

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO CARIÓTIPO DO CARNEIRO DOMÉSTICO -OVIS ARIES, L.

Enoch Borges de OLIVEIRA FILHO*

RFMV-A/29

OLIVEIRA FILHO, E.B. Contribuição ao estudo do cariótipo do carneiro doméstico *Ovis aries*, L. *Rev.Fac.Med.Vet.Zootec.Univ.S.Paulo* 15(2): -, 201-04, 1978.

RESUMO: Visou-se fornecer elementos para a determinação do cariótipo de carneiros (*Ovis aries* L.) criados no Brasil. Foram utilizados seis machos, não castrados, mestiços da raça Ideal, com oito a nove meses de idade, do Biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, SP. A cultura de linfócitos seguiu a técnica de MOORHEAD e Cols. modificada por FERRARI. As metáfases de boa qualidade eram fotomicrografadas para a montagem do cariótipo. Foi utilizada a técnica de SCHERES modificada para bandas G. Foi confirmado o número diplóide de 54 cromossomos. Para a montagem do cariótipo, não houve dificuldades quanto ao pareamento dos seis autossomos metacêntricos grandes e dos cromossomos sexuais, contudo para os 46 autossomos acrocêntricos somente com o bandeamento G se poderia obter um certo grau de confiança. A determinação de um padrão de bandeamento não foi conseguida, sendo indicados novos estudos nesse sentido.

UNITERMOS: Cariotipagem*, Genética, ovinos*.

INTRODUÇÃO

Um dos critérios usados por geneticistas para estudar evolução e especiação é o estudo do veículo do material genético, os cromossomos. Seu número, morfologia, arranjo, características de coloração e outros aspectos podem ser empregados para estabelecer ligações de uma espécie com outra, estabelecendo assim os passos evolucionários, bem como separar subespécies, que apresentam diferenças estruturais no cariótipo que confirmem a subdivisão já identificada por achados anatômicos e morfológicos.

Em Produção Animal, a utilidade do exame do cariótipo se prende à determinação de animais aptos à reprodução, uma vez que a constatação de aberrações cromossômicas, numéricas, morfológicas ou estruturais, levariam a afastar da reprodução o portador. Outro uso

seria a constatação de uma base genética para eventuais anomalias morfológicas ou fisiológicas em um dado indivíduo.

O presente estudo, inédito no Brasil, visa a fornecer subsídios para a determinação do cariótipo de carneiros aqui criados, ao mesmo tempo que é feita uma comparação com as citações da literatura estrangeira.

REVISAO DE LITERATURA

São bastante escassos as citações referentes ao estudo do cariótipo do carneiro na literatura científica.

As observações de SHIWAGO¹⁰ levaram à determinação de 54 cromossomos como número diplóide para o carneiro, embora este autor não tenha garantido a precisão da determinação.

Os estudos subseqüentes da época davam resultados contraditórios sobre o número de cromossomos em carneiros,

* Professor Assistente Doutor.
Departamento de Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

contudo os achados de BERRY^{2,3}, de 54 cromossomos, foram confirmados por AHMED¹ e MAKINO⁶.

As observações de MELANDER⁷ confirmam o número diplóide como sendo 54, na raça Karakul, estando o cariótipo perfeitamente determinado por HSU & BENIRSCHKE⁵.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis carneiros (ARTIODACTYLA, BOVIDAE, *Ovis aries*, L.) machos, não castrados, mestiços com provável participação da raça Ideal, com aproximadamente 8 a 9 meses de idade, do Biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Para a análise cromossômica foram utilizadas culturas de linfócitos de sangue periférico, coletado de três carneiros a 16 de março de 1976 e de outros três, a 10 de maio de 1976. Foi empregada a técnica de MOORHEAD & cols.⁸, modificada por FERRARI⁴, de uso rotineiro no laboratório de Citogenética Humana do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP). O sangue heparinizado sedimentava por 18 horas antes de ser preparada a cultura. As lâminas foram preparadas da seguinte maneira: era colocada uma gota de material da cultura na superfície molhada de uma lâmina bem limpa, mantida imersa em água, em geladeira. Absorveu-se o excesso com papel filtro e foi seca na chama. Foram preparadas cinco lâminas para análise de cariótipo convencional e mais cinco, que foram secas ao ar, para processamento de bandas cromossômicas. As lâminas destinadas à análise convencional foram coradas em solução de orceína acética recentemente filtradas. Para preparações permanentes, foram usadas lamínulas com passagem pelo álcool 95% e o material foi desidratado em banhos sucessivos de álcool 95%, álcool 100%, álcool xilol, xilol e finalmente montadas em bálsamo do Canadá.

