

# BROTÉRIA GENÉTICA

REVISTA QUADRIMESTRAL

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

## ÍNDICE

Subsidiada pelo

Instituto Nacional de Investigação Científica

### Artigos Gerais e de Revisão

Controle Genético da Diferenciação Sexual

por Adriana Bor Mihich, Katalin Aszabol

### Artigos de Investigação

Testagem de descendência em animais

II -

por L. Sáez Montiel

### Notas e Notícias

XVI International Congress of Genetics

Índice dos Volumes V-VIII (1981-1987)



CONSELHO DE REDACÇÃO:

Prof. Dr. Luis J. Archer (Director e Proprietário)  
Cristina Marinho (Secretária)  
Prof. Dr. Jorge Antunes-Correia  
Prof. Dr. Miguel Pereira Coutinho  
Eng.º Tristão Mello-Sampayo  
Prof. Dr. Luis Sieuve Monteiro  
Prof. Dr. Amândio S. Tavares

ADMINISTRADOR: Januário Gerales

CONDIÇÕES DE ASSINATURA PARA 1987

Portugal: Esc.: 750\$00 (oferecida gratuitamente pela Sociedade Portuguesa de Genética aos seus sócios)  
Espanha e Países de expressão portuguesa: Dol. \$7.00  
Outros Países: Dol. \$15.00  
Número avulso: Esc.: 300\$00

REDACÇÃO E ADMINISTRAÇÃO:

**BROTÉRIA GENÉTICA**  
Rua Maestro António Taborda, 14  
1293 LISBOA CODEX  
Telef.: 66 16 60

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

## ÍNDICE

# CONTROLE GENÉTICO DA DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

ADRIANA BOS MIKICH

	Reinaldo Azoubel e Luiz Eustáquio Lopes Pinheiro	Página
<b>Artigos Gerais e de Revisão</b>		
Controle Genético da Diferenciação Sexual .....		121
por <i>Adriana Bos Mikichi, Reinaldo Azoubel e Luiz Eustáquio Lopes Pinheiro</i>		
	Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto	
<b>Artigos de Investigação</b>		
Testagem de descendência nos bovinos leiteiros do tronco frígida em Portugal II - Avaliação Genética dos reprodutores masculinos .....		159
por <i>L. Sieuve Monteiro</i>		
<b>Notas e Notícias</b>		
XVI International Congress of Genetics .....		185
Índices dos Volumes V-VIII (1984-1987) .....		187



INDICE

ARTIGOS DE REVISÃO

Artigos Gerais e de Revisão  
131 Controle Genético da Diferenciação Sexual - revisão  
por Adriano dos Anjos, Reinaldo Azevedo e  
Roberto de Almeida

ARTIGOS DE INVESTIGAÇÃO

Artigos de Investigação  
139 Testagem de descendentes nos bovinos fêmeas de raças  
II - Avaliação Genética das raças masculinas  
por A. Zicarelli

NOTAS E NOTÍCIAS

Notas e Notícias  
142 XVI International Congress of Genetics  
Indices dos Volumes V-VIII (1984-1987)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

# CONTROLE GENÉTICO DA DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

ADRIANA BOS MIKICH

Reinaldo Azoubel e  
Luiz Eustáquio Lopes Pinheiro

Exame geral de qualificação apresentado ao Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

RIBEIRÃO PRETO  
1987

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

# CONTROLE GENÉTICO DA DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

ADRIANA BOS MURICH

Recebido: 1987  
Aceito: 1987

Este trabalho foi desenvolvido no  
Laboratório de Genética da Faculdade de  
Medicina de Ribeirão Preto, UNESP, Ribeirão Preto, SP.

RIBEIRÃO PRETO  
1987

## INTRODUÇÃO

A diferenciação sexual possui um aspecto fundamental no desenvolvimento de um povo ser, pois é a partir deste critério, um processo sequencial e ordenado, que irá depender a sexo, o comportamento e principalmente a fecundidade de um indivíduo, garantindo assim, a sobrevivência e a perpetuação de sua espécie. Sendo a base da evolução, e de se imagina que controla geneticamente pelo controle por um série de genes atuando individualmente ou em conjunto, hereditariamente, a fim de resultar num processo dinâmico e em constante especificação adaptativa, o qual se traduz em um maior sucesso reprodutivo das indivíduos.

## ÍNDICE

	Página
INTRODUÇÃO .....	125
Mecanismos de determinação sexual .....	127
O cromossomo X e a compensação de dose .....	136
O cromossomo Y e o antígeno H-Y .....	141
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....	147
BIBLIOGRAFIA .....	152



M. CARY & ASSOCIADOS

## INDICE

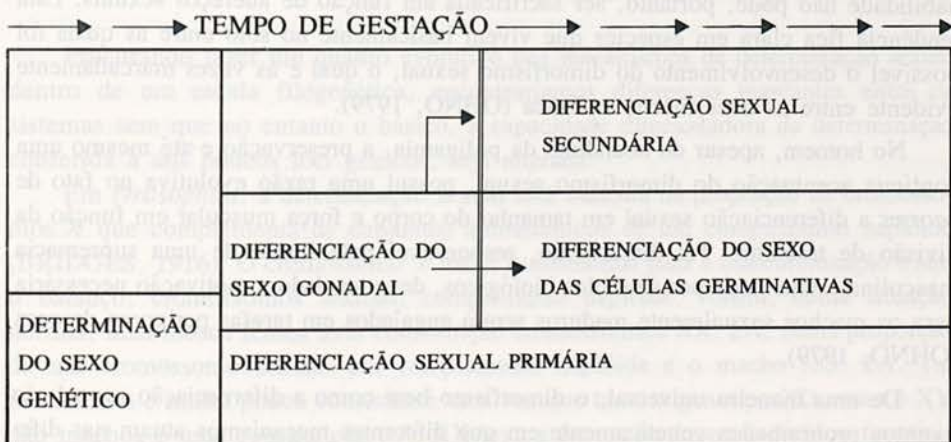
Página	
125	INTRODUÇÃO
127	Mecanismos de determinação sexual
136	O cromossomo X e a compensação de dose
161	O cromossomo Y e o antígeno H-Y
167	DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
152	BIBLIOGRAFIA



## INTRODUÇÃO

A diferenciação sexual gonadal é um aspecto fundamental no desenvolvimento de um novo ser, pois é a partir deste ponto crítico, um processo sequencial e ordenado, que irá depender o sexo, o comportamento e principalmente a fecundidade de um indivíduo, garantindo assim, a sobrevivência e a perpetuação de sua espécie. Sendo a base da evolução, é de se imaginar um controle genético fino exercido por uma série de genes atuando individualmente ou em conjunto, harmonicamente, a fim de resultar num processo dinâmico e em constante aperfeiçoamento adaptativo, o qual se traduz em um maior sucesso reprodutivo dos indivíduos.

A natureza legou aos mamíferos uma seqüência lógica de etapas que levam ao produto: sexo fenotípico do indivíduo. Em outras classes animais, o único passo pragmático é a definição do sexo genético, sendo os passos subsequentes reflexo da interação deste anterior com agentes outros exógenos. Em termos gerais e esquemáticos, os eventos que levam à diferenciação sexual podem ser resumidos da seguinte forma:



Mc CARRY e ABBOTT, 1979

Pode-se então considerar que tudo começa no momento da fecundação do óvulo por um espermatozóide, resultando em um zigoto masculino ou feminino. Conforme tal, irá se desenvolver a partir das gônadas indiferenciadas do embrião em crescimento, testículos ou ovários, e então destes, iniciar-se-á a produção hormonal específica de cada sexo que irá coordenar a formação das demais características fenotípicas secundárias. No entanto, o aspecto fundamental para o sucesso reprodutivo de um indivíduo é que suas gônadas, além dos hormônios sexuais, produzam gametas viáveis, o que depende da constituição genética de suas células germinativas.

Não resta dúvida que todo o mecanismo depende da capacidade dos genes responsáveis pela diferenciação sexual, os quais dirigem, passo a passo, desde o momento da fecundação até à idade reprodutiva do adulto, os processos dos quais dependem seu sucesso reprodutivo. Este controle total e fino reflete-se também nas diferentes formas de adaptações reprodutivas adotadas pelos diversos organismos. O importante é que dentro de cada espécie, sua tática garanta a perpetuação e evolução de seus membros.

O dimorfismo sexual, resultado da diferenciação sexual secundária, encontrado na maioria dos vertebrados superiores, é uma expressão fenotípica do sexo dos membros de uma espécie e sua intensidade é mais ou menos marcante conforme os hábitos e o comportamento do grupo de organismos envolvidos. As espécies de grandes mamíferos são, em geral, praticantes de acasalamentos poligâmicos, mais precisamente poligênicos, em que o macho mais combativo lega maior herança genética à próxima geração. Tal tipo de sociedade representa uma adaptação evolutiva destes animais cujo tamanho do corpo, sendo muito grande, determina um período gestacional mais longo, e uma conseqüente morosidade evolutiva (OHNO, 1979). O contrário ocorre entre as aves onde o acasalamento é monogâmico em função do cooperativismo em criar o grande número de filhotes a cada postura. Esta tarefa de nutrir e cuidar das crias depende, basicamente, da capacidade de vôo das aves e tal habilidade não pode, portanto, ser sacrificada em função de adereços sexuais. Esta tendência fica clara em espécies que vivem basicamente no solo entre as quais foi possível o desenvolvimento do dimorfismo sexual, o qual é às vezes marcadamente evidente entre as aves macho e fêmea (OHNO, 1979).

No homem, apesar do abandono da poligamia, a preservação e até mesmo uma contínua acentuação do dimorfismo sexual, possui uma razão evolutiva no fato de ocorrer a diferenciação sexual em tamanho do corpo e força muscular em função da divisão de trabalho. Tal dimorfismo, responsável pela ilusão de uma supremacia masculina, aumentada por símbolos biológicos, deve ter dado a motivação necessária para os machos sexualmente maduros serem engajados em tarefas perigosas de caça (OHNO, 1979).

