

## Notas Científicas

### Citogenética de jumentos da raça Marchadora Brasileira

Marcy Lancia Pereira<sup>(1)</sup>, Jeffrey Frederico Lui<sup>(1)</sup> e José Victor de Oliveira<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual Paulista, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinárias, Dep. de Zootecnia, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14889-900 Jaboticabal, SP. E-mail: marcylicia@yahoo.com, jeffrey@fcav.unesp.br <sup>(2)</sup>Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, CEP 14770-000 Colina, SP. E-mail: victor@colina.com.br

**Resumo –** Jumentos da raça Marchadora Brasileira foram cariotipados e bandeados com C, G e NOR, sendo  $2n = 62$  e  $NF = 107$ . O trabalho visou a contribuir com a cariotipagem da espécie e verificar polimorfismos presentes nos animais. O cariótipo foi organizado em seis grupos, possuindo o primeiro sete pares submetacêntricos a metacêntricos, o segundo, seis subtelocêntricos, o terceiro, cinco acrocêntricos e o quarto, dois subgrupos de três cada um, subtelocêntricos e submetacêntricos. O quinto grupo continha os menores metacêntricos e os sexuais, X submetacêntrico e Y acrocêntrico, ao lado do terceiro grupo. No bandeamento C, o cromossomo 7 foi fortemente marcado, o G permitiu pareamento dos homólogos e o NOR marcou sete pares.

Termos para indexação: *Equus asinus*, cariótipo, bandeamentos, cromossomos.

### Cytogenetics of Marchadora Brasileira donkeys

**Abstract –** Cytogenetics of “Marchadora Brasileira” donkeys had their karyotype prepared and banded with C, G and NOR, being  $2n = 62$  e  $NF = 107$ . The objective of this work was to contribute for the karyotyping of the species and to verify possible polymorphisms in the animals. The karyotype was organized into six groups: the first group included seven pairs submetacentric to metacentric; the second, six subtelocentric; the third, five acrocentric; the fourth, two subgroups with three each one, subtelocentric and submetacentric; and the fifth group contained the smallest metacentric and the sexuals, X submetacentric and Y acrocentric, on the side of the third group. According to banding C, chromosome 7 was strongly marked, the G permitted homologous agroupment and NOR marked seven pairs.

Index terms: *Equus asinus*, kariotype, banding, chromosomes.

Segundo Alaoui et al. (2000), a diminuição do número de raças de animais no mundo está afetando de forma dramática todas ou quase todas as espécies domésticas. Assim sendo, conhecê-las citogeneticamente é fundamental.

O número diplóide ( $2n$ ) em asininos é 62. Segundo Benirschke et al. (1964), além da diferença numérica entre os cromossomos de cavalos e asnos, há também diferenças estruturais, facilmente expressas pelo número de metacêntricos e submetacêntricos em contraste com o número de acrocêntricos e subtelocêntricos.

Raudsepp et al. (2000) analisaram o cariótipo de jumentos (*Equus asinus*) por meio da técnica de bandeamento G. Os cromossomos autossômicos foram organizados em dois grupos, como apresentados anteriormente por Ryder et al. (1978), isto é, 19 pares de metacêntricos e submetacêntricos e 11 pares de acrocêntricos. Os cromossomos sexuais foram colocados ao lado do menor dos autossômicos

metacêntricos e submetacêntricos. Cribiu & De Giovanni (1978) realizaram um estudo com banda C em jumentos, que mostrou que a heterocromatina constitutiva, quando presente, é pericentromérica, telomérica ou mediana. O cromossomo X tem também um padrão de bandeamento C intersticial em área mediana no braço longo (q).

Alaoui et al. (2000) encontraram heterocromatina centromérica nos cromossomos meta e submetacêntricos 1, 2, 7 e 9 e em todos os acrocêntricos. A heterocromatina telomérica foi encontrada nos braços curtos (p) dos cromossomos 1, 4, 8, 10, 12, 13 e 18 e no braço q do cromossomo 19.

O cromossomo Y mostrou-se todo heterocromático e o X apresentou metade do braço q heterocromático. Por outro lado, Kopp et al. (1988) estudaram dez jumentos e verificaram a existência de NORs nas constrições secundárias dos braços curtos (p) dos cromossomos acrocêntricos identificados pelos números 20, 21, 24 e 29.

Esses resultados demonstram uma rápida evolução cariotípica do gênero *Equus*, já que, nos cavalos domésticos, as NORs encontram-se no telômero do braço p do cromossomo 1 e nas constrições secundárias dos cromossomos acrocêntricos 25 e 30 (Kopp et al., 1981; Lui, 1988; Lui et al., 1990).

