

DETERMINAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DO POLIMORFISMO DE HEMOGLOBINA EM BOVINOS DA RAÇA BONSMARA NO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

Flavio Antonio Barca Júnior¹
 Werner Okano²
 Eduardo Zunta Thomazella³
 Michel Rodrigues Baran³
 Thiago Torrecilas Sturion³

JÚNIOR¹, F. A. B; OKANO², W; THOMAZELLA³, E. Z; BARAN³, M. R; STURION³, T. T. Determinação das Frequências Genotípicas e Alélicas do Polimorfismo de Hemoglobina em Bovinos da Raça Bonsmara no Norte do Estado do Paraná. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 31-34, jan./jun. 2008.

RESUMO: A primeira descrição da separação eletroforética de hemoglobina bovina foi realizada no ano de 1955, sendo atualmente os alelos mais frequentes A (mais lento) e B (mais rápido), enquanto que, com menor frequência e com velocidade de migrações variadas, os tipos C, F, Killary, D, G e I. Os diferentes tipos de hemoglobina podem variar segundo a raça analisada. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a existência de polimorfismo, as frequências genotípicas e alélicas da hemoglobina em animais da raça Bonsmara, raça que gradativamente vem sendo introduzida no Brasil. Foram coletadas 137 amostras de sangue total de diferentes bovinos da raça Bonsmara (puros de origem), com idades variando de três meses a cinco anos e determinou-se o tipo de hemoglobina dos animais no Laboratório de Imunogenética Animal da Unopar, através de eletroforese vertical, em gel de poliacrilamida a 10%. Os fenótipos e genótipos foram determinados utilizando-se a nomenclatura internacional aceita pela *International Society for Animal Genetics* (ISAG). Dos 137 animais analisados, 90 (65,7%) animais apresentaram o genótipo AA; 22 (16,05%) apresentaram AB; 15 (10,95%) apresentaram AI; 6 (4,38%) apresentaram II; 4 (2,92%) apresentaram IB e nenhum animal apresentou o genótipo BB. As frequências alélicas foram calculadas A (0,7920), B (0,0948) e I (0,1131). Fica evidente que a raça Bonsmara é polimórfica para o locus da hemoglobina e que o alelo I, não encontrado nas raças existentes no Brasil, será introduzido gradativamente no rebanho brasileiro, através dos cruzamentos com os animais da raça Bonsmara.

PALAVRAS-CHAVE: Hemoglobina. Eletroforese. Polimorfismo. Bonsmara.

DETERMINATION OF BOVINE HAEMOGLOBIN POLYMORPHISMS AND ALLELIC FREQUENCIES IN BONSMARA CATTLE IN THE NORTH OF PARANA STATE

ABSTRACT: The first reports on bovine hemoglobin electrophoresis were made in 1955, they are currently the most frequent alleles A (slower) and B (faster). Alleles C, F, Killary, D, G, and I are less frequent. Bovine hemoglobin alleles vary among different breeds. This paper aims to evaluate bovine hemoglobin polymorphisms and allelic frequencies in Bonsmara cattle, recently introduced in Brazil. One hundred-thirty-seven pure bred animals aged from three months to five years were sampled. Samples were analyzed in the *UNOPAR Laboratório de Imunogenética* through vertical 10%-polyacrylamide gel. Phenotypes and genotypes were established according to the international accepted nomenclature by *International Society for Animal Genetics* (ISAG). Ninety out of 137 (65.7%) animals were AA, 22 (16.05%) were AB, 15 (10.95%) were AI, six (4.38%) were II, four (2.92%) were IB, and none BB. Allelic frequencies were calculated: A (0.7920), B (0.0948), and I (0.1131). It is evident that the Bonsmara breed is polymorphic for the hemoglobin locus and that the allele I, not found in the Brazilian herd, will be gradually introduced through the crossbreeding of the Bonsmara.

KEYWORDS: Hemoglobin. Electrophoresis. Polymorphism. Bonsmara.

DETERMINACIÓN DE LAS FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS DEL POLIMORFISMO DE HEMOGLOBINA EN GANADO DE LA RAZA BONSMARA EN EL NORTE DEL ESTADO DEL PARANÁ

RESUMEN: La primera descripción de la separación electroforesis de hemoglobina bovina fue realizada en el año de 1955, siendo actualmente los alelos más frecuentes A (más lento) y B (más rápido), mientras que, con menor frecuencia y con velocidad de migraciones variadas, los tipos C, F, Killary, D, G e I. Los diferentes tipos de hemoglobina pueden variar según la raza analizada. Esta investigación tuvo por objeto evaluar la existencia de polimorfismo, las frecuencias genotípicas y alélicas de la hemoglobina en animales de la raza Bonsmara, raza que gradualmente viene siendo introducida en Brasil. Fueron colectadas 137 muestras de sangre total de diferentes bovinos de la raza Bonsmara (puros de origen), con edades variando de tres meses a cinco años y se determinó el tipo de hemoglobina de los animales en el "Laboratorio de Imunogenética Animal" de la UNOPAR, a través de electroforesis vertical, en geles de poliacrilamida a 10%. Los fenótipos y genótipos fueron determinados utilizándose la nomenclatura internacional aceptada por la *Internacional Society for Animal Genetics* (ISAG). De