De uma maneira universal, o dimorfismo bem como a diferenciação sexual são eventos programados geneticamente em que diferentes mecanismos atuam nas diferentes espécies animais.

OHNO (1979) descreve sobre um possível paradoxo evolutivo surgido perante a necessidade das espécies manterem um certo grau mínimo ou acentuado de dimorfismo sexual, ante a uma mínima diferença genética entre os dois sexos, de forma a não quebrar a hegemonia da espécie como um todo. Foram assinalados dois mecanismos básicos a partir dos quais as espécies de vertebrados dirigem sua diferenciação sexual:

1) A partir de um par de cromossomos homólogos, nos quais há acúmulo de genes com função de determinação sexual em alguns loci, mantendo o X e o Y do macho heterogamético, bem como o Z e o W da fêmea heterogamética, essencialmente homólogos. Tal mecanismo é vantajoso no sentido de ser reversível, podendo ser alterado o sistema reprodutivo de uma espécie sem maiores problemas como de hermafroditismo e gonadocorismo. No entanto, este é também um sistema muito lábil, podendo sofrer a ação de agentes externos como os esteróides sexuais ou a temperatura ambiental, atuantes durante a vida embrionária ou larval. Esta influência poderia comprometer a capacidade determinadora sexual dos genes destes indivíduos afetados.

2) Alternativamente, devido às necessidades impostas pelo sistema reprodutivo, principalmente entre os mamíferos em que a influência do ambiente materno é muito marcante durante a vida embrionária e fetal, desenvolveu-se um mecanismo de determinação sexual em que o cromossomo Y sofreu acentuada degeneração, cabendo a ele apenas a função de dirigir a diferenciação sexual primária do sexo heterogamético.

Assim, por meio de qualquer um dos sistemas, as espécies animais podem conviver com um certo grau de dimorfismo sem sacrificar a sua identidade genética.

## MECANISMOS DE DETERMINAÇÃO SEXUAL

Procurando fazer um quadro evolutivo dos mecanismos de determinação sexual dentro de um escala filogenética, encontraríamos diferenças marcantes entre os sistemas sem que no entanto o básico, a capacidade direcionadora da determinação conferida a uns poucos loci génicos, seja alterada.

Em *Drosophila*, a determinação sexual está baseada na proporção de cromossomos X que complementa os conjuntos autossômicos de um complemento haplóide (BRIDGES, 1916). O cromossomo Y não é fundamental para a masculinização e sim o balanço, cromossomos sexuais: complemento haplóide. Assim, numa situação normal, uma mosca fêmea teria constituição cromossômica XX: 2A, numa proporção de um cromossomo sexual: um complemento haplóide e o macho XO: 2A. Tal mecanismo é muito pouco consistente uma vez que tanto o genotipo XO como o XY dão machos e uma constituição 3A: XX leva a formação de um indivíduo fenotipicamente intersexo.

A maioria das espécies da ortópteros apresenta um sistema XO de determinação sexual. Entretanto, há muitos casos de Neo-X e Neo-Y resultantes da fusão de um cromossomo X original a um autossomo, sendo ao seu homólogo conferido o papel de Neo-Y e limitado ao sexo heterogamético (masculino). Dentre as diferentes espécies que adotaram esquema pode-se observar uma perda gradual de homologia entre o Neo-X e o autossomo (Neo-Y), pelo comportamento destes cromossomos no pareamento meiótico. Tal fato foi atribuído a um processo crescente de heterocromatização do Neo-Y (WHITE, 1973).

Entre os vertebrados mais inferiores, como os peixes gonocorísticos, anfíbios e répteis, os cromossomos sexuais encontram-se no estado primitivo de diferenciação, caracterizando a primeira tentativa de determinação sexual sem, entretanto, haver um heteromorfismo cromossômico entre os sexos. Pode-se, entretanto, salientar aqui a existência de espécies excepcionais dentro de cada classe, nas quais já estão bem definidos os cromossomos sexuais heteromórficos (OHNO, 1967). Talvez a grande vantagem de manutenção do primeiro mecanismo vem a ser, como já foi observado, que comprometimentos genéticos irreversíveis sejam evitados e as espécies tenham muito maior chance de sobrevivência em condições adversas em que um dos sexos está ausente. Assim, dentro do mesmo gênero de peixes é comum observar-se espécies gonocorísticas co-existindo com espécies hermafroditas ou, como ocorre com as lagartixas "whiptail", as quais, partindo de um ancestral comum bissexual, desenvolveram populações unissexuais sem qualquer comprometimento reprodutivo (COLE, 1977). Nestas populações, os indivíduos desenvolvem-se partenogeneticamente, sendo que cada cria é uma cópia exata de sua mãe, formando-se assim clones populacionais a partir de um único ancestral. Esta alteração de sistema reprodutivo não modificou em absoluto a morfologia ou o genoma dos animais envolvidos, podendo inclusive uma fêmea unissexual ser coberta por um macho bissexual. Esta é uma adaptação muito vantajosa das populações unissexuais sobre as bissexuais, principalmente no momento da colonização de novas áreas em que há ausência do macho ou para a manutenção de uma combinação gênica favorável ao novo ambiente. Na espécie de lagarto *Tropiduros torquatos* foram constatados dois grupos distintos quanto ao mecanismo de determinação sexual: tipo  $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$  ou tipo  $XY/XX$ , aos quais foram relacionados diferentes tipos de heteromorfismos cromossômicos entre os machos e fêmeas em ambos os grupos e portanto, provavelmente relacionados com a determinação sexual nestes grupos (KAHARA, 1983).

Polimorfismos cromossômicos envolvendo especificamente o par sexual foram observados no ofídio africano, *Bungarus cearuleus* (SINGH, 1976), em que as fêmeas apresentavam números diplóides diferentes: 43, 44 e 45, enquanto que os machos são constantes com apenas 44. Tal polimorfismo estaria relacionado com um sistema de múltiplos cromossomos sexuais, emergentes de translocações de segmentos do cromossomo W com macroautossomos ou microssomos, assim resultando em machos  $Z_1Z_1Z_2Z_2$  e fêmeas  $Z_1Z_2W$ . Em algumas fêmeas, o cromossomo W se dissocia em seus componentes originais dando origem aos polimorfismos observados.

Alguns mecanismos emergentes de heteromorfismos dos cromossomos sexuais são observados também nos ofídios, como no caso do sapo marsupial *Gastroteca riobambae*. SCHMID (1983) observou que neste espécie o Y é consideravelmente maior que o X e quase completamente heterocromático. Na maioria das espécies entretanto, os cromossomos sexuais estão ainda em um estágio inicial de diferenciação morfológica e não podem ser distinguidos macroscopicamente.

Nas aves, pensou-se que a determinação sexual fosse primeiramente, do tipo ZO para as fêmeas e ZZ para os machos. No entanto, ficou claro ser do tipo ZW/ZZ (OHNO, 1961), constituindo as fêmeas o sexo heterogamético. O que permanece desconhecido é se o mecanismo é dependente de balanço entre cromossomos sexuais e autossomos como em *Drosophila* ou se, como nos mamíferos, o cromossomo W por si é capaz de dirigir a diferenciação da gônada feminina. No entanto, a falta de heterocromatização do segundo cromossomo Z (COCK, 1974) pesa em favor de ser este um mecanismo mais semelhante ao de *Drosophila*, em que tal fenômeno anularia a expressão de genes autossômicos fundamentais, indicando portanto que há uma diferença no número de cromossomos Z funcionais em cada sexo. BAVERSTOCK (1982) demonstrou a existência de homologia entre os cromossomos Z de diferentes espécies de aves, bem como a ausência aparente do mecanismo de compensação de dose, pelo menos entre as espécies estudadas. No caso da *Drosophila*, a compensação de dose é feita pela regulação da atividade gênica dos dois cromossomos X eucromáticos da fêmea e um cromossomo X eucromático de macho (MULLER, 1947). Tal mecanismo está baseado num efeito de genes ligados ao X e aos autossomos compensadores, os quais modulam a expressão de vários genes estruturais ligados ao X (OHNO, 1967).

Nos mamíferos, o mecanismo de determinação sexual é baseado num par de cromossomos heteromórficos X e Y. O X é um elemento do complemento masculino destinado exclusivamente a dirigir a diferenciação da gônada masculina em um embrião XY, resultando em uma diferença mínima entre machos e fêmeas quanto a constituição genética. Ainda nos mamíferos, em geral o Y é crucial para a determinação do fenótipo sexual, dirigindo a formação de um testículo a partir de uma gônada indiferenciada, cuja tendência original seria desenvolver-se em um ovário, mesmo na presença de mais de um cromossomo X (cromossomos X extras).

O Y da grande maioria dos mamíferos é um elemento mínimo do genoma, sendo mesmo assim bastante grande para seu papel tão limitado, para cuja execução seriam suficientes um ou dois genes somente (OHNO, 1979).

Por outro lado, o cromossomo X dos mamíferos é um elemento de grande importância em função do grande número de loci que ele engloba e, portanto, seu papel em termos evolutivos e seletivos é fundamental nesta classe de animais.

Em vista da grande heterogeneidade de mecanismos e situações particulares, às vezes, em determinadas espécies animais, torna-se difícil dividir um esquema único para explicar a genética da determinação sexual. Muitos modelos tem sido propostos e cada um parece adaptar-se melhor a determinados casos, não sendo

qualquer um deles satisfatório como um mecanismo de ação universal. A seguir estão descritos os modelos com suas particularidades:

**1) Balanço gênico:** Desde o trabalho pioneiro T. H. MORGAN de 1910 a 1920, ficou claro a existência de uma relação entre genes e cromossomos em *Drosophila*. BRIDGES (1921), também em *Drosophila*, demonstrou que a proporção determinadora do sexo de cromossomos sexuais: autossomos, representa um balanço entre genes ligados ao X e fatores autossômicos determinadores sexuais, o que ficou conhecido como "teoria do balanço gênico". Tal mecanismo ganhou suporte maior quando DOBZHANSKY e SCHULZ (1934) demonstraram que no cromossomo X há vários fatores determinantes femininos, os quais atuam em conjunto com fatores determinadores masculinos nos autossomos de forma a produzir o fenótipo do indivíduo. Esta teoria é ainda aceita mas tem sua aplicação restrita à *Drosophila* ou talvez à alguns insetos, mas não aplica-se aos mamíferos de forma alguma.