Com o objetivo de conhecer a citogenética de animais em perigo de extinção, estudaram-se, no Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, Colina, SP, 45 jumentos de ambos os sexos, da raça Marchadora Brasileira. De cada animal foi colhido sangue para estudo citogenético, segundo técnica de Moorhead et al. (1960), com pequenas adequações, as quais incluem meios de cultura mais completos e temperatura apropriada para a espécie. A análise microscópica convencional, pela coloração com Giemsa, permitiu a observação do número, tipo e da morfologia dos cromossomos e a construção do cariótipo dos animais, segundo a posição do centrômero e o tamanho dos cromossomos dentro de cada grupo. O conhecimento e a identificação cromossômica foram feitos por meio de técnicas de coloração específica dos cromossomos – bandeamentos C (Sumner, 1972), G (Scheres, 1972) e NOR (Goodpasture & Bloom, 1975).

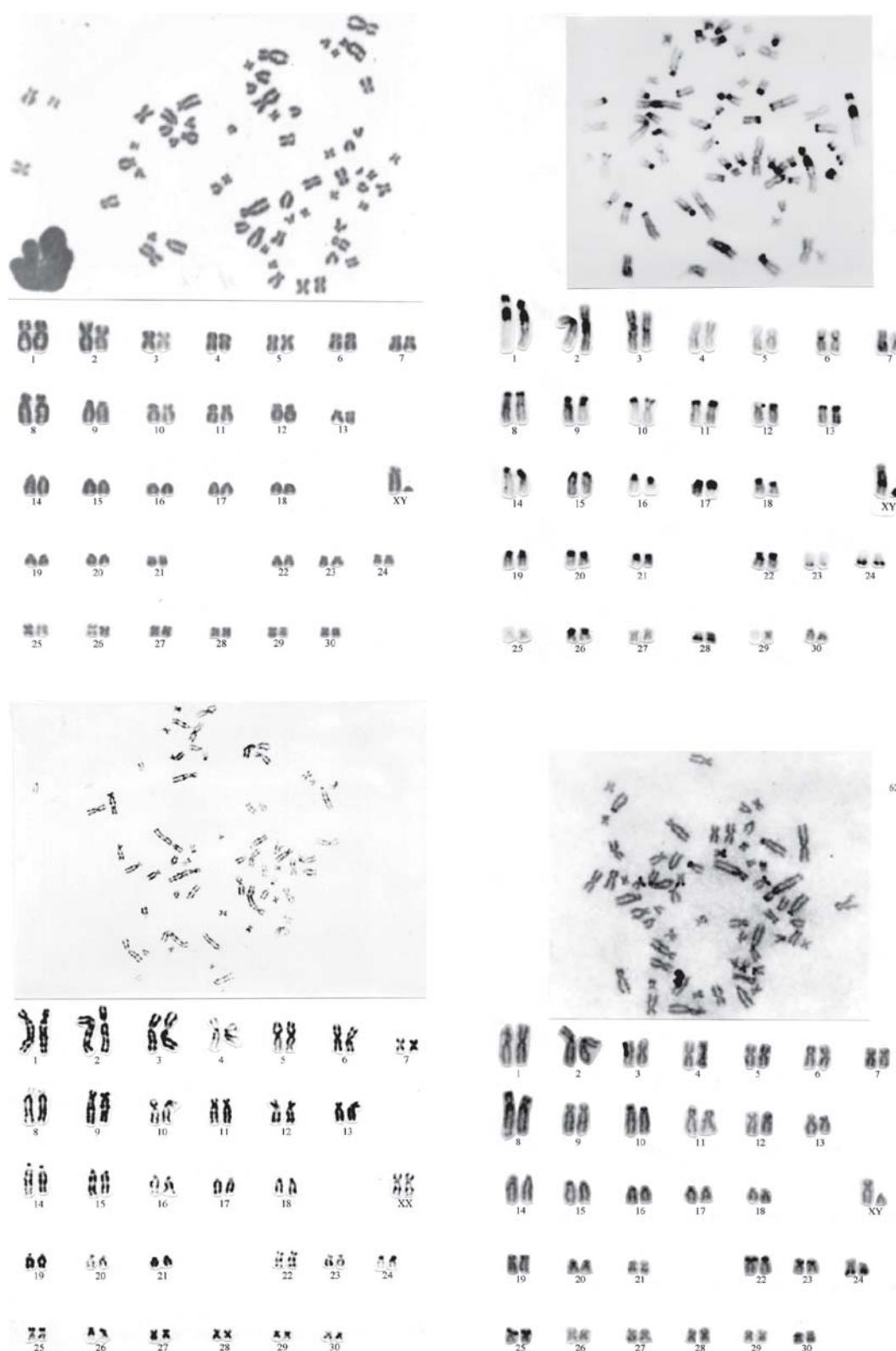
Na análise dos cariótipos, o número diplóide ( $2n$ ) foi 62 e o número fundamental de braços (NF) foi 107, sendo que os cromossomos foram divididos em grupos. O primeiro compreendia os maiores pares submetacênicos a metacênicos do número 1 ao 7; o segundo, os maiores subtelocênicos de 8 a 13; o terceiro, cinco acrocênicos; o quarto foi subdividido em dois grupos com três pares de cromossomos cada um, sendo os três primeiros os menores subtelocênicos e os outros três, os menores submetacênicos (de 19 a 21 e 22 a 24, respectivamente); e o quinto grupo continha os menores pares metacênicos de 25 a 30. Com relação aos cromossomos sexuais, apresentados ao lado direito do terceiro grupo na seqüência do cariótipo, o cromossomo X é submetacêntrico a subtelocêntrico grande e situa-se entre os pares de cromossomos 8 e 9 (provavelmente devido à variação intraespecífica), em relação ao tamanho; e o cromossomo Y é o menor dos cromossomos encontrados nesta espécie. O par número 1 mostrou-se o maior e submetacêntrico, havendo diferença de tamanho entre os homólogos; porém, foram observados cariótipos em que o oitavo par é maior que o primeiro.