As lâminas foram examinadas em microscópio Leitz Wetzlar com objetiva 10x, tendo sido escolhidas as metáfases espalhadas e em superposição. Com ob-

jetiva de imersão 100x, os cromossomos eram desenhados esquematicamente em papel e contados, com um número de 5 metáfases por lâmina.

As metáfases de boa qualidade eram aproveitadas para a montagem do cariótipo, com fotomicrografias obtidas com um Fotomicroscópio Zeiss, de ocular 12,5x, objetiva 100x e optovar 1,25.

Foi utilizada a técnica de SCHERRES⁹ modificada, para bandas G, de uso habitual no laboratório de Citogenética Humana.

RESULTADOS

Nas figuras 1 e 2 são apresentados dois cariótipos normais, bem representativos, respectivamente dos carneiros nº 7 (lâmina C2) e nº 4 (lâmina C4).

Foi confirmado o número diplóide $2n=54$, estando os autossomos claramente divididos em dois grupos, 6 metacêntricos grandes e 46 acrocêntricos ou telocêntricos. Os cromossomos sexuais são: X acrocêntrico, visivelmente maior que o maior dos autossômicos acrocêntricos, e o Y metacêntrico, bem pequeno.

Na primeira cultura de linfócitos houve crescimento apenas de material do animal nº 7, nada crescendo dos animais 8 e 11. Da segunda coleta de material resultaram duas culturas com crescimento, dos carneiros 3 e 4, não crescendo a do carneiro 14.

O bandeamento G não foi obtido em diversas tentativas, tendo sido obtida uma lâmina com um princípio de bandeamento, porém sem qualquer condição de aproveitamento para fotomicrografia.

DISCUSSÃO

A identificação dos cromossomos sexuais é bastante fácil, visto o X não se confundir com o maior dos autossomos acrocêntricos. A evolução dos cromossomos sexuais, especialmente o X em Artiodáctilos, tem despertado a atenção de pesquisadores (TAYLOR & cols.¹¹), por parecer que o X meta ou submetacêntrico tenha se originado da fusão de acrocêntricos. Para tal subespécies com a

ocorrência de zero, um e três pares de metacêntricos.

O Y, bastante reduzido em tamanho, de aspecto típico, metacêntrico, também por ficar isolado na formação dos pares na montagem do cariótipo é de fácil identificação. Segundo MELANDER⁷, o Y é heteropicnótico na metáfase, tem um centrômetro mediano e seu comprimento é entre 1 e 8 micra.

O pareamento correto dos seis metacêntricos grandes não traz dificuldades, contudo para os autossomos acrocêntricos somente com o bandeamento G se poderia obter um certo grau de confiança. Assim, poder-se-ia ir além do estabelecido por MELANDER⁷, que os 46 acrocêntricos menores têm centrômetros terminais, mas não estabelece padrões para o pareamento correto, o mesmo feito por HSU & BENIRSCHKE⁸ ao apresentarem esses 46 autossomos como acrocêntricos ou telocêntricos, porém pareados apenas pela avaliação visual de dimensão.

Não foram encontradas citações na literatura referentes ao bandeamento de cromossomos de carneiro.

Não foram obtidas bandas G nas várias tentativas efetuadas. Usando-se técnicas de SCHERES⁹ modificada, foi

tentado bandeamento com dois dias de colhido o material da cultura, com três semanas, com oito semanas e com 14 semanas, sendo que, além das lâminas feitas dentro da técnica habitual, foram tentadas as seguintes modificações - para as lâminas de 8 e 14 semanas foi aplicado: a) 1/2 hora em fixador metanol 3 partes: ácido acético 1 parte, antes de tripsina, e 10' na tripsina ao invés dos 4' habituais; b) 1 hora em fixador metanol 3: ácido acético 1, e 15' na tripsina. Ambas não deram qualquer resultado que possibilitasse a verificação de bandas G.

CONCLUSÕES

O objetivo do presente estudo foi parcialmente alcançado, quanto à verificação do cariótipo de carneiros criados no Brasil, confirmando o encontrado por outros autores, contudo a determinação de um padrão de bandeamento para identificação dos pares não foi alcançada, provavelmente por inadequação da técnica aplicada. Novos estudos devem ser realizados visando à obtenção de padrões de bandeamento.