¹Médico Veterinário. Laboratório de Imunogenética Animal. E-mail: flavio.barca@unopar.br

²Médico Veterinário. Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Norte do Paraná (Unopar)

³Aluno do curso de Medicina Veterinária da Universidade Norte do Paraná (Unopar)

los 137 animales analizados, 90 (65,7%) animales presentaron el genotipo AA; 22 (16,05%) presentaron AB; 15 (10,95%) presentaron AI; 6 (4,38%) presentaron II; 4 (2,92%) presentaron IB y ningún animal presentó el genotipo BB. Las frecuencias alélicas fueron calculadas A (0,7920), B (0,0948) e I (0,1131). Es evidente que la raza Bonsmara es polimórfica para el locus Hemoglobina y que el alelo I, no encontrado en las razas existentes en Brasil, será introducido gradualmente en el rebaño brasileño, a través de las cruza con animales de la raza Bonsmara.

PALABRAS CLAVE: Hemoglobina. Electroforesis. Polimorfismo. Bonsmara.

Introdução

A hemoglobina é responsável pelo transporte de O₂ dos pulmões para os tecidos e a retirada do CO₂ dos tecidos. É a proteína em maior quantidade na hemácia, compondo 95% dos sólidos presentes, e de fácil detecção pelos métodos eletroforéticos (KOLB, 1987; DUKES, 1996). O polimorfismo de hemoglobina é determinado por eletroforese, que é um método analítico usado no estudo das proteínas, importante em todos os campos da genética e investigação bioquímica. A mobilidade eletroforética das proteínas demonstra o fenótipo cujo modo de herança, os possíveis genótipos e suas variações podem ser estudadas e, conseqüentemente, permitem avaliar a variabilidade genética (BORTOLOZZI, 1979; BORTOLOZZI, et al. 1982).

Dentro de uma população, com oportunidade de acasalamento ao acaso, as frequências alélicas e as frequências genotípicas tendem a manter-se em equilíbrio. Determinados processos podem promover a alteração deste equilíbrio, entre eles a migração, mutação e a seleção. A taxa de mudança nas frequências depende da taxa de migração (número de animais introduzidos) e da diferença entre as frequências entre os nativos e os migrantes (FALCONER, 1987).

A raça Bonsmara, originária da África do Sul, desenvolvida em 1937 pelo Departamento de Agricultura da África do Sul, foi introduzida no Brasil no ano de 1997, através da importação de sêmen da África do Sul. Em 2000 houve a importação de 19 touros, destinados à monta natural, no norte do estado do Mato Grosso, e, neste mesmo ano, inicialmente foram importados 257 embriões. O ano finalizou com um total de 2300 embriões importados (ABCB, 2004). Desde então, esta raça vem sendo gradativamente introduzida no Brasil.

O objetivo do desenvolvimento desta raça foi aproveitar o vigor e a rusticidade do bovino nativo, com a performance de linhagens inglesas, que já era praticada de maneira informal por muitos criadores em várias partes do mundo, inclusive na África do Sul. O Afrikaner, gado nativo da África do Sul, foi base para o início do garimpo genético, sendo selecionado ao lado de algumas raças européias com constante balanceamento do grau sangüíneo. Os cruzamentos começaram a ser realizados selecionando-se animais com boa adaptação ao calor, com o objetivo de se apurar a raça Afrikaner para o puro *Bos taurus*. Os cruzamentos estabilizaram, para a formação da raça Bonsmara em um grau de sangue 5/8 Afrikaner e 3/8 European Bread (Hereford ou Shorthorn).

O interesse dos criadores brasileiros pelo Bonsmara ocorreu pela adaptação dos animais ao clima dos trópicos e por serem de origem taurina, que permite a acentuada expressão da heterose com os animais zebuínos, base do rebanho brasileiro (ABCB, 2004; OSTROWSKI, 2005).

A Associação Brasileira dos Criadores de Bonsmara (ABCB), fundada em maio de 2000, reúne cerca de 49 criatórios, divididos em nove estados brasileiros, com mais de 22

mil animais registrados e indica que houve um crescimento de 171% na comercialização de sêmen de touros Bonsmara no ano de 2002, quando comparado com o ano de 2001. Nos últimos quatro anos foram comercializadas mais de 160 mil doses de sêmen (ABCB, 2004; ASBIA, 2007).

Em bovinos, Cabannes e Serain descreveram pela primeira vez, em 1955, dois tipos de hemoglobina, a primeira e mais comum, com migração mais lenta, denominada A e outra, menos freqüente e com maior velocidade de migração, denominada B, e os animais heterozigotos apresentavam as duas bandas. Outros alelos têm sido descritos para os bovinos com menor freqüência e com velocidade de migração variadas, entre elas hemoglobina tipo C, F, Killary, D, G e I, ordenadas pelos relatos de descrição (LEZIER, 1999).

Segundo Abreu Filho et al. (1982), a maioria dos autores identificou apenas as bandas A e B para os bovinos da raça Nelore. Algumas variantes de hemoglobina têm sido relacionadas com uma melhor resistência ao calor e, conseqüentemente, os animais apresentam um menor estresse calórico, permitindo-lhes um melhor desempenho produtivo e reprodutivo (SENGUPTA, 1976).

O modo de herança da hemoglobina obedece ao sistema de codominância, sendo possível então determinar o genótipo do animal através do fenótipo observado, o que, para os estudos genéticos, é um aspecto importante, por não ocorrerem alelos silenciosos, que poderiam levar a erros na determinação das frequências genotípicas e alélicas. Quanto à freqüência, os diferentes tipos de hemoglobina podem variar muito de raça para raça e até mesmo dentro de uma mesma raça, quando se consideram países distintos (BORTOLOZZI, 1979; di VITO et al. 2002).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a existência de polimorfismo, as frequências genotípicas e alélicas da hemoglobina em animais da raça Bonsmara, no Norte do Paraná.

Material e Métodos

Os testes foram realizados no Laboratório de Imunogenética Animal da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Campus de Arapongas-PR. Foram analisadas 137 amostras de sangue total de diferentes bovinos da raça Bonsmara (puros de origem), com idades variando de três meses a cinco anos, oriundos de uma mesma propriedade, localizada no município de São Pedro do Ivaí, norte do estado do Paraná, único criatório da região. As amostras foram coletadas assepticamente, através de venopunção da veia jugular, utilizando-se sistema a vácuo, em tubos estéreis com capacidade de cinco mL de sangue, contendo anticoagulante citrato de sódio. Após a coleta, as amostras foram transportadas até o laboratório, onde foram armazenadas em geladeira a uma temperatura entre 2° C e 8° C. O sangue total foi "lavado" em solução fisiológica 0,89% por, no mínimo, três vezes, e após centrifugação e conseqüente obtenção da papa de hemá-

cias, preparou-se uma solução de hemoglobina a 2,5%. Para a determinação dos padrões eletroforéticos da hemoglobina, foi utilizada eletroforese vertical em gel de poliacrilamida a 10%, em pH alcalino (pH 8,3), com volume de 7 μ L para cada amostra e duas horas de corrida a 100 V, segundo técnica modificada de Naoum (1999). Ao fim da corrida eletroforética, foi feita a determinação dos genótipos, segundo o padrão de migração das bandas de hemoglobina, utilizando-se a nomenclatura aceita internacionalmente pela *International Society for Animal Genetics* (ISAG) (BRAEND, 1971).

Resultados e Discussão

A eletroforese demonstrou a presença dos alelos Hb^A, Hb^B e Hb^I, uma banda lenta para a hemoglobina A, uma banda rápida para a hemoglobina B e uma banda intermediária para a hemoglobina I, sendo que os animais heterozigotos apresentaram duas bandas. Dos 137 animais analisados, como demonstra a Tabela 1, 90 (65,7%) animais apresentaram o genótipo AA, 22 (16,05%) apresentaram AB, 15 (10,95%) apresentaram AI, seis (4,38%) apresentaram II, quatro (2,92%) apresentaram IB e nenhum animal apresentou o genótipo BB. As frequências alélicas foram: A (0,7920), B (0,0948) e I (0,1131).

Tabela 1: Genótipo, número de animais e frequência genotípica da hemoglobina de 137 bovinos da raça Bonsmara. São Pedro do Ivaí, PR. 2005.

Genótipo	Nº de animais	Frequência
AA	90	0,6570
AB	22	0,1605
AI	15	0,1095
II	06	0,0438
IB	04	0,0292
BB	00	0,0000
Total	137	1,0000

A hemoglobina dos bovinos é certamente a proteína mais estudada quanto à separação eletroforética. Contudo, nenhum registro é feito em relação aos animais da raça Bonsmara, incluindo no Brasil. Sengupta (1976) analisou 496 animais zebuínos na Índia e encontrou uma frequência de 0,61 para o alelo B, bastante superior ao valor aqui determinado.

As frequências alélicas de hemoglobina (0,0948 para B) diferem também dos valores encontrados por Abreu Filho et al. (1982), que identificaram em animais zebuínos, no Brasil, uma frequência de 0,4 para o alelo B da hemoglobina, o que concorda com os dados de Pannepuci (1989), que encontrou a mesma frequência (0,4). Pérez e Pérez (1977) afirmaram que animais da raça Holandesa variedade preta e branca, Aberdeen Angus e Hereford, possuem fixado o alelo A para hemoglobina. Del Lama (1991) testou 2077 animais distribuídos em 20 raças diferentes difundidas no Brasil, de origem zebuína e taurina e detectou apenas os alelos A e B, sendo que nas raças Holandesa, Aberdeen Angus, Hereford e Normanda, o alelo A parece estar fixado. Nas demais raças taurinas, o alelo A ocorreu com frequência superior a 93%, sendo apenas menores nas raças Limousin (80,6%) e Jersey (53,3%). Entre os zebuínos, a frequência média foi de

aproximadamente 60,2%. Evidencia-se que as diversas raças testadas, com dados disponíveis na literatura, de diferentes origens, apresentam frequências alélicas e genotípicas variadas. Contudo, sempre com a presença apenas dos alelos A e B e ausência do alelo I.

Considerando as raças Hereford e Shorthorn, que contribuíram para a formação da raça Bonsmara e possuem o alelo A fixado para este locus, indica que a presença do alelo I na raça Bonsmara teve origem no ramo genético dos animais Afrikaner.

Conclusão

Fica evidente a existência de polimorfismo de hemoglobina para os animais da raça Bonsmara, com a predominância do genótipo AA (65,70%). A origem do alelo I deve-se à participação genética dos animais Afrikaner na composição racial dos animais Bonsmara. Ainda, o alelo I, não encontrado nas das raças existentes no Brasil, será introduzido gradativamente no rebanho brasileiro, através dos cruzamentos com os animais da raça Bonsmara, o que pode, no futuro, alterar as frequências alélicas e genotípicas.

Referências

- ABCB Associação Brasileira dos Criadores de Bonsmara. **Histórico**. Disponível em: <www.bonsmara.org.br>. Acesso em: 25 ago. 2004.
- ABREU FILHO, M. S. et al. Haemoglobin polymorphism in Brazilian Nelore Cattle. **Rev. Bras. Genética**, Ribeirão Preto, v. 2, p. 345-352, 1982.
- ASBIA Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Mercado/Relatórios**. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/download/mercado/relatorio2006.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2007.
- BORTOLOZZI, J. **Grupos sanguíneos e polimorfismo bioquímico em bovinos da raça Canchim**. 1979. 172 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Botucatu, 1979.
- _____. Metodologia usada no estudo de sistemas polimórficos de Bovinos. I Polimorfismo Bioquímico. **Naturália**, v. 7, p. 53-64, 1982.
- BRAEND, M. Haemoglobin variants in cattle. **Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.** v. 2, p. 15-21, 1971.
- CABBANES, R.; SERAIN, C. Heterogeneite de I hemoglobine des bovines. Identification életróforétique de deux héoglobines bovines. **C. R. Soc. Biol.** v. 149, p. 7-10, 1955.
- DEL LAMA, S. N. **Caracterização genética das raças zebuínas criadas no Brasil através de polimorfismos protéticos e grupos sanguíneos**. 1991. 207 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1991.
- DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de

Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 1987.

KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.

LEZIER, D. H. **Polimorfismo genético-bioquímico das proteínas do sangue de touros doadores de sêmen de alta e baixa congelabilidade**. 1999. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Área de Reprodução Animal) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

NAOUM, P. C. **Eletroforese: técnicas e diagnóstico**. São Paulo: Santos, 1999.

OSTROWSKI, J. E. B. La Raza Bonsmara. **Revista de Medicina Veterinária**, Buenos Aires, v. 86 n. 1, p. 27-32, 2005.

PANEPUCCI, L. A study of biochemical polymorphisms in european/zebu dairy crossbred cattle and of their relationship with european and zebu cattle. **Rev. Bras. Genet.** Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 27-37, 1989.

PÉREZ, I. J.; PÉREZ, J. E. Separación electroforetica de las hemoglobinas de algunas razas de ganado. **Agronomia Tropical**, Maracay, v. 27, n. 3, p. 293-300, 1977.

SENGUPTA, B. P. Haemoglobin polymorphism and its possible adaptative significance in zebu cattle. **Indian J. Anim. Sci.** v. 46, p. 72-76, 1976.

VITO, A. di et al. Functional properties of the three hemoglobin phenotypes of Nelore cattle. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n. 2, p. 135-138, 2002.

Recebido em: 06/09/2006

Aceito em: 02/03/2008