o gado Zebu da África e o do Sudeste da Ásia mostraram uma relação genética próxima com o Zebu da Índia e, portanto, o autor acredita que eles possam ter a mesma origem.

Pinheiro et al. (1979) mostram que a maioria das diferenças existentes entre Bos taurus indicus e Bos taurus taurus é gênica. Os padrões de bandas cromossômicas evidenciaram uma identidade entre todos os cromossomos das duas subespécies. Ademais, o autor alerta para o fato de que os cruzamentos entre as duas subespécies produzem sempre descendentes férteis, o que não ocorre nos cruzamentos entre Bos taurus e Bos bison (2n = 60). Vários autores, entretanto, sugerem que a especialização da família Bovidae deu-se a partir de um ancestral com 2n = 60 cromossomos, tendo atuado como principais mecanismos as fusões cêntricas e inversões. Por meio desses mecanismos, não há perda nem ganho de material genético, surgindo as diferenças que caracterizam as espécies por rearranjos gênicos e pelo isolamento reprodutivo imposto pelo novo cariótipo. Dessa forma, o autor acredita que no único cromossomo diferente entre os cariótipos das duas subespécies (cromossomo Y) há o mesmo material genético. Esse fato juntamente com os referentes aos padrões de bandas cromossômicas e a total compatibilidade reprodutiva evidenciam uma origem comum para as duas subespécies, contrariando os resultados obtidos por Naik (1978).

Vários autores concluíram que as raças zebuínas desenvolveram-se das taurinas, posteriormente, ao único evento de domesticação. Entretanto, Loftus et al. (1994a) e Machugh (1996), mediante estudos do mtDNA, apontam para eventos independentes para as duas subespécies de bovinos. Segundo Machugh (1996), por meio de análises filogenéticas, ficou comprovado que os *Bos taurus* e *Bos indicus* divergiram pelo menos há 600.000 anos. Esse fato está em consonância com as análises prévias da variação das seqüências do mtDNA. Assim, de acordo com os autores, a separação das duas subespécies aconteceu primeiramente entre 200.000 e 1.000.000 anos atrás e a domesticação ocorreu como conseqüência há 7.000 anos.

Conclusão

Os estudos do cromossomo Y e do DNA mitocondrial são de grande importância para caracterização das raças bovinas e, além disso, para estudos de

filogenia. A grande maioria das raças ainda não foi identificada geneticamente. Este trabalho mostra, igualmente, que nem sempre é perfeita a associação: presença de cupim [®] Y acrocêntrico [®] mtDNA zebuíno ou ausência de cupim [®] Y sub ou metacêntrico [®] mtDNA taurino.

Referências

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAAF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Biologia molecular da célula**. 3 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. cap. 14, p. 653-720.

ANDERSON, S.; BRUIJN, M. H.; COULSON, A. R.; EPERON, I. C.; SANGER, F.; YOUNG, I. G. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 156, n. 4, p. 683-717, 1982.

ATHANASSOF, N. **Manual do criador de bovinos**. São Paulo: Melhoramentos, 1946. p. 22-41, 215-225.

BARDELEBEN, K. Uber spermatogenese bei sangetierem, besonders beim Menschen. Verh. Anat. Ges. Wien, v. 6, 1892.

BASRUR, P. K.; GILMAN, J. P. W. Blood culture method for the study of bovine chromosomes. **Nature**, London, v. 204, p. 1335-1337, 1964.

BASRUR, P. K.; STOLTZ, D. R. Chromosome studies in bovine quintupletz. Chromosoma, Berlin, v. 19, p. 176-187, 1966.

BEIGUELMAN, B. Citogenética humana. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 132-178.

BELL, B. R.; MCDANIEL, B. T.; ROBISON, O. W. Effects of cytoplasmic inheritance on production traits of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 68, p. 2038-2051, 1985.

BENJAMIN, B. R.; BHAT, P. N. Chromosomal studies on cattle with special reference to crossbreeding. Indian Journal of Animal Sciences, New Delhi, v. 47, p. 4-7, 1977.

BHAMBHANI, R.; KUSPIRA, J. The somatic karyotypes of american bison and domestic cattle. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 9, n. 2, 1969.