Sob bandeamento C, o cromossomo número 7 apresentou uma forte banda adjacente ao centrômero, localizada no braço q – característica marcante para os indivíduos dessa espécie. O braço p também é rico em heterocromatina próxima ao telômero. O segundo grupo

apresentou regiões heterocromáticas no braço p na região telomérica dos cromossomos e o quarto, heterocromatina no braço p dos cromossomos 19 a 22, e no 23 e 24, na região telomérica do braço q. No quinto grupo, os cromossomos 26 e 28 apresentaram regiões heterocromáticas nos braços p e q, respectivamente. Segundo Alaoui et al. (2000), marcam-se com banda C quatro pares de cromossomos metacênicos e submetacênicos, todos os acrocênicos, seis em que se marca o braço p e um em que é marcado o braço q. No presente trabalho, o número de cromossomos metacênicos, submetacênicos e acrocênicos marcados coincide com as observações de Alaoui et al. (2000), entretanto, onze pares de cromossomos marcam-se no braço p e quatro no q, diferindo dos registros anteriores. Em relação aos sexuais, o cromossomo X não apresenta coloração heterocromática na região pericentromérica, mas sim banda intersticial marcante no braço q, o que também caracteriza a espécie.

A técnica de bandeamento G possibilitou o pareamento dos cromossomos homólogos com precisão, confirmando o padrão estabelecido pela coloração convencional. Os cromossomos 4, 20 e 23 não seguem o padrão de bandeamento G, apresentando fraca marcação de bandas positivas em ambos os braços. O número 7 possui bandas positivas nas regiões periteloméricas. O número 8, apesar de ser um subtelocêntrico, apresenta bandas positivas no braço q e coloração fraca no braço p. O cromossomo 22 apresenta três blocos alternados de bandas positivas, enquanto os 24, 25 e 29 os mostram na região peritelomérica do braço p. O cromossomo X tem forte banda positiva na região intersticial do braço q, coincidente com o padrão observado no bandeamento C. Foi observada uma marcação positiva em todo o cromossomo sexual Y, também para o bandeamento C.

No bandeamento NOR, os pares marcados foram os de número 9, 10, 15, 22, 23, 24 e 25. Analisando-se várias metáfases, não foi possível verificar com certeza o número de pares marcados. Observaram-se, com mais freqüência, sete cromossomos em média, o que difere do verificado por Kopp et al. (1981, 1988), que relatam quatro pares marcados pela prata. É importante observar que nenhuma das NORs no cavalo é comparativamente homóloga às localizadas nos cromossomos de jumentos. Isso é interessante, especialmente no caso do cromossomo número 1, porque esse segue o grupo cromossômico que mostra muita similaridade nos padrões de banda G entre jumentos e cavalos (Ryder et al., 1978). Na Figura 1 pode-se observar, respectivamente, os cariótipos sob coloração convencional Giemsa, bandeamento C, G e NOR.

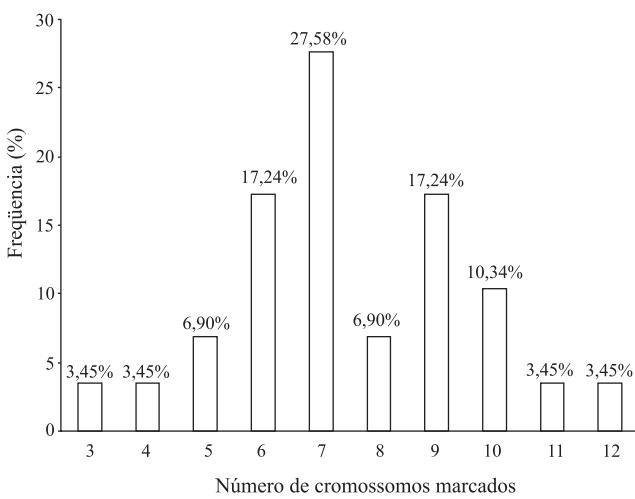


**Figura 1.** Cariótipos de jumento da raça Marchadora Brasileira sob coloração convencional, bandeamento C, G e NOR.

Neste estudo, a maior freqüência de aparecimento de bandas NOR é para sete cromossomos, além de não haver coloração dos dois homólogos, obrigatoriamente. Do ponto de vista prático, esta constatação torna mais difícil a identificação dos cromossomos marcados e o estabelecimento de um padrão para a espécie em questão; observou-se que se coram de três a 12 cromossomos, homólogos ou não, em todas as metáfases estudadas.

Na Figura 2, verifica-se a distribuição de freqüências, onde o eixo x representa o número de cromossomos marcados pelo bandeamento NOR e, o eixo y, a freqüência em que eles aparecem, num total de 29 metáfases analisadas. Observa-se, portanto, que na maioria das metáfases há coloração de 6 a 9 cromossomos.

As diferenças entre os resultados encontrados neste estudo e os da literatura podem estar relacionadas, entre outros fatores, com os variados habitats dos animais estudados, já que cada espaço geográfico determina a sua pressão de seleção natural, justificando o polimorfismo observado entre animais de uma mesma espécie.



**Figura 2.** Distribuição de freqüências do número de cromossomos marcados sob bandeamento NOR, em jumentos da raça Marchadora Brasileira.

## Referências

- ALAOUI, N.; PONSA, M.; JORDANA, J. Caracterización citogenética de cinco razas españolas em peligro de extinción. Disponível em: <[www.etsia.upv.es/ACTEON/Aida2001/docs/asnos1.pdf](http://www.etsia.upv.es/ACTEON/Aida2001/docs/asnos1.pdf)> Acesso em: 22 jan. 2002.
- BENIRSCHKE, K.; LOW, R.J.; SULLIVAN, M.M.; CARTER, R.M. Chromosome study of an alleged fertile mare mule. *The Journal of Heredity*, v.55, p.31-38, 1964.
- CRIBIU, E.P.; DE GIOVANNI, A. Le caryotype de cheval domestique (*Equus caballus*) de l'âne (*Equus asinus*) et du mullet par la methode des bandes C. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, v.10, p.161-170, 1978.
- GOODPASTURE, C.; BLOOM, S.E. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*, v.53, p.37-50, 1975.
- KOPP, E.; MAYR, B.; CZAKER, R.; SCHLEGER, W. Nucleolus organizer regions in the chromosomes of the domestic horse. *Journal of Heredity*, v.72, p.357-358, 1981.
- KOPP, E.; MAYR, B.; SCHLEGER, W.; KALAT, M. Polymorphisms of NORs and heterochromatin in the horse and donkey. *Journal of Heredity*, v.79, p.332-337, 1988.
- LUI, J.F. *Citogenética da raça eqüina nacional Mangalarga (*Equus caballus*)*. 1988. 188p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, USP, Ribeirão Preto.
- LUI, J.F.; GIANNONI, M.A.; GIANNONI, M.L.; TOSTA, P.A. Characteristics of NOR-banded chromosomes of Mangalarga Horses. *Brazilian Journal of Genetics*, v.13, p.269-281, 1990.
- MOORHEAD, P.S.; NOWEL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cell Research*, v.20, p.613-616, 1960.
- RAUDSEPP, T.; CHRISTENSEN, K.; CHOWDHARY, B.P. Cytogenetics of donkey chromosomes: nomenclature proposal based on GTG-banded chromosomes and depiction of NORs and telomeric sites. *Chromosome Research*, v.8, p.659-670, 2000.
- RYDER, O.A.; EPEL, N.C.; BENIRSCHKE, K. Chromosome banding studies of the Equidae. *Cytogenetic and Cell Genetic*, v.20, p.323-350, 1978.
- SCHERES, J.M.J.C. Human chromosome banding. *Lancet*, v.1, p.849, 1972.
- SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, v.75, p.304-306, 1972.

Recebido em 16 de julho de 2003 e aprovado em 3 de dezembro de 2004