**2) Herança cromossômica:** Este modelo aplicar-se-ia às aves e aos mamíferos heterogaméticos nos quais, segundo MITTWOCH (1967), a presença dos cromossomos X ou Y seria o aspecto fundamental da determinação sexual destes animais. A influência destes cromossomos seria exercida de forma direta, dirigindo a taxa mitótica nas células gonadais. WELSHONS e RUSSEL (1959), concluíram, após uma série de experimentos com camundongos, que a fêmea fértil pode ter cariótipo XX ou XO, sendo o cromossomo Y o determinante da masculinização. Tal se aplicaria a outros mamíferos inclusive ao homem.

**3) Herança genética:** Contrariamente à proposta de MITTWOCH (1967), ficou provado, pelo crescente número de observações, que apenas alguns genes são responsáveis pela determinação sexual e não a presença do cromossomo como um todo.

O instrumento para a exploração genética dos mecanismos de diferenciação sexual são os genes ligados ao sexo, onde a determinação sexual foge dos padrões normais de fêmeas XX e machos XY, levando a uma discrepância entre o sexo genético e o sexo gonadal. Este tipo de relacionamento detectado em um grupo de mamíferos, pode ser estendido, por inferência, aos demais. Por exemplo, Mc FEELY (1967) sugeriu, e hoje já existem muitas provas definitivas, que a determinação sexual em mamíferos pode ser explicada como se o gene determinante da masculinização no Y tenha seu homólogo no X onde permanece reprimido devido à presença de dois cromossomos X, enquanto que nos machos normais estaria desreprimido pela presença do Y. Assim, a Natureza faz seus experimentos, os quais são difíceis de serem reproduzidos em laboratório e, portanto, devem ser bem estudados e entendidos desde a sua gênese. O relacionamento de inúmeras aberrações fenotípicas com o cariótipo normal ou, aparentemente normal dos indivíduos portadores, já proporcionou uma série de inferências sobre os genes que os determinam e seu papel na determinação sexual. Portanto, pode-se observar que o que se conhece sobre o mecanismo normal é resultado da observação e análise do anormal, e quanto mais esclarecimentos obtém-se, mais intrincado apresenta-se o processo, surgindo a cada nova descoberta, inúmeras novas questões.

Qualquer indivíduo que apresente características fenotípicas de ambos os sexos é considerado um intersexo. Se ele apresenta tecido gonadal de testículo e ovário, tanto como entidades separadas como formando um ovoteste, ele é considerado um hermafrodita verdadeiro. Os casos mais comuns de intersexos são aqueles em que o indivíduo apresenta apenas um tipo de gônada, a qual discorda de seu fenótipo sexual externo (pseudohermafrodita), sendo o seu sexo diagnosticado conforme a gônada. Assim, um indivíduo que possui testículos é um macho mesmo que seu fenótipo externo seja completamente feminino.

No homem, onde há maior número de informações disponíveis, observações de casos clínicos permitem relacionar fenótipos aberrantes como a síndrome de Turner (condição determinada pela monossomia do cromossomo X); a de Klinefelter (determinada pela condição XXY), e a disgenesia gonadal pura, bem como outras tantas anomalias, para assim mapear loci envolvidos com os processos de determinação do sexo nos cromossomos sexuais. Os casos são inúmeros, muitos deles relacionados com o braço curto do cromossomo X, com o aparecimento ou não dos sintomas de Turner ou disgenesia gonadal, associados ou não a translocações X/Y (FRACCARO, 1977; TIEPOLO, 1977; HOO, 1979; HECHT, 1980; PFEIFER, 1980). De uma forma geral, deleções do braço longo do cromossomo X envolvidos em translocações X-X, levam a sintomas semelhantes à síndrome de disgenesia gonadal pura, enquanto que naqueles em que estão envolvidos os braços curtos do X, levam a sintomas da síndrome de Turner (MIRZAYANTS, 1978). HOO (1979) estabeleceu então que o não envolvimento da porção nunca inativada do cromossomo X humano (braço curto), em rearranjos ou anomalias estruturais, pode ser responsável pela manutenção da diferenciação ovariana normal e pelo não aparecimento dos sintomas característicos da síndrome de Turner, possíveis de se manifestarem também em certas anomalias cromossômicas.

Aberrações envolvendo o cromossomo Y, principalmente a formação do Y dicêntrico, também acusam o envolvimento de pontos específicos deste cromossomo com anomalias da diferenciação sexual, mais ou menos severas, conforme a região envolvida (ANGELL, 1970; JOHNSTON, 1974). Não raro ocorrem achados de mais de uma linhagem celular, constituindo um indivíduo mosaico quanto ao seu cariótipo sexual, o que dificulta a análise de possíveis relações dos cromossomos sexuais com uma anomalia fenotípica. No entanto, GIRAUD (1977) constatou em um estudo de três casos de Y dicêntrico que a perda do segmento bem terminal do braço curto não impede a diferenciação testicular. Já ROSENFELD (1979) constatou um caso de perda do braço curto do Y em que o paciente desenvolveu sintomas da síndrome de Turner. Em bovinos (PINHEIRO *et al.*, in press), foi detectado um animal fenotipicamente feminino, o qual apresentava mosaïcismo cromossômico das células do sangue periférico com padrão XY normal, Xo e X iso Y dicêntrico (no qual foi perdida a maior parte do braço longo).

Translocações envolvendo ambos os cromossomos X com a perda de parte do material destes cromossomos, mesmo que mínima, levam à disgenesia gonadal pro-

gressiva, possivelmente como reflexo da falta desta porção durante a organogênese embrionária (FERRARO, 1980). No entanto, uma translocação X-Autosomo balanceada não levou a qualquer alteração na determinação sexual (STENGEL-RUTKOWSKI, 1976), tendo o paciente apenas azoospermia possivelmente surgida como resultante da dificuldade de pareamento dos cromossomos meióticos durante a gametogênese. O mesmo foi constatado por JOSEPH (1982), em um paciente masculino totalmente normal fenotipicamente, azoospermico, e cujo cariótipo apresentava rearranjo cromossômico envolvendo três autossomos. KUHLWEIN (1981) descreveu três pacientes homens com cariótipo XX, cuja única anomalia física eram os pequenos testículos e a azoospermia.

No entanto, muitos casos de translocações envolvendo porções mínimas dos cromossomos sexuais X e Y entre si ou com os cromossomos autossômicos, apresentam desde fenótipo masculino ou feminino normais (STENGEL-RUTKOWSKI, 1976; BUYS, 1979; BERNSTEIN, 1980; TURLAU, 1980) até reversão sexual do indivíduo, onde o sexo genético é totalmente discrepante do fenótipo. Tal grau de variabilidade na expressão dos rearranjos deve-se unicamente à região dos cromossomos envolvidos.

A partir de um caso de reversão sexual num indivíduo com constituição cromossômica XX, DE LA CHAPELLE (1984) pode demonstrar a transferência de um segmento mínimo do cromossomo Y para o X durante a meiose do pai do probando. Esta transferência ocorreu em pontos do cromossomo Y envolvidos com a determinação sexual masculina o que foi suficiente para direcionar a diferenciação sexual do embrião originalmente feminino XX e gerar um macho.

As causas da reversão sexual são variadas e não só tem sua etiologia nas translocações de porções dos cromossomos sexuais como também em mutações, deleções, enfim, mecanismos que determinam uma situação anômala envolvendo genes responsáveis pela masculinização. EVAN (1979) pode demonstrar heteromorfismo no Xp dentre homens com cariótipo 46, XX. Esses X apresentavam acréscimo de material devido possivelmente, a uma transferência de material do Y paterno durante a meiose para o X. Tais homens eram fenotipicamente normais exceto quanto aos testículos que eram pequenos. No entanto, não foi descartada a possibilidade de um mosaïcismo criptico XX/XY neste indivíduos, difícil de detectar, mas suficiente para dirigir a masculinização como foi sugerido por PALUTKE (1973) ao verificar mosaïcismo em indivíduos femininos 46, XX, cujas células de Sertoli eram XXY/XX.

Em muitas outras espécies de mamíferos, além do homem, foram descritos vários casos de reversão sexual. Bem conhecido é o fenômeno que ocorre dentre os caprinos em que um gene autossômico recessivo (HAMERTON *et al.*, 1969), responsável pelo caráter mocho quando em homozigose numa fêmea genética determina sua masculinização. Possivelmente em algum ancestral destes animais, o gene para caráter mocho estava em íntima proximidade do gene determinante da masculinização no cromossomo Y e, durante o curso da evolução, uma translocação os transferiu para algum autossomo. No entanto, nos animais hermafroditas, fêmeas mochas



homozigotas, o gene estrutural para masculinização, supostamente localizado num cromossomo X e controlado pelo Y (BASRUR, 1969) é desreprimido pelo gene do caráter mocho.

Dentre os suínos, situação semelhante foi observada por MAKINO *et al* (1962), a qual foi esclarecida por SITTMAN e col (1980) a partir de revisão de vários casos de intersexos. Embora a herança poligênica não possa ser descartada, a hipótese é a de que genes recessivos autossômicos são, na maioria dos casos, os responsáveis pela reversão sexual XX e pelo hermafroditismo verdadeiro nos porcos. Conclusão semelhante chegou LAUS (1982) a partir de estudos em animais intersexos, dentro de uma mesma população com alta incidência desta anomalia. O autor concluiu tratar-se de uma mutação autossômica recessiva.

Em camundongos, foi descoberto um gene, Sxr, responsável pela reversão sexual nesta espécie (CATTANACH, 1971). Tal gene foi mapeado na região distal do cromossomo X (CATTANACH, 1982) e sua presença determina masculinização de fêmeas XX. Por outro lado, a mutação Tfm descoberta em ratos, ligada ao cromossomo X e recessiva, causa feminização testicular de machos XY, os quais podem ser considerados Tfm/Y (ALLISON *et al*, 1965). A mesma aberração já foi detectada em bovinos e cães (cit. em OHNO, 1979).