BHAT, P. P.; MISHRA, B. P.; BHAT, P. N. Polymorphism of mitochondrial DNA (mtDNA) in cattle and buffaloes. **Biochemical Genetics**, New York, v. 28, n. 7-8, p. 311-318, 1990.

BILTUEVA, L.; SHARSHOVA S.; SHARSHOV A.; LADYGINA T.; BORODIN P.; RAPHODATSKY A. A new Robertsonian translocation, 8/23, in catlle. **Genetics, Selection, Evolution,** Paris, v. 26, p. 159-165, 1994.

BOETTCHER, P. J.; KUHN, M. T.; FREEMAN, A. E. Impacts of cytoplasmic inheritance on genetic evaluations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 79, p. 633-675, 1996.

BONGSO, A. T.; BASRUR, P. K. Chromosome anomalies in Canadian Guersey bulls. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 66, p. 476-489, 1976.

BONNEMAIRE, J. Y. In: MASON, I. L. **Evolution of domesticated animals**. London: Longman, 1984. cap. 5, p. 39-45.

BOYNS, B. M. Sudanese cattle as milk producers. **Empire Journal of Experimental Agriculture**, Washington, DC, v. 15, p. 27-41, 1947.

BRADLEY, D. G.; MACHUGH, D. E.; LOFTUS, R. T.; SOW, R. S.; HOSTE, C. H.; CUNNINGHAM, E. P. Zebu-taurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in West African trypanotolerant cattle populations. **Animal Genetics**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 7-12, 1994.

BRITTO, C. M. C.; MELLO, M. L. C. Morphological dimorphism in the Y chromosome of "pé-duro" cattle in the brazilian state of Piauí. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 369-373, 1999.

BRUERE, A. N.; CHAPMAN, H. M. Autosomal translocation in two exotic breed of cattle in New Zealand. **Veterinary Record**, Barcelona, v. 92, p. 615-618, 1973.

CARVALHO, T. B.; PEREIRA, J. C. C.; PINHEIRO, L. E. L. Avaliação de algumas características ponderais em rebanho Caracu com cromossomo Y heteromórfico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 3, p. 271-278, 1994.

CLAWSON, M. L.; HEATON, M. P.; FOX, J. M.; CHITKO-MCKOWN, C. G.; SMITH, T. P. L.; LAEGREID, W. W. Male-specific SRY and ZFY haplotypes in US beef cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 246-249, 2004.

CRIBIU, E. P. Variation interraciale de la taille du chromossome Y chez *Bos taurus* L. Annales de Genetique et de Selection Animale, Paris, v. 7, n. 2, p. 139-144, 1975.

CRIBIU, E. P.; DI BERARDINO, D.; DI MEO, G. P.; EGGEN, A.; GALLAGHER, D. S.; GUSTAVSSON, I.; HAYES, H.; IANNUZZI, L.; POPESCU, C. P.; RUBES, J.; SCHMUTZ, S.; STRANZINGER, G.; VAIMAN, A.; WOMACK, J. ISCNDB 2000 International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Bovids. Cytogenetics and Cell Genetics, Basel, v. 92, p. 283-299, 2001.

CUI, X.; KATO, Y.; SATO, S.; SUTOU, S. Mapping of Bovine SRY gene on the distal tip of the long arm and Murine SRY on the short arm of the Y chromosome by the method of fluorescence in situ hybridization (FISH). **Animal Science Technology**, Tokyo,v. 66, n. 5, p. 441-444, 1995.

CUI, X.; TSUCHIYA, K.; SUTOU, S. Cloning and mapping of bovine ZFX gene to the long arm of the X-chromosome (Xq34) and homologous mapping of ZFY gene to the distal region of the short arm of the bovine (Yp13), ovine (Yq12), and caprine (Yp12) Y. **Mammalian Genome**, New York, v. 9, p. 125-130, 1998.

CUMMINS, J. Fertilization and elimination of the paternal mitochondrial genome. **Human Reproduction,** Oxford, v. 15, p. 92-101, 2000.

CUMMINS, J. Mitochondrial DNA and the Y chromosome: parallels and paradoxes. Reproduction, Fertility and Development, Victoria, v. 13, n. 7-8, p. 533-542, 2001.

CUMMINS, J. Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. **Reviews of Reproduction**, Colchester, v. 3, p. 172-182, 1998.

CUNGEN, Z.; LONGWORTH, J. W. Bovine breeds and breed improvement in China. Agricultural and Natural Resources Economics Discussion Paper Series, p. 1-16, 1998.

DI BERARDINO, D.; HAYES, H.; FRIES, R.; LONG, S. ISCNDA 1989 International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 53, p. 65-79, 1990.

DI MEO, G. P.; PERUCATTI, A.; FLORIOT, S.; INCARNATO, D.; RULLO, R.; CAPUTI-JAMBRENGHI, A.; FERRETTI, L.; VONGHIA, G.; CRIBIU, E.; EGGEN, A.; IANNUZZI, L. Chromosome evolution and improved cytogenetic maps of the Y chromosome in cattle, zebu, river buffalo, sheep and goat. **Chromosome Research**, London, v. 13, p. 349-355, 2005.

DUNN, H. O.; KENNEY, R. M.; LEIN, D. H. XX/XY chimerism in a bovine true hermaphrodite: an insight into the understanding of fremartinism. **Cytogenetics**, Basel, v. 7, p. 390-402, 1968.

ELDRIDGE, F. E. A dicentric Robertsonian translocation in a Dexter cow. **Journal of Heredity**, Cary, v. 65, p. 353-355, 1974.

ELDRIDGE, F. E. High frequency of a robertsonian translocation ina herd of Brittish White cattle. **Veterinary Record**, Barcelona, v. 96, p. 71-73, 1975.

EPSTEIN, H. Origin of domesticated animals of Africa. New York: Africana Publishing, 1971.

EPSTEIN, H.; MASON. I. L. Cattle. In: MASON, I. L. Evolution of domesticated animals. London: Longman, 1984. cap. 2, p. 6-27.

- EVANS, H. J.; BECKLAND.; SUMMER, A. T. Chromosome homology and heterochromatin in goat, sheep and ox. Study by banding techniques. **Chromosoma**, New York, v. 42, p. 383-402, 1973.
- EVANS, M. J.; GURER, C.; LOIKE, J. D.; WILMUT, I.; SCHNIEKE, A. E.; SCHON, E. A. Mitochondrial DNA genotypes in nuclear transfer-derived sheep. **Nature Genetics**, Washington, DC, v. 23, p. 90-93, 1999.
- FERREIRA, A. B. H. **Novo dicionário Aurélio da Língua Portuguesa**. 2. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1986.
- FERREIRA, C. R. Produção de embriões bovinos com mtDNA heterólogo de *B. t. indicus* e de *B. t. taurus* e estudo da segregação mitocondrial durante a pré-implantação. 2002. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Reprodução Animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- FRANÇA, J. L.; VASCONCELLOS, A. C. Manual para normalização de publicações técnico-científicas. 7. ed. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2004. 245 p.
- FRISCH, J. E.; DRINKWATER, R. HARRISON, B.; JOHNSON, S. Classification of the southern African sanga and east African shorthorned zebu. **Animal Genetics**, Oxford, v. 28, p. 77-83, 1997.
- GESHI, M.; SAKAGUCHI, M.; YONAI, M.; NAGAI, T.; SUZUKI, O.; HANADA, H. Effects of the 7/21 Robertsonian translocation on fertilization rates and preimplantation development of bovine oocytes in vitro. **Theriogenology**, New York, v. 46, p. 893-897, 1996.
- GIBSON, J. P.; FREEMAN, A. E.; BOETTCHER, P. J. Cytoplasmic and mitochondrial inheritance of economic traits in cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdan, v. 47, n. 2, p. 115-124, 1997.
- GIMENEZ-MARTIN, G.; LOPEZ-SAEZ, J. F. Dotaciones cromosomicas em los mamíferos domésticos. **Genetica Iberica**, Madrid, v. 14, p. 7-17, 1962.
- GIOVAMBATTISTA, G.; RIPOLI, M. V.; DE LUCA, J. C.; MIROL, P. M.; LIRÓN, J. P.; DULOUT, F. N. Male-mediated introgression of *Bos indicus* genes into Argentine and Bolivian Creole cattle breeds. **Animal Genetics**, Oxford, v. 31, p. 302-305, 2000.
- GOLDAMMER, T.; BRUNNER, R. M.; SCHWERIN, M. Comparative analysis of Y chromosome structure in Bos taurus and Bos indicus by FISH using region-specific, microdissected, and locus-specific DNA probes. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 77, n. 238-241, 1997.
- GRAY, M. W.; BURGER, F.; LANG, B. F. Mitochondrial evolution. **Science**, Washington, DC, v. 352, p. 255-257, 1999.

GRIGSON, G. The craniology and relationship of four species of Bos 5. *Bos indicus* L. **Journal of Archaelogical Science**, London, v. 7, p. 3-32, 1980.

GUPTA, P.; SINGH, L.; RAY-CHAUDHURI, S. P. Chromosomes of Indian breeds of cattle. **Nucleus**, Sydney, v. 17, p. 129-132, 1974.

GUSTAVSSON, I. Cytogenetics distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. **Hereditas**, Lund, v. 63, p. 68-169, 1969.

GUSTAVSSON, I.; ROCKBORN, G. Chromosome abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. **Nature**, London, v. 203, p. 990, 1964.

GYLLENSTEN, U.; WHARTON, D.; JOSEFSSON, A.; WILSON, A. C. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. **Nature**, London, v. 352, p. 255-257, 1991.

HALNAN, C. R. E. **Cytogenetics of animals**. New South Wales: CAB International, 1989. p. 235-255.

HALNAN, C. R. E.; FRANCIS, N. S. W. I. *Bos taurus* Y chromosome of Afrricander cattle and development of improved breeds for the tropics. **Veterinary Record**, Barcelona, v. 98, p. 88-90, 1976.

HALNAN, C. R. E.; WATSON, J. I. Y chromosome variants in cattle Bos taurus and Bos indicus. **Annales de Genetique et de Selection Animale**, Paris, v. 14, n. 1, p. 1-16, 1982.

HANOTTE, O.; TAWAH, C. L.; BRADLEY, D. G.; OKAMO, M.; VERJEE, Y.; OCHIENG, J.; REGE, J. E. O. Geographic distribution and frequency of a taurine Bos taurus and an indicine Bos indicus Y specific allele amongst sub-saharan Agrican cattle breeds. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 387-396, 2000.

HARVEY, M. J. A. Chromosome analysis of cattle populations. **Veterinary Record**, Barcelona, v. 94, p. 227, 1974.

HERSCHLER, M. S.; FECHHEIMER, N. S.; GILMORE, L. O. Somatic chromosomes of cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 21, p. 972-973, 1962.

HOFFEE, P. A. **Genética médica molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 222-250.

HOOF, L. Van: La spermetogénèse dans le mamifères. III. Les Spermatocytes leptotènes et amphitenes dans le taureau. **Cellule**, Brussels, v. 30 p. 7-26, 1919.

HSU, T. C.; BENIRSCHKE, K. **An Atlas of mammalian chromosomes**. New York: Springer-Verlag, 1968. v. 2, 90 p.

IANNUZZI, L.; DI MEO, G. P.; PERUCATTI, A.; EGGEN, A.; INCARNATO, D.; SARUBBI, F.; CRIBIU, E. A pericentric inversion in the cattle Y chromosome. Cytogenetics and Cell Genetics, Basel, v. 94, n. 3, p. 202-205, 2001.

ISSA, E. C.; JORGE, W.; SILVA, R. G. O cromossomo Y do gado Santa Gertrudis (*Bos taurus taurus*). In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5., 2004, Pirassununga. **Anais eletrônicos...** Pirassununga, 2004. Disponível em: <www.sbmaonline.org.br/anais/v/index.htm>. Acesso em: 15 jan. 2005.

IUCN - International Union for conservation of Nature and Natural Resourses. Mammalia. Morges: Red data book, 1972-1978.

IVANOV, P. L.; WADHAMS, M. J.; ROBY, R. K.; HOLLAND, M. M.; WEEDN, V. W.; PARSONS, T. J. Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the grand duke of Russia Geogij Romanov establishes the authenticity of the remais of Tsar Nicholas II. **Nature Genetics**, Washington, DC, v. 12, p. 417-420, 1996.

JACOBY, C. P. Sistemática da família Bovidae segundo a metodologia de análise lingüística de seqüências de DNA mitocondrial. 1998. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

JASZCZAK, K.; PARADA, R.; SLONIEWSK, K. Two morphologic forms of chromosome Y in Piedmontese cattle. **Animal Science Papers and Reports**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 5-11, 1998.

JORDE, L. B.; CAREY, J. C.; BAMSHAD, M. J.; WHITE, R. L. Genética médica. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 80-96.

JORGE, W. Cariologia comparada de algumas raças de B. taurus taurus (L.), *B. taurus indicus* (L.) e de seus cruzamentos. 1970. 47 f. Dissertação (Mestrado Ciências) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1970.

JORGE, W. Chromossome study of some breeds of cattle. **Caryologia**, Florence, v. 27, n. 3, p. 325-329, 1974.

KAWAKURA, K.; MIYAKE, Y. I.; MURAKAMI, R. K.; KONDOH, S.; HIRATA, T. I.; KANEDA, Y. Deletion of the SRY region on the Y chromosome detected in bovine gonadal hypoplasia (XY female) by PCR. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 72, p. 183-184, 1996.

KAWAKURA, K.; MIYAKE, Y. I.; MURAKAMI, R. K.; KONDOH, S.; HIRATA, T. I.; KANEDA, Y. Abnormal structure of the Y chromosome detected in bovine gonadal hypoplasia (XY female) by FISH. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 76, p. 36-38, 1997.

KENT-FIRST, M.; MUALLEM, A.; SHULTZ J.; PRYOR, J.; ROBERTS, K.; NOLTEN, W.; MEISNER, L.; CHANDLEY, A.; GOUCHY, G.; JORGENSEN, L.; HAVIGHURST, T.; GROSCH, J. Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdelection delection. Molecular Reproduction and Development, New York, v. 53, p. 27-41, 1999.

KIEFFER, N. M.; CARTWRIGHT, T. C. Sex chromosome polymorphism in domestic cattle. **Journal of Heredity**, Washington, DC, v. 1, n. 59, 1968.

KONDOH, S.; MIYAKE, Y. I.; NAKAHORI, Y.; NAKAGOME, Y.; KANEDA, Y. Cytogenetical and molecularbiological studies on a bovine XY female. **The Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 54, n. 6, p. 1077-1080, 1992.

KRALLINGER, H. F. Cytologische na oinigen Haussaugetieren. Archiv fuer Tierernaehrung, Switzerland, v. 5, p. 127-187, 1931.

LARSSON, N-G.; CLAYTON, D. A. Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 29, p. 157-178, 1995.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, Lund, v. 52, p. 201-220, 1964.

LOFTUS, R. T.; MACHUGH, D. E.; BRADLEY, D. G.; SHARP, P. M; CUNNINGHAM, P. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 91, p. 2757-2761, 1994a.

LOFTUS, R. T.; MACHUGH, D. E.; NGERE, L. O.; BALAIN, D. S.; BADI, A. M., BRADLEY, D. G.; CUNNINGHAM, E. P. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. **Animal Genetics**, Oxford, v. 25, p. 265-271, 1994b.

LOGUE, D. F.; HARVEY, M. J. A. A 14/20 Robertsonian translocation in Swiss Simmental cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 25, p. 7-12, 1978.

MACHUGH, D. E. Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle. 1996. 258 f. Tese (PhD) - University of Dublin, Dublin, 1996.

MAKINO, S. Karyotipes of domestic cattle, zebu and domestic – water buffalo (chromosomes studies in domestic mammals IV). **Cytologia**, Tokyo, v. 13, p. 247-264, 1944.

MANWELL, C.; BAKER, C. M. A. Chemical classification of cattle: 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. Animal and blood groups. **Biochemical Genetics**, New York, v. 11, p. 151-162, 1980.

MARIANTE, A. S.; EGITO, A. A.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Situação atual da conservação de recursos genéticos animais no Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS

GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE - SIRGEALC, 2., 1999, Brasília, DF. Anais... Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 8 p.

MÄRKI, V.; ROBINSON, T. J. Y Chromosome dimorphisms in Afrikaner bulls. **Proc.** 6th Eur Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Zürich, p. 87-95, 1984.

MARQUES, D. C.; MARQUES JR, A. P.; FERREIRA, P. M.; FONSECA, V. O. Criação de bovinos. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1984. p. 69-122.

MASUI, K. Tho spermatogenesis of the domestic animals. II. The spermatogenesis of cattle (*Bos taurus*). J. Coll. Agr. Imp. Univ., Tokyo, v. 3, p. 357-403, 1919.

MAULE, J. P. **The cattle of the tropics**. Edinburgh: Medicine, University of Edinburgh, 1990. 225 p.

MAZZA, M. C. M.; MAZZA, C. A.; SERENO, J. R. B.; SANTOS, S. A. L.; MARIANTE, A. S. Conservation of Pantaneiro cattle in Brazil. Historical origin. **Archivos de Zootecnia**, Corboda, v. 41, p. 443-453, 1992.

MAZZA, M. C. M.; MAZZA, C. A. S.; SERENO, J. R. B.; SANTOS, S. A.; PELLEGRIN, A. O. **Etnobiologia e conservação do bovino pantaneiro**. Corumbá: EMBRAPA-SPI, 1994. 61 p.

MEGHEN, C.; MACHUGH, D. E.; BRADLEY, D. G. Genetic characterization & West African cattle. **World Animal Review**, Roma, v. 78, p. 59-66, 1994.

MEIRELLES, F. V.; ROSA, A. J. M.; LOBO, R. B.; GARCIA, J. M.; SMITH, L. C.; DUARTE, F. A. M. Is the American zebu really *Bos indicus*? **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 543-546, 1999.

MEIRELLES, F. V.; BORDIGNON, V.; WATANABE, Y.; WATANABE, M.; DAYAN, A.; LOBO, R. B.; GARCIA, J. M.; SMITH, L. C. Complete replacement of the mitochondrial genotype in a *Bos indicus* calf reconstructed by nuclear transfer to a *Bos taurus* oocyte. **Genetics**, Bethesda, v. 158, p. 351-356, 2001.

MELANDER, Y. The mitotic chromosome of some cavicorn mammals – (*Bos taurus* L., *Bison bonasus* L. and *Ovis aries* L.). **Hereditas**, Lund, v. 45, p. 649, 1959.

MELANDER, Y.; KNUDSEN, O. The spermiogenesis of the bull from a karyological point of view. **Hereditas**, Lund, v. 39, 1953.

MIYAMOTO, M. M.; BOYLE, S. M. The potential importance of mitochondrial DNA sequence data to eutherian mammal phylogeny In: THE HIERARCHY of life. Tokyo: Elsevier Science Publishers, p. 437-450, 1989.

MONNIER-CAMBON, J. Étude des chromosomes do *Bos indicus*. **Academie des Sciences**, Paris, v. 259, p. 3840-3843, 1964.

MORAES, J. C. F. Estudos cromossômicos em diferentes raças do rebanho bovino do Rio Grande do Sul. 1978. 105 f. Dissertação (Mestrado Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1978.

MORAES, J. C. F. **Efeitos de um rearranjo cromossômico sobre a fertilidade de bovinos**. 1984. 171 f. Tese (Doutorado Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1984.

MURAKAMI, R. K.; MIYAKE, Y. I.; KANEDA, Y. Cases of female, single-birth freemartin and trisomy (61,XX,+20) observed in Cytogenetical Studies on 18 sterile heifers. **Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v. 51, n. 5, p. 941-945, 1989.

NAIK, S. N. Origin and domestication of Zebu Cattle (Bos indicus). **Journal of Human Evolution**, London, v. 7, p. 23-30, 1978.

NOWAK, R. M. Walker's mammals of the world. 6. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1999. p. 1153-1161.

NUSSBAUM, R. L.; MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F. **Genética médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 178-223.

PAYNE, W. J. A. Domestication: a step forward in civilization. In: CATTLE genetic resources. Tokyo: Elsevier Science Puplishers, 1991. v. B7, p. 51-72.

PELICIONI, L. C.; QUEIRÓZ, S. A. Efeito da linhagem citoplasmática sobre o peso ao nascer e o ganho médio diário na pré-desmama em bovinos da raça Caracu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 101-108, 2001.

PENA, S. Retrato molecular do Brasil. In: SEMINÁRIO DE TROPICOLOGIA: O Brasil no limiar do século XXI, 2000, Recife. **Anais...** Recife: Fundação Joaquim Nabuco, 2000.

PENNA, V. M.; FERRARI, J.; DUARTE, M. E. O. Estudo citogenético em animais zebus da raça Tabapuã. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 3, p. 263-270, 1994.

PINHEIRO, L. E. L. **Avaliação da prevalência de anomalias cromossômicas em bovinos da raça Ibagé**. 1977. 43 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1977.

PINHEIRO, L. E. L. **Estudos Citogenéticos de algumas raças da subespécie** *Bos taurus taurus.* 1979. 94 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1979.

PINHEIRO, L. E. L. Considerações sobre a constituição cromossômica do gado zebu. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 112, p. 69-71, 1984.

PINHEIRO, L. E. L.; FERRARI, I.; FERRAZ, J. B. S.; ALMEIDA, J. R. Heteromorfismo cromossômico na raça caracu. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 8, n. 1, p. 17-20. 1984.

POPESCU, C. P. A new type of Robertsonian translocation in cattle. **Journal of Heredity**, Washington, DC, v. 98, p. 138-142, 1977.

POSTIGLIONI-GRIMALDI, J. Chromosomes in *Bos taurus* as revealed by prefixation treatment with hypotonic solutions. **Stain Technology**, Baltimore, v. 31, n. 4, p. 173-178, 1956.

POTTER, W. L.; UPTON, P. C.; COOPER, J.; BLACKSHAW, A. W. C and G banding patterns and chromosomal morphology of some breeds of Australian cattle. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 55, p. 560-567, 1979.

ROCHA, G. P. **Avaliação cromossômica de bovinos Chianina no Brasil**. 1987. 92 f. Tese (Doutorado Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1987.

ROCHA, G. P.; JORGE, W.; POLASTRE, R. Y chromosome of chianina cattle from Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 249-252, 2000.

ROGATTO, S. R.; RAINHO, C. A. Citogenética Molecular. In: ROGATTO, S. R. Citogenética de risco: biossegurança e garantia de qualidade. Ribeirão Preto: FUNPEC-RP, 2000. p. 133-152.

ROLLINSON, D. H. L. Bali Cattle. In: MASON, I. L. Evolution of domesticated animals. London: Longman, 1984. p. 28-34.

RUBES, J.; MACHATKOVA, M.; JOKESOVA, E.; ZUDOVA, D. A potential relationship between the 16;20 and 14;20 Robertsonian translocations and low in vitro embryo development. **Theriogenology**, New York, v. 52, p. 171-180, 1999.

SASAKI, M. S.; MAKINO, S. Revised study of the chromosomes of domestic cattle and the horse. **Journal of Heredity**, Cary, v. 53, n. 4, 1962.

SCHMUTZ, S. M.; MOKER, J. S.; PAWLYSHYN, I. V.; HAUGENL, B.; CLARK, E. G. Fertility effects of the 14;20 Robertsonian translocation in Swiss Simmental cattle. **Theriogenology**, New York, v. 47, p. 815-823, 1997.

SCHNEDL, W. Giensa banding quinacrine fluorescence and DNA-replication in chromosome of cattle (*Bos taurus* L.). **Chromosoma**, Berlin, v. 38, p. 319-328, 1972.

SCHNEDL, W.; CZAKER, R. Centromeric heterocromatin and comparasion of G- banding in cattle, goat and sheep chromosomes (Bovidae). **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 13, p. 246-255, 1974.

SCHOENFELD. H. La spermatogénèse chez la taureau et chez des mamifères em general. Archivos de Biologia, v. 18, p. 1-71, 1902.

SCHUTZ, M. M.; FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L.; BEITZ, D. C. Effects of maternal lineages gruped by mitochondrial genotypes on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 76, n. 2, p. 621-629, 1993.

SCHWERIN, M.; GALLAGHER, D. S.; MILLER, J. R.; THOMSEN, P. D. Mapping of repetitive bovine DNA sequences on cattle Y chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v. 61, p. 189-194, 1992.

SIMOONS, F. J. Gayal or mithan. In: MASON, I. L. Evolution of domesticated animals. London: Longman, 1984. cap. 4, p. 34-38.

SOLINAS-TOLDO, S.; LENGAUER, C.; FRIES, R. Comparative genome map of human and cattle. **Genomics**, San Diego, v. 27, p. 489-496, 1995.

STRACHAN, T.; READ, A. P. **Genética molecular humana**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. cap. 5, p. 95-118.

STRANZINGER, G. F.; FOSTER, M. Autosomal chromosome translocation of Piebald cattle and Brown cattle. **Experientia**, Basel, v. 32, p. 24-27, 1976.

TAMBASCO, A. J. Contribuição ao estudo citogenético em bovinos normais e em bovinos com problemas de reprodução. 1976. 97 f. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1976.

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., 1985, Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú: SBZ, 1985. p. 154.

TEALE, A. J.; WANBUGU, J.; GWAKISA, P. S.; STRANZINGER, G.; BRADLEY, D.; KEMP, S. J. A polymorphism in randomly amplified DNA that differentiates the Y chromosomes for *Bos indicus* and *Bos taurus*. **Animal Genetics**, Oxford, v. 26, p. 243-248, 1995.

TEPLITZ, R. L.; MOON, Y. S.; BASRUR, P. K. Further studies of chimerism in heterosexual cattle twins. **Chromosoma**, Berlin, v. 22, p. 202-209, 1967.

TIEPOLO, I.; ZUFFARDI, O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. **Human Genetics**, Berlin, v. 38, p. 119-124, 1976.

VOGT, P. H. Genetics of idiopathic male infertility: Y chromosome azoospermia factors (AZFa, AZFb, AZFc). **Baillieres Clinical Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 11, p. 773-795, 1997.

XIN, Y. R.; LIN, C. C. Chromosome study on some local breeds of chinese yellow cattle. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 26, n. 5, p. 61-67, 1993.

WALKER, E. P. **Mammals of the world.** 3. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1975. p. 1426-1431.

WATANABE, T.; MASANGKAY, J. S.; WAKANA, S.; SAITOU, N.; TOMITA, T. Mitochondrial DNA Polymorphism in Native Philippine Cattle Based on Restriction Endonuclease Cleavage Patterns. **Biochemical Genetics**, New York, v. 27, n. 7-8, p. 431-438, 1989.

WODSEDALEK, J. E. Studies on the cells of the cattle with special reference to spermatogenesis, oogonia, and sex determination. **Biological Bulletin Wood Hole**, Beijing, v. 38, p. 290-317, 1920.

ZEUNER, F. E. A History of domesticated animals. New York: Harper & Row, 1963.

Bovine Genetic Characterization Through the Y Chromosome and Mitochondrial DNA

Abstract - Domestic cattle breeds are classified in two subspecies: Bos taurus taurus, which have an european origin and Bos taurus indicus, the zebuines, originated in India. The main phenotypic difference between them is the presence of the hump, observed in the zebuines and absent in taurines. In addition, the sexual Y chromosome has been considered as a marker for these subspecies. Animals that have a submetacentric or metacêntrico Y chromosome are considered as Bos taurus taurus and those with acrocentric Y chromosome are typically zebuine animals (Bos taurus indicus). On the other hand it is known that the Y-chromosome possesses genes related to spermatogenesis and consequently to reproductive fitness. The objective of this review was the Y-chromosome morphological type especially concerning to those subspecies. This document emphasized the Y-chromosome morphology from breeds of cattle showing that the association of presence of hump ® acrocentric Y ® zebuine mitochondrial DNA, or absence of hump ® sub or metacentric Y ® taurine mitochondrial DNA, is not always perfect.

Index terms: Bos taurus taurus, Bos taurus indicus, Y chromosome, mitochondrial DNA.