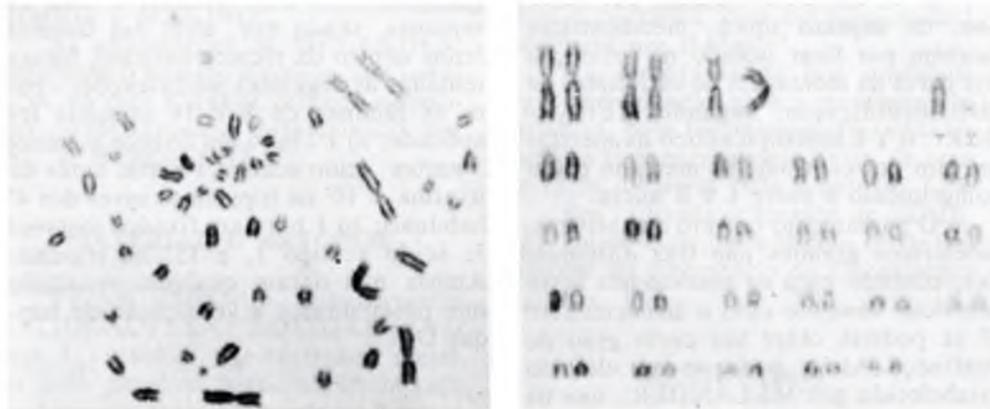
AGRADECIMENTOS

O Autor manifesta seu agradecimento à Prof.^a Dra. ÍRIS FERRARI, Chefe do Departamento de Genética e Matemática Aplicada à Biologia, da FMRP, pela cessão do laboratório de Citogenética e pelas facilidades concedidas para a execução do presente trabalho.

Figura 1 - Carneiro doméstico, *Ovis aries*, L. 2n - 54.
Animal n° 7, lâmina G2.



Figura 2 - Carneiro doméstico, *Ovis aries*, L. $2n = 54$.
Animal nº 4, lâmina C4.



RFMV-A/29

OLIVEIRA FILHO, E.B. Determination of the Karyotype of sheep (*Ovis aries*, L.) raised in Brazil. *Rev.Fac.Med.Vet.Zootec.Univ.S.Paulo*, 15 (2):-, 201-04, 1978.

SUMMARY: This study was conducted aiming to give elements for determination of the karyotype of sheep (*Ovis aries*, L.) raised in Brazil. Six males, not castrated, ideal crossbred, at eithe to nine months of age, were used, belonging to the College of Medicine of Ribeirão Preto, SP. The lymphocytes culture followed the MORHEAD and cols. technics, modified by FERRARI. Good quality metaphases were photomicrographed for Karyotype mounting. The SCHERES technics, modified, was used for G bands. The diploid number of 54 chromosome was confirmed. There were no difficulties, for Karyotype mounting, toward the six large metacentric autosomes and sexual chromosomes, browever for the 46 acrocentric antosomes, only with G banding should be attained a certain degree of confidence the determination of a banding pattern was not obtained, being suggested new investigations on this matter.

UNITERMS: Karyotype'; Genetics, Sheep'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — AHMED, I.A. The structure and behaviour of the chromosomes of the sheep during mitosis and meiosis. *Proc. Royal Soc. Edinburg*, 60:260/70, 1940.
- 2 — BERRY, R.O. Comparative studies on the chromosome numbers in sheep, goat ant sheen-goat hybride. *Journ. Heredity* 29: 343-350, 1938.
- 3 — BERRY, R.O. The chromosome complex of domestic sheep (*ovis aries*). *Journ. Heredity*, 32: 261-267, 1941.
- 4 — FERRARI, I. *Estudo de alterações cromossômicas em pacientes portadores de anomalias físicas múltiplas e retardo mental*. Ribeirão Preto, Fac. Medicina — USP, 1968 (Tese de Doutorado).
- 5 — HSU, T.C. & BENIRSCHKE, K. *An atlas of mammalian chromossomes*. New York, Springer-Verlag, 1967.
- 6 — MAKINO, S. The chromosome complexes in goat (*Caprahircus*) and sheep (*Ovis aries*) and their relationship (Chromosome studies indomestic mammals, II). *Cytologia* 13: 39-54, 1943.
- 7 — MELANDER, Y. The mitotic chromosomes of some cavicorn mammals (*Bos taurus* L., *Bison bonasus*, L. And *Ovis aires*, L.). *Hereditas*, 45:649-664, 1959.
- 8 — MOORHEAD, P.S.; NORWELL, P.C.; ELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exptl. Cell. Res.*, 20:613-16, 1960.
- 9 — SCHERES, J.M. Human chromosome banding. *Lancet*, 1:849, 1972.
- 10 — SHIWAGO, P.I. Karyotypische Studien an Ungulaten. I. Über die Chromosomen-Komplexe der Schafe und Ziegen. *Zeitschr. Zellf. Mikrosk. Anat.* 13: 511-522, 1931.
- 11 — TAYLOR, K.M.; HUNGERFORD, D.A. Snyder, R.L. *Artiodactyl mammals: Their chromosome cytology in relation to patterns of evolution*, *On. Comparative Mammalian Cytogenetics*, Hanover, New Hampshire, Springer-Verlag. p.346-356, 1969.

Aprovado para publicação em 4.9.1978.