Consideração especial merecem os casos excepcionais de determinação sexual, encontrados em algumas espécies de mamíferos em função de adaptações reprodutivas cariotípicas viáveis para sua espécie.

O carnívoro africano, mangusto do pântano (*Atilax paladinus*), apresenta, aparentemente, ausência do cromossomo Y no cariótipo masculino, causando uma diferença do número diplóide entre machos e fêmeas (PATHAK e STOCK, 1976). Isto ocorre devido a uma translocação do Y para um autossomo, sem a correspondente translocação do cromossomo Y. O cromossomo Y/autossomo rearranjado parecia com o homólogo autossômico na meiose, não comprometendo a fertilidade destes animais.

OHNO (1963) descreveu situação semelhante no ratão rastejante (*Microtus oregoni*) no qual, nos dois sexos, as células somáticas são: YO nos machos e XO nas fêmeas. Subsequentemente observou-se então que tanto os machos como as fêmeas são mosaicos gonossômicos:  $2n = 17/18$  (OY/XY) para os machos e  $2n = 17/18$  (XX/XO) para as fêmeas (OHNO, 1963). Os machos, os quais se desenvolvem a partir de um zigoto XY, produzem gametas Y e O, sendo o cromossomo X eliminado da espermatogônia. O espermatozóide O é o determinador feminino. Por sua vez as fêmeas XO produzem oogônias que recebem dois cromossomos X, a partir de uma não disjunção seletiva destes cromossomos (OHNO, 1966). Assim, ao mesmo tempo que houve um rearranjo no mecanismo, eliminando aquilo que nas demais espécies de mamíferos torna-se material inativado heterocromático, a fêmea continuou sendo o sexo homogamético e o macho heterogamético. Do ponto de vista seletivo, o processo é vantajoso no aspecto de que qualquer característica ligada ao X que seja prejudicial é eliminada em seguida da população. Portanto tal mecanismo parece

constituir-se numa forma refinada e evoluida de determinação sexual.

Situação ainda mais curiosa é a encontrada entre os marsupiais, grandes planadores (great glider), nos quais, a medida que o animal macho XY vai se desenvolvendo, ele perde gradativamente seu cromossomo Y das células somáticas, tornando-se XO. Tal situação é única e não tem explicação aparente como a heterocromatização, a menos que se considere que nesta espécie seja necessária uma compensação de dose dos genes ligados ao Y (OHNO, 1979). Este fato contradiria a hipótese de que este cromossomo seria portador de genes determinadores da masculinização apenas. Recentemente (CLOSE, 1984) foi detectado um mecanismo dentre os paramielídeos (marsupiais), nos quais um cromossomo X desaparece das células somáticas femininas e o Y dos tecidos somáticos masculinos, havendo também aqui um padrão gradual de perda. Esta situação, bem como as anteriores, só pode ser explicada se a perda de cromossomos nos marsupiais foi um sub-produto acidental da compensação de dose.

Sistema de cromossomos sexuais múltiplos foi detectado nos roedores *Deltamus kampi* (FRONZA, 1981), onde foi constatado um cromossomo estranho no complemento, resultante, provavelmente, de uma translocação X/autossomo. Assim, a fêmea seria heterozigota para a translocação e teria o mesmo número de cromossomos que o macho, o qual evolui para um sistema  $XY_1Y_2$ . Situação semelhante foi descoberta entre os roedores *Gerbillus* nos quais foi observada a existência de dois mecanismos de cromossomos sexuais, em duas espécies parcialmente simpátricas. Em ambas as espécies, o cromossomo X é do tipo composto, resultado da adição de material autossômico, o qual está também respectivamente representando no cromossomo Y delas. No entanto, em uma das espécies, o X recebeu material autossômico de origem diferente, levando a uma constituição cariótica sexual: machos  $XY_1Y_2$ , fêmeas XX, enquanto que a outra espécie, continuou sendo machos XY, fêmeas XX, apesar do extenso rearranjo estrutural destes cromossomos sexuais (WAHRMAN, 1983).

Para finalizar, deve-se descrever a situação particularmente interessante descoberta em 1966 por dois biólogos finlandeses, KALELA e OKSALA, os quais observaram que determinadas fêmeas do rato da madeira (*Myopus schisticolor*) produzem apenas crias femininas. Estudos posteriores, demonstraram que nas populações naturais destes animais, há três classes de fêmeas quanto as constituições dos cromossomos sexuais: XX,  $X^*X$  e  $X^*Y$ , além dos machos normais XY (FREDGA *et al.*, 1976). As fêmeas XX, quando cruzam com machos XY, produzem a proporção sexual normal esperada de dois machos: duas fêmeas. No entanto, as fêmeas  $X^*Y$ , portadoras de um gene que anula a ação do Y como determinador da masculinização, produzem apenas oogônias XX eliminando o Y da linha de células germinativas e duplicando o X por não disjunção. Estas fêmeas produzem apenas praticamente somente prole feminina. As fêmeas portadoras do  $X^*$  ( $X^*X$ ) resultantes, as quais possuem o gene mutante, quando acasaladas com um macho normal, produzem crias macho e fêmea numa proporção, três fêmeas: um macho.

Mais recentemente, citogeneticistas russos demonstraram que numa variedade ártica do mesmo roedor *Disrotomys torquatus*, também ocorrem fêmeas  $x^*Y$ . No entanto esta variedade difere da descrita anteriormente por produzir numerosas crias XY masculinas (cit. em SHORT, 1982). Portanto estes animais retiveram suas oogônias  $X^*Y$  e produziram oócitos  $X^*$  e  $Y$ , sendo eliminados apenas os zigotos  $YY$ .

Para tais sistemas serem estáveis evolutivamente, SMITH (1978) concluiu que a proporção sexual assim anormal, deve ser mantida a partir de um certo nível de endocruzamento parcial ou recorrente, resistindo à introdução de mutantes que levem à normalização da proporção sexual (SMITH and SENSETH, 1978).

O estudo destes animais pode ser de grande utilidade na descoberta dos mecanismos que levam à formação de mulheres XY, podendo ser estas também portadoras de um gene ou genes mutantes. No entanto estas mulheres são em geral estéreis, apresentando gônadas em fita, o que sugere que nelas as oogônias ainda não desenvolveram uma adaptação evolutiva que lhes permita sobreviver em ambiente testicular. A disgenesia gonadal XY é uma condição rara no homem. Os indivíduos afetados tem um cariótipo masculino normal 46, XY, mas são fenotipicamente mulheres com gônadas em fita e, conseqüentemente, imaturas sexualmente. A partir de estudos de "pedigrees", parece que uma herança autossômica dominante, além de uma característica ligada ao X, podem ser as causas da inibição da masculinização nestes indivíduos XY BULL, 1981).

Todas estas situações anômalas, bem como a diferenciação sexual de um embrião de mamífero, devem estar baseadas em um agente ou mecanismo muito específico e especializado, cuja função principal é direcionar a diferenciação gonadal primária a partir do sexo genético do embrião. Uma vez que a gônada se estabeleceu, como resultado do complexo interrelacionamento de agentes controladores, o restante da diferenciação sexual se torna mais compreensível, uma vez sendo estes passos mediados hormonalmente. JOST (1947) demonstrou, a partir de experimentos com gônadas fetais de coelhos que, sob a influência do cromossomo Y, a gônada se torna um testículo mesmo que tenha se originado de um embrião feminino. O testículo por sua vez, secreta andrógeno e um inibidor dos canais de Müller, responsáveis pelo desenvolvimento da genitália feminina; os ductos de Wolf, responsáveis pela genitália masculina no embrião indiferenciado sexualmente, são estimulados e o aparato genital externo é masculinizado. Pode-se então considerar que, hormonalmente, o sexo heterossômico é o dominante, prevalecendo sua determinação ante a uma ausência do indutor específico para o outro sexo.

Devido à importância lógica atribuída aos cromossomos sexuais da diferenciação sexual, procurar-se-à fazer um apanhado que já foi descrito a respeito dos genes mapeados nesses cromossomos e suas relações com o mecanismo diferenciador como um todo.

## O CROMOSSOMO X E A COMPENSAÇÃO DE DOSE

O cromossomo X, como já foi observado, é cromossomo de importância fundamental, e tal é reflectivo pelo grande número de loci que ele comporta proporcionalmente relacionado com o seu grande tamanho. Na sub-ordem Ophidea, o DNA satélite do cromossomo X das diferentes espécies teve suas sequências conservadas através de toda a sub-ordem (SINGH, 1976). OHNO (1964) propôs que o cromossomo X original de um ancestral comum dos mamíferos (o qual compreende cerca de 5% do genoma total) foi conservado *in toto* em todas as espécies divergentes de mamíferos atuais. Consequentemente, todos os genes ligados ao X do homem por exemplo, podem automaticamente serem ligados ao X de todas as outras espécies de mamíferos. Em seis espécies diferentes de roedores, estudos de bandeamento cromossômico mostraram que a porção conservativa do cromossomo X, eucromática, tem padrão de bandeamento idêntico em todas as espécies, enquanto que o padrão dos segmentos heterocromáticos constitutivos (não conservativa) mostrou ser característico de cada espécie em particular (SHARMA, 1981).

Tal característica de conservacionismo deve estar relacionada diretamente com o papel fundamental desempenhado pelos loci deste cromossomo, qual seja a diferenciação sexual. Hoje sabe-se, a partir da detecção de alguns mutantes e de técnicas de bandeamento cromossômico e autorradiografia em casos de fenótipos anômalos, que existe uma série de genes específicos do cromossomo X relacionados com a determinação sexual. Não encontraram-se no X os genes estruturais para o desenvolvimento sexual, parecendo terem sido concentrados apenas neste, os genes reguladores principais para o ato de determinação da diferenciação sexual.

A feminização testicular, conhecida nos bovinos, cães e homem, causa, em um indivíduo XY afetado, a total não resposta pelos tecidos extragonadais aos andrógenos produzidos pelos testículos. Estes tecidos, que irão produzir as características sexuais externas masculinas, não possuem a proteína receptora do andrógeno do citosol-núcleo, cuja expressão é controlada pelo locus Tfm do X (cit. em OHNO, 1979). Este locus tornou-se então o regulador principal do mecanismo de determinação sexual extragonadal ou secundária (OHNO, 1979).

Outro locus de importância crucial é o da fêmea XY, o qual foi descoberto no rato da madeira (FREDGA, 1976) e posteriormente relacionado com o caráter de digenesia gonadal das fêmeas XY. Tal locus, em cooperação com um gene ligado ao Y, controla a ação do agente responsável pela organização testicular, o antígeno H-Y. Este elemento será extensivamente comentado a seguir tendo em vista seu papel na masculinização embrionária. O locus controlador pertence, portanto, ao topo da hierarquia do sistema regulador que determina o sexo gonadal (primário). No rato da madeira (WINKING, 1981), observou-se que o locus XY é um mutante aparentemente associado com um rearranjo estrutural do braço curto do cromossomo X. BERNSTEIN (1980) detectou em um paciente com fenótipo feminino e cariótipo XY, um cromossomo X anormal. Através de técnicas de bandeamento ficou demonstrado

que o X anormal era resultante de uma duplicação da porção terminal do braço curto do X, a qual, supostamente, interferiu na expressão dos genes determinadores da masculinização do Y como efeito de posição da duplicação.

Enquanto que a maioria das espécies de mamíferos mantém seu cromossomo X com tamanho semelhante ao original, há espécies excepcionais nas quais houve acréscimo de material considerado supérfluo e que heterocromatinizou-se. Este processo, aumentou consideravelmente o tamanho desses cromossomos em relação aos demais mamíferos. No entanto, é interessante notar que o ganho de material heterocromático ocorre concomitantemente com um acréscimo proporcional no cromossomo Y. Tal é o caso do roedor gerbilus (WAHRMAN, 1983) no qual o ganho de material pelos cromossomos sexuais está relacionado com um modelo evolucionário adaptativo das espécies deste grupo.

No caso do rato da madeira, no qual ambos os X, tanto o normal quanto o portador de uma mutação inativadora da ação masculinizante do Y, X\*, (FREDGA *et al.*, 1976), foram observados diferirem quanto ao padrão de bandas-G do braço curto. Além do mais, o X\* tem o braço curto menor que o X. Portanto a variação estrutural do braço curto do X\* afeta o segmento com o gene mutado, o qual no X normal é responsável pela ação determinadora da masculinização do Y (HERBST, 1978).

Ainda quanto a mutação Sxr, responsável pela reversão sexual em fêmeas de camundongos (CATTANACH, 1971), foi descoberto recentemente consistir de uma secção duplicada do material do cromossomo Y, a qual foi translocada para a porção distal de um X durante a meiose masculina (SINGH and JONES, 1982).

O acentuado dimorfismo entre os cromossomos sexuais (refletido na maior quantidade de informação contida no cromossomo X em relação ao Y), tornou necessário, durante o processo evolutivo destes cromossomos nos mamíferos, que fosse criado um mecanismo de equilíbrio entre a quantidade de informação contida no cromossomo X único carregado pelo macho e nos dois X da fêmea. Este balanço, melhor dito, esta compensação de dose como é conhecido tal mecanismo, é feita através da inativação de um dos cromossomos X das fêmeas (LYON, 1961). Através deste processo de inativação, as fêmeas suprimem a expressão da maioria dos genes de um de seus cromossomos X nas células somáticas. A decisão sobre qual dos X, o de origem paterna ou materna, é inativado, em geral, ocorre ao acaso. Uma vez feita a escolha, em um estágio precoce do desenvolvimento embrionário, toda a linhagem celular descendente terá o mesmo padrão de inativação, pois o estado de cada homólogo é fielmente reproduzido a partir da célula original. OHNO (1967) estimou que o número de células embrionárias no momento da decisão é em torno de 60, o que corresponderia ao momento logo após o estágio de blastocisto. KRATZER (1982) comparando o momento da inativação de duas linhagens de camundongo, observou que o momento da inativação era dependente do estágio de desenvolvimento morfológico ou da diferenciação dos tecidos e não da idade do embrião per si.

O padrão casual de inativação do X pode ser observado pela expressão de genes limitados ao sexo em um animal adulto. Um bom exemplo de tal fenômeno é o gato

malhado cuja pelagem é um mosaico de pêlos pretos e amarelos. O pêlo preto é produzido por um gene "B" dominante, enquanto que o amarelo por seu alelo recessivo "b". O gene é ligado ao sexo no cromossomo X e a fêmea pode exibir ambas as cores na sua pelagem, conforme sua herança X materna e paterna, dando a típica pelagem malhada. No entanto, quando ocasionalmente ocorre um gato com este padrão de pelagem, ele pode tanto ser um macho estéril cujo cariótipo é XXY, quanto ser fértil com uma mistura de células XX e XY ou duas populações de células XY diferentes, sugerindo que tal animal é uma verdadeira quimera, surgida a partir, por exemplo, da fusão de dois ovos fertilizados e de genótipos distintos (SHORT, 1982).

No entanto, esta regra de inativação nem sempre é tão rígida havendo várias exceções como as que seguem:

Dentre os cangurus, parece que o cromossomo X de origem paterna é preferencialmente inativado na maioria dos tecidos somáticos, ocorrendo o mesmo com a mula, onde o cromossomo X do pai jumento é preferencialmente inativado em relação ao da mãe, égua (SHORT, 1982). No rato e no camundongo há evidências de inativação do cromossomo X de origem paterna em certos tecidos embrionários como o endoderma do saco vitelínico, ectoderma coriônico e trofoblasto. Isto parece ocorrer devido ao cromossomo X de origem paterna ser "marcado" de alguma maneira durante a gametogênese masculina ou na fecundação, causando uma inativação primária não casual do X em tecidos que se diferenciam mais precocemente como o trofotoderma ou o endoderma primitivo (a partir do qual o endoderma do saco vitelínico é derivado (FRELS e CHAPMAN, 1980; PAPAIOANNOU e WEST, 1981).

Uma vez ocorrida a inativação, a seleção irá promover a linhagem em que as células se dividem mais rapidamente e/ou são mais viáveis. A linhagem de maior sucesso é aquela geneticamente mais bem equilibrada (balanceada). Assim, em indivíduos com um cromossomo anormal, constituído de material do cromossomo X, este é preferencialmente inativado. Quando há uma translocação X/autossomo, não balanceada, todo o cromossomo translocado é inativado se o segmento autossômico está ligado ao braço curto do X; caso esteja ligado ao braço longo, a inativação parece limitar-se ao segmento X. No caso de translocação recíproca balanceada, X/autossomo, quase sempre X normal é inativado, evitando assim os efeitos mais graves da inativação de alguma porção do autossomo. A maioria dos indivíduos portadores de tais anomalias cromossômicas sofrem de disgenesia gonadal, a qual pode ser reflexo tanto de uma hemizogose funcional para um gene recessivo, como por efeito de posição. Em humanos, KAZANOVI, (1981) e RASTAM (1983) observaram a inativação preferencial de um cromossomo anômalo envolvido em um rearranjo X/autossomo (RASTAM, 1983).

Em casos de translocação X/X balanceada, o cromossomo translocado é preferencialmente inativado. Na maioria destes indivíduos é observada uma linhagem celular XO.

A observação de diferentes padrões de inativação resultantes de alguns rearranjos

cromossômicos, levou THERMAN e PATAU (1974) à conclusão de que existiria um centro de inativação, o qual estaria situado em algum ponto definido do X, controlando a sua inativação. BOROVIK e BRUNONI (1981) localizaram o Xce (centro de inativação do X) no segmento Xq11 Xq13 do braço longo do cromossomo, o que corresponde à região Q escura, próxima ao centrômetro em Xq, em humanos.

Cabe aqui observar também que nos casos de mulheres com mais de dois cromossomos X, tais como 47,XXX ou 48,XXXX, ou homens com mais de um X, sendo 47,XXY ou 48,XXXY, todos os X "extras" são inativados. Tal compensação de dose ao lado de um cromossomo X que contém o dobro de complemento genético, explica porque as monossomias e as trissomias deste cromossomo são compatíveis com a vida e desenvolvimento do indivíduo, enquanto que nos demais autossomos são em geral letais. YADAV (1982) descreveu o caso de uma fêmea de búfalo "Murrah" com trissomia de X a qual, apesar de ter problemas de fertilidade, reproduziu-se por duas vezes. A sua única anomalia era um ovário diminuto, sendo o outro normal. PINHEIRO *et al* (in press) detectaram uma fêmea de raça Pitangueiras a qual era portadora de uma translocação 1/29 além de trissomia do cromossomo X. Esta fêmea tinha genitália externa feminina normal, embora a interna parecesse de um animal pré-púbere. Também este animal, após ser devidamente estimulado com hormônio folículo estimulante (FSH), produziu um bezerro, tendo este a constituição cromossômica 61, XXY.

Um caso particular de ausência de compensação de dose são as células germinativas onde tal mecanismo não atua. Embora a inativação do X pareça ocorrer nas células germinativas primordiais, segue-se a reativação, de maneira que ambos os cromossomos X são funcionais nos oócitos (ANDINA, 1978; GARTLER *et al*, 1980; JOHNSTON, 1981; KRATZER e CHAPMAN, 1981; Mc MAHNON *et al*, 1981; MONK e Mc LAREN, 1981; cit. em VANDERBERG, 1983). Nos camundongos, JOHNSTON (1981) mostrou que o momento da reativação do X das células germinativas femininas ocorre no instante que elas entram em meiose ou algo antes. A ausência da compensação de dose na linhagem de células germinativas poderia explicar porque as mulheres XO e os homens XX são inférteis (SHORT, 1982). Contudo, conforme já foi observado, os indivíduos XO, apesar de inférteis devido à disgenesia gonadal, e de apresentarem uma gama de mal-formações físicas, são capazes de sobreviverem e até serem viáveis. Entre os camundongos, as fêmeas XO embora tenham um período reprodutivo mais curto, são férteis. Este período mais curto de vida reprodutiva é causado pela exaustão precoce dos ovários e pelo tamanho menor destas gônadas, reflexo do número reduzido de gametas resultantes das células germinativas primordiais (CATTANACH, 1962). O caso humano e dos camundongos é semelhante, e a comparação dos sintomas sugere apenas diferenças quantitativas e não qualitativas entre as espécies (DECKER, 1981). Mc LAREN e MONK (1982) descobriram que, em camundongos XX portadores do gen Sxr (localizado nas extremidades dos cromossomos sexuais X) nas células germinativas femininas, ele não

interfere na oogênese. Esta situação parece ser semelhante à observada em *Drosophila* (cit. em Mc LAREN, 1982) onde o locus determinador sexual mutante não afetou o desenvolvimento das células germinativas quando estas, provenientes de um embrião portador da mutação, eram transportadas para tecido gonadal de embrião normal. Este fenômeno então de fertilidade das fêmeas portadoras de gene mutante, estaria ligado ao fato de que, o locus Sxr — uma porção duplicada de material do cromossomo Y translocada à porção terminal do cromossomo X (SINGH e JONES, 1982) encontrar-se-ia no cromossomo X, o qual é preferencialmente inativado. BUOEN (1983) descreveu uma égua com a condição XO, a qual tinha histórico de infertilidade e disgenesia gonadal, o que foi também descrito por NORBY *et al* (1974) em gatos XO. No entanto, nestes gatos foram obtidos oócitos foliculares quatro dias após o nascimento, aparentando então que, assim como nos camundongos, tal condição não leva a infertilidade, talvez por eles atingirem a maturidade sexual num período de tempo mais curto. Possivelmente este fenômeno de exaustão das células gaméticas durante a vida fetal seja bastante comum dentre os mamíferos, sendo o responsável pela ampla variação quanto a fertilidade dos animais domésticos, tais como os bovinos.

A inativação do cromossomo X pode ser observada a nível celular pela formação de uma massa densa de cromatina sexual, formando o Corpúsculo de Barr o qual corresponde ao X heterocromático. A heterocromatização não é, entretanto, completa (Mc KUSICK, 1973 cit. em SHAPIRO *et al*, 1979).

THERMAN *et al* (1976) estudando um cromossomo X isodicêntrico (Xp-) chegou à conclusão de que a região b, próxima ao centrômero e ao centro de inativação no Xq nunca é inativada, permanecendo atuante e portanto distendida, enquanto que o resto do cromossomo formava um Corpúsculo de Barr bipartido. Um exemplo de gene que permanece sempre ativo em ambos os X, é o responsável pela esteróide sulfatase, o qual foi mapeado numa área de replicação precoce do cromossomo X inativo. Este gene localiza-se na região terminal do braço curto do X humano (Xp22 + Xpter) a qual é uma exceção por escapar à inativação (SHAPIRO e MOHANDAS, 1983). Recentemente, a partir de um caso animal de translocação X/15 foi obtida evidência para a presença de uma região ativadora no X pter do homem (CROCKER, 1985).

KEREN (1983), através de técnicas de tradução interrompida (nick translocation) *in situ*, em cromossomo X de *Gerbilus*, demonstrou que este cromossomo tem regiões de replicação precoce, as quais podem ser relacionadas com atividade gênica, cit. em SCHMIDT (1984). Este autor com técnicas de incorporação de timidina, demonstrou que há variantes na replicação do cromossomo X inativado entre diferentes indivíduos humanos, tendo chegado à conclusão de que o período de início de síntese de DNA dentro do cromossomo X inativo é estável. O tempo de terminalização, entretanto, variou consideravelmente em relação aos outros cromossomos. Esta taxa de replicação variável do X inativo acredita-se ser a responsável por sua replicação assíncronica independente.



## O CROMOSSOMO Y E O ANTIGENO H-Y

Por muitos anos, o cromossomo Y foi considerado inerte ou quase totalmente inerte. No entanto, tal cromossomo, apesar de seu tamanho diminuto, é altamente potente na determinação da masculinização de um embrião cujas gônadas ainda encontram-se em um estágio indiferenciado. Na sua ausência, o indivíduo quase invariavelmente é uma fêmea, enquanto que na sua presença os indivíduos desenvolvem-se como machos, independentemente de quantos cromossomos X estejam presentes. Os casos que fogem a esta regra geral já foram expostos anteriormente, isto é, os machos XX e as fêmeas XY. Estes casos anormais, como foi observado, podem ser causados por diversos mecanismos, os quais levam a uma condição anômala dos cromossomos sexuais, o que pode-se refletir num grau maior ou menor de aberrações fenotípicas de seus portadores. No entanto, convém ressaltar novamente os casos em que as fêmeas XY é já um fenômeno estabilizado e normal, dentre certas espécies como rato da madeira (FREDGA, 1976).

A grande pobreza de genes do cromossomo Y (OHNO, 1967), pode ser bem sentida pelo seu pequeno tamanho e ainda pelo fato de que seu braço longo é constituído de heterocromatina constitutiva. Esta última característica é a responsável pelo caráter altamente fluorescente deste cromossomo, quando empregadas técnicas específicas de coloração (dihidrocloridoquinacrina). A região fluorescente do cromossomo Y pode ser muito variável em tamanho entre os indivíduos, o que determina seus padrões diferentes, enquanto que a região não fluorescente é estável. Como a fluorescência reflete material heterocromático, considera-se que esta região seja geneticamente inerte, e as variações existentes são portanto toleráveis (SOUDECK, 1976). Nesta região foram mapeadas porções de DNA repetitivo, algumas das quais satélite (EVANS, 1974). No entanto, há excreções as quais serão consideradas posteriormente.

Na verdade, nota-se uma tendência evolutiva regressiva no Y dos mamíferos, com conservação somente dos genes determinadores da masculinização, tendo sido os demais eliminados ou translocados para autossomos a partir de rearranjos cromossômicos (BASRUR, 1969).

Os poucos genes que o cromossomo Y é portador, dentre os quais merece destaque o responsável pelo antígeno H-Y que será discutido a seguir, encontram-se em uma área relativamente restrita em torno do centrômero.

Com relação ao conhecido antígeno H-Y, sua história (descoberta, função e implicações) é relativamente recente. EICHWALD e SILMSER (1955) descobriram a existência de um antígeno específico masculino, o qual causava rejeição dos enxertos de pele feitos de machos para fêmeas dentro de linhagens con-sanguíneas. HAUSCHKA (1955) na mesma época, suspeitou da relação deste antígeno com o cromossomo Y dos machos. Evidência direta de que tal era verdadeiro veio a partir de estudos serológicos utilizando-se células pancreáticas de fêmeas XO ou XXY, as quais eram inoculadas em

fêmeas normais. Subsequentemente, estas receberam células pancreáticas de machos normais isólogos. Verificou-se então que nas fêmeas normais inoculadas com células XO, a produção de anticorpo era semelhante àquela produzida pelas fêmeas normais, enquanto que nas que receberam células XXY a produção de anticorpos foi significativamente mais baixa. Resultados semelhantes foram obtidos quando as fêmeas eram sensibilizadas por machos normais (CELADA e WELSHONS, 1963). Prova direta de que a expressão do antígeno masculino, ou antígeno H-Y, está relacionada com o cromossomo Y, foi obtida pela observação de que os teratomas que retêm este antígeno, enquanto que alguns que perdem-se, não o expressam mais (BUNKER, 1966). No entanto, não ficou claro, e até hoje permanece a dúvida, se tal gene para o HY é regular ou estrutural.

O mapeamento do cromossomo Y, com relação aos fatores determinantes da masculinização, foi obtido através do estudo de aberrações estruturais envolvendo este cromossomo e suas relações com características fenotípicas assim determinadas. Estes estudos envolveram desde indivíduos plenamente normais quanto ao aspecto fenotípico masculino ou feminino, até indivíduos com alterações morfológicas mais severas inclusive sinais de Turner ou completa reversão sexual (ANGELL, 1970; SIEBERS, 1973; SOUDECK, 1976; KOO, 1977; NARAHARA, 1978; ROSENFELD, 1979; BUYS, 1979; TURLAU, 1980; MOREIRA FILHO *et al.*, 1979, 1980, 1981). MATTEI (1979) afirmou que a região justacentromérica do braço curto do Y humano está envolvida com o fator da diferenciação testicular, enquanto que a região justacentromérica do braço longo, com o fator de maturação testicular. A partir de estudos sobre níveis de H-Y em indivíduos com deleções do braço curto do Y (Yp-) ou Y dicêntrico, PONZIO (cit. em BÜHLER, 1980) confirmou a localização dos genes responsáveis pela produção deste antígeno em um segmento do braço curto proximal do Y humano.

Por fim, ficou claro que o antígeno masculino, determinado geneticamente pelo cromossomo Y, é o responsável pela formação do testículo, cabendo aos hormônios masculinos o desenvolvimento das características sexuais secundárias. Além disto, sua expressão ou repressão não é afetada pela alteração hormonal em machos e fêmeas sendo sua presença diretamente relacionada à existência ou não do Y no embrião (GASSER, 1972). NAGAI e OHNO (1977) declararam que "a posse do Ag H-Y é a razão de ser do cromossomo Y dos mamíferos".

MITTWOCH (1977) baseado no grande conservadorismo evolutivo do Ag H-Y, propôs que tal poderia influir na taxa de desenvolvimento da gônada do sexo heterogamético, tanto de aves como de mamíferos, num estágio crítico do desenvolvimento embrionário. Isto ocorreria através de um sistema semelhante à influência externa que a temperatura tem sobre a determinação sexual primária em alguns peixes e anfíbios (cit. em EPSTEIN *et al.*, 1980). A hipótese é então que, um gene (ou genes) no cromossomo Y codifica para o antígeno H-Y antes do momento da diferenciação gonadal sexual em embriões de até oito células, como foi verificado em camundongos (KRICO e GOLDBERG, 1976), sendo portanto independente de ação de andrógenos (BENNET *et*

al, 1975). A presença do antígeno H-Y nas células gonadais resulta em diferenciação testicular (talvez sendo este uma consequência necessária da expressão em ambiente materno, como no caso dos eutérios).

Antígenos específicos de transplante foram demonstrados sem dúvida em linhagens isogênicas de camundongos, ratos, coelhos e peixes (platyfish), havendo ainda evidências de um antígeno correspondente específico feminino H-W em linhagens isogênicas de aves (WACHTEL, 1982).

Ficou estabelecido então que a ocorrência deste antígeno, tremendamente conservado evolutivamente no sexo heterogamético, tanto nos mamíferos como em outras classes animais, deveria estar relacionada com a função básica da determinação sexual (SILVERS *et al*, 1968; OHNO *et al*, 1976, 1977; SILVERS e WACHTEL, 1977; OHNO *et al*, 1978). A aproximação maior foi estabelecida pela observação de que em mamíferos a presença do H-Y estava diretamente relacionada com o desenvolvimento testicular (WACHTEL, 1977). Na verdade, parece que a expressão do gene do antígeno H-Y antes que a presença do cromossomo per si é crucial para a determinação do sexo masculino nos mamíferos. Tal foi observado através de observações de indivíduos que desenvolveram testículos ou tecido testicular sem no entanto possuírem o cromossomo Y. Este é o caso das fêmeas Sxr do camundongo, as quais tem constituição XX (BENNET *et al*, 1975); de vários casos em que há uma expressão variável da masculinização em homens XX (WACHTEL, 1976a) e, em especial, as espécies do mole vole (MATTHEY, 1964; CASTRO-SIERRA e WOLF, 1968) em que ambos os sexos são Xo, mas só o macho expressa o antígeno H-Y (NAGAI e OHNO, 1977). Nas cabras hermafroditas, homozigotas para o gene recessivo mocho, foi também detectada a presença do antígeno. Curiosamente, as mães heterozigotas para o carácter mocho e as fêmeas normais, apresentam um nível baixo mas presente de Ag H-Y (WACHTEL, 1978). SELDEN (1978) detectou situação semelhante dentre os cães ao encontrar que caezinhos machos XX e as suas respectivas mães eram Ag H-Y positivos. Este antígeno foi também detectado em fêmeas camundongas XY com a síndrome de feminização testicular, bem como nos machos XXY, mas não nas fêmeas XO (CELADA e WEHLSONS, 1963). Em humanos estudos em homens 46,XX, os quais se assemelham a indivíduos com síndrome de Klinefelter, foi também detectada a presença do Ag H-Y (DESIK, *et al*, 1976).

A situação contrária em que os indivíduos são XY e não expressam o antígeno, desenvolvendo-se como fêmeas, também é observada e incluem o lemming da madeira (WACHTEL, 1976b) e alguns casos humanos (GHOSH, *et al*, 1978a e b). Resultado surpreendente entretanto foi detectado em uma égua fértil, a qual tinha um cariótipo XY e era Ag H-Y positivo (SHARP, 1980). Este caso reforçou as observações de que o antígeno estando presente não impede a fertilidade feminina podendo, neste caso, ter havido uma mutação no gene regulador ou estrutural do antígeno impedindo-o de ser funcional.

Em vista destas observações e de muitas outras considerações e de muitas outras considerações em casos humanos com expressão ou não de antígeno, independente-

mente da formação de testículos ou não, condizente com seu cariótipo XY, as aplicações clínicas da tipagem de H-Y devem ser limitadas a estas observações (JONES, 1979).

Cabe aqui descrever o caso particular dos bovinos, qual seja o freemartin em que a fêmea de um macho nasce masculinizada. Até a descoberta do Ag H-Y não havia uma explicação clara de como ocorreria a transformação, tendo tal sido esclarecido ao ser detectado o antígeno no soro de animais freemartin recém nascidos (OHNO *et al*, 1976). Assim parece lógico concluir que a masculinização inicial da gônada feminina poderia ser devido à presença do Ag H-Y circulante detectado, o qual foi secretado pelo testículo do feto macho. Isto foi também constatado por WACHTEL *et al* (1980), a partir de dados serológicos e anatómicos em cinco fetos freemartin. Eles concluíram que a masculinização inicial da gônada freemartin poderia ser induzida pelo H-Y secretado no testículo do feto masculino, transportado na circulação comum e ligado em receptores específicos do sexo feminino, considerando que o H-Y secretado por células de Daudi pode induzir a arquitetura testicular em gônada XX indiferenciadas de bovino fetal *in vitro* (WACHTEL, 1982). Estas observações não excluem a possível produção a partir de células XY quiméricas, as quais secretariam o antígeno. Este elemento, assim disseminado pelas células gonadais XY, pode funcionar como um hormônio de curto alcance e induzir células gonadais XX vizinhas a propiciarem organogênese testicular. Este fenômeno ficou bem claro em gônadas quiméricas de camundongo (OHNO, 1978) e pode ser a explicação de alguns casos de machos XX em que uma população sub-crítica de células XY foi suficiente, a nível gonadal, para determinar a diferenciação de tecido testicular nestes indivíduos. No entanto surge aqui uma dúvida sobre a circulação deste antígeno qual seja: se tal é uma ocorrência geral dentre os mamíferos, porque em sagüi (GENGOZANI, 1971) nunca ocorre masculinização da fêmea com extenso quimerismo XX/XY nas células sanguíneas, embora o mesmo sistema de anastomose seja mantido. Para BOUTERS e VANDERPLASSCHE (1972) o importante seria o momento da anastomose. Ocorrendo antes da diferenciação gonadal, o gêmeo feminino teria as gônadas masculinizadas, se depois, não haveria efeitos.

Finalmente todas estas observações levam a várias hipóteses sobre os mecanismos da ação do Ag H-Y, o qual seria aparentemente gônado-específico. No entanto, um aspecto de grande importância para a sua ação é a existência dos receptores de membrana celular. A expressão do Ag H-Y é macho específica, estando em geral presente em todas as células do organismo masculino. No entanto, a expressão do receptor de membrana é restrita aos tecidos gonadais, mas de ambos os sexos (OHNO, 1980). A distribuição global do antígeno H-Y no corpo masculino seria atribuída a uma expressão geral também do receptor. Ainda mais importante, uma vez constatado que este antígeno pode dirigir a formação de testículo *in vitro*, a partir de uma gônada indiferenciada feminina, a presença deste receptor específico de masculinização parece ser comum a ambos os sexos (MÜLLER, 1978a). Este esquema de determinação sexual foi descrito por NAGAI (1979) o qual denominou-o "um

exemplo maravilhoso de economia regulatória na organogêne". Na verdade, o antígeno poderia utilizar-se de um sítio de transporte ou ancoragem da membrana, a partir do qual ele ficaria livre para ir e vir. OHNO (1977) sugere que as moléculas dímeros de  $\beta 2$ -microglobulina seriam fortes candidatos a esta função.

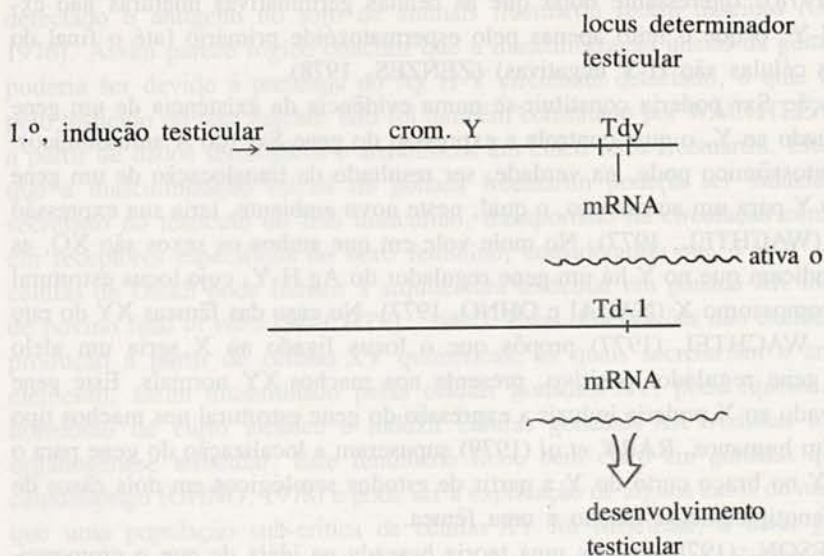
A partir de experimentos de MÜLLER (1978b) parece que a secreção do antígeno H-Y é feita apenas pelo testículo, mais precisamente pelas células de Sertoli (ZENZES, 1978). Interessante notar que as células germinativas imaturas não expressão o H-Y, o que é feito apenas pelo espermatozóide primário (até o final do paquíteno as células são H-Y negativas) (ZENZES, 1978).

A mutação Sxr poderia constituir-se numa evidência da existência de um gene regulador ligado ao Y, o qual controla a expressão do gene Sxr (do X autossômico). Este gene autossômico pode, na verdade, ser resultado da translocação de um gene estrutural do Y para um autossomo, o qual, neste novo ambiente, teria sua expressão constitutiva (WACHTEL, 1977). No mole vole em que ambos os sexos são XO, as evidências indicam que no Y há um gene regulador do Ag H-Y, cujo locus estrutural estaria no cromossomo X (NAGAI e OHNO, 1977). No caso das fêmeas XY do rato da madeira, WACHTEL (1977) propôs que o locus ligado ao X seria um alelo mutante do gene regulador positivo, presente nos machos XY normais. Este gene regulador ligado ao X poderia induzir a expressão do gene estrutural nos machos tipo selvagem. Em humanos, RARY *et al* (1979) supuseram a localização do gene para o antígeno H-Y no braço curto do Y a partir de estudos serológicos em dois casos de iso-Y: um fenotipicamente macho e uma fêmea.

THOMPSON, (1978) propôs uma teoria baseada na idéia de que o cromossomo Y era originalmente homólogo ao cromossomo X, tendo-se diferenciado através da evolução, enquanto que o X permaneceu estável. Assim ele propôs que ambos os cromossomos continham originalmente operons do Ag H-Y, sendo que o operon ligado ao Y perdeu seu elemento controlador negativo, passando a produzir o antígeno constitutivamente. Evidências recentes revelam que tal teoria poderia estar correta como a obtida por GOODFELLOW (1984). Este pesquisador demonstrou a existência de um gene no ápice do braço curto do cromossomo X humano (STE), o qual teria seu homólogo no cromossomo Y. (WACHTEL 1982), após extensiva revisão sobre a localização dos genes determinadores do antígeno H-Y, acredita que pelo menos dois ou, possivelmente, três genes responsáveis pela síntese de Ag H-Y encontram-se na região paracentromérica do Y humano e outro no braço curto do X, havendo talvez mais outro locus ainda, este num autossomo indefinido.

EICHER e WASHBUNN (1983) evidenciaram a possibilidade da existência de um gene estrutural para o H-Y no cromossomo Y, a partir de um esquema que demonstra o envolvimento de um locus dito indutor testicular na determinação e diferenciação gonadal. A localização cromossômica deste locus não foi precisa, mas ele parece influenciar diretamente sobre o locus da formação testicular. Além disso, ambos os genes deste modelo (Tdy e Td-1, respectivamente) podem representar genes estruturais para o antígeno H-Y.

Os autores propõem então o seguinte esquema para o desenvolvimento gonadal masculino embrionário:



## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Se uma dada molécula indutora é o produto de uma célula indiferenciada particular, então qualquer evento acionado por ela pode ser considerado como um indutor precursor. Assim, um evento diferenciativo induz a outro e a ontogenia pode ser considerada como uma cascata de passos diferenciadores, o final da qual é o organismo completo. Segue-se daí que o indutor do testículo começa com um espermatozoide fecundante, possuidor do cromossomo Y. Portanto é graças à presença de genes reguladores principais, que pode-se entender o mecanismo da determinação sexual dos mamíferos bem mais claramente que nos vertebrados inferiores ou o operante nos insectos. Nos anfíbios e peixes pode haver reversão sexual da larva por hormônios esteróides, revelando um mecanismo muito lábil e de grande influência ambiental (OHNO, 1979). Por outro lado, nas aves embora o antígeno H-W seja característico do sexo heterogamético feminino, também os machos parecem expressá-lo, entretanto em níveis mais baixos (OHNO, 1979). Esta característica revela uma situação não tão bem definida e consistente do antígeno como agente direto da diferenciação da gônada heterogamética, mostrando ainda que este antígeno está sob controle de outro gene adicional.

Tudo isto pode estar contribuindo para o fato de que em aves só se desenvolve o ovário esquerdo, ficando a gônada direita indiferenciada. Caso a esquerda seja removida, a direita será reativada e desenvolver-se-à em um testículo e o fenótipo da ave tornar-se-à masculinizado (OHNO, 1979). É possível que nas aves haja uma produção constitutiva do antígeno H-W durante o desenvolvimento do embrião feminino, sendo o seu nível mais elevado que em aves adultas, induzindo assim por um limiar, a formação do ovário. No animal nascido, o nível de H-W é apenas basal não sendo capaz de promover a indução do outro ovário, possibilitando à gônada indiferenciada desenvolver-se normalmente em um testículo, talvez ajudada também pela ausência de hormônios produzidos pelo ovário.

Conforme foi comentado anteriormente, a viviparidade constitui um sistema genético bem mais seguro de determinação sexual gonadal. Se o mesmo fenômeno de reversão sexual pudesse ser feito entre os mamíferos, de forma que um testículo

produzisse apenas espermatozoides X, o fenômeno seria excelente para a pecuária e para muitas espécies de animais ameaçados de extinção. Assim o número de fêmeas produzidas numa única geração garantiria o futuro da espécie e o interesse comercial de um produtor de leite, por exemplo. Entretanto ficou bem claro que células germinativas femininas (com a constituição cromossômica XX ou mesmo as XXY) não são capazes de sobreviverem em ambiente masculino (OHNO, 1979), embora alguns autores tenham constatado o oposto. Por exemplo, TEPLITZ *et al* (1967) determinaram espermatogônias com a constituição XX em um bovino com quimerismo cromossômico 60, XX/60, XY. Por sua vez VALE FILHO *et al* (1983) também detectaram espermatogônias XX no testículo de bovinos pré-púberes, co-gêmeos de fêmeas freemartin. A partir disto, pode-se inferir que as células germinativas XX podem sobreviver em ambiente testicular aparentemente sofrendo reversão sexual e transformando-se em espermatogônias. Entretanto todas estas espermatogônias estariam fadadas a degenerarem por motivos intrínsecos a elas, como sua condição XX, ou extrínsecos, com o ambiente testicular, desconhecidos.

A hipótese sobre a localização do gene estrutural ou regulador dos elementos responsáveis pela diferenciação sexual dos mamíferos, permitem uma série de possibilidades sobre a localização destes loci no cromossomo X e Y. O certo é que a presença do antígeno H-Y em um embrião cujas gônadas encontram-se ainda indiferenciadas, dirigirá a formação de testículos. Na sua ausência as gônadas tornar-se-ão ovários.

A diferenciação sexual ocorre em estágio bem precoce da vida embrionária, sendo que a determinação masculina é anterior à feminina, pelo início de expressão de antígeno H-Y no embrião macho. O passo seguinte, a gametogênese dentro destas gônadas já diferenciadas, é então marcadamente defasada entre machos e fêmeas. Enquanto que nos embriões femininos as células germinativas entram em meiose durante este período e permanecem em dictióteno até a puberdade, no macho é na fase puberal que as células germinativas principiam a meiose e completam este processo até o resultado final do espermatozoide. Outro aspecto caracteristicamente diferente na gametogênese masculina e feminina é o fato de que as células germinativas XX, em um embrião feminino, mantêm ambos os seus X funcionais, enquanto que as masculinas desativam seu único X ao entrarem em meiose (MONESI *et al*, 1978), formando, juntamente com o cromossomo Y — também desativado —, a vesícula seminal. Há entretanto uma diferença no tempo de inativação entre os mamíferos eutérios e metatérios: enquanto que nos eutérios a inativação ocorre no leptoteno (MONESI *et al*, 1978), nos metatérios os cromossomos X e Y tornam-se heteropicnóticos pouco mais tarde, durante o paquíteno (SHARP, 1982).

Mais recentemente, WACHTEL (1982) propôs a existência de um indutor ovariano, o qual seria a contrapartida do antígeno H-Y em um embrião feminino. Supondo que o gene estrutural deste elemento estivesse localizado no cromossomo X e regulado por algum locus do Y (como especula-se ocorrer com o H-Y), poder-se-ia supor um interrelacionamento entre a inativação e ativação dos cromossomos X e a expressão destes agentes determinadores sexuais, partindo-se da seguinte hipótese: as células



germinativas femininas necessitam de ambos os cromossomos X ativos para sua manutenção durante o longo período de "latência" a que são submetidas. No macho, o único X existente deve ser inativado no momento em que a célula germinativa entra em meiose pois, caso contrário, na ausência do Y regulador, o X poderia produzir componentes tipicamente femininos e assim de alguma forma afetar a gametogênese. Deve-se mencionar que é bastante discutível qualquer tipo de ação gênica durante a gametogênese.

Tal parece consistente com os mecanismos de gametogênese do "creeping vole" *Microtus oregoni*, o qual dispensa o seu X apenas na linha de células germinativas masculinas, enquanto que nas fêmeas ambos são mantidos (OHNO, 1966). O mesmo é válido para o bandicoot *Isodon obesulus* (HAYMAN e MARTIN, 1965), no qual, tanto o macho como a fêmea são XO, enquanto que as células germinativas femininas mantêm os dois X, bem como as masculinas o Y além do X. Portanto, parece que nos machos, para haver diferenciação sexual normal, é essencial a presença do Y, enquanto que nas fêmeas, é a presença dos dois X. Concordante com isto são as pessoas com a síndrome de Turner, as quais apresentam disgenesia gonadal, cujas células germinativas morrem precocemente, possivelmente devido à uma falha delas de se manterem. No entanto, nos casos das fêmeas XO de camundongo e no caso descrito dos gatos, a ocorrência de oócitos viáveis nos ovários dos animais já nascidos e até a fertilidade das camundongas, pode ser devido a uma maior resistência dos oócitos ou ainda, aqueles que sobreviverem, são os que entraram por último em meiose durante a gametogênese. Tal estaria de acordo com o reduzido número deles observado nestes ovários e com o período reprodutivo mais curto verificado nestas fêmeas. Interessante notar que, em camundongos, as células germinativas XO podem se desenvolver tanto em oogônia como espermatogônia, dependendo do ambiente gonadal em que elas se encontram (SHORT, 1982). Parece então que, para o espermatozóide ser formado, o fundamental é inativar o X (a sua ausência não faria falta a nível gamético, produzindo um espermatozóide O e a partir dele um zigoto XO). Além disto, parece que a célula germinativa masculina tem capacidade de inativar apenas um cromossomo X, uma vez que, somente em casos de camundongo XXY os quais perderam um X na linhagem de células germinativas, há produção de espermatozoides viáveis originários de células germinativas XY.

A reativação do X nas células germinativas femininas antes da entrada em meiose (JOHNSTON, 1981), mostra que o oócito necessita uma carga dupla de produtos deste cromossomo e tal se estende até o estágio de blastocisto. Talvez advenha desta necessidade o fato de que as portadoras de síndrome de Turner não são totalmente normais, pois elas não tem os dois cromossomos necessários para uma diferenciação feminina completa. Portanto, parece que nelas não houve o nível de produto(s)-X, suficiente para feminizar, o que, se estendido às gônadas, mostra porque elas degeneraram.

Nos mamíferos, as fêmeas homogaméticas levam vantagem sobre o sexo heterogamético, uma vez que elas, pelo mecanismo e inativação, podem anular o efeito de

anomalias e desenvolver um indivíduo se não perfeitamente normal, pelo menos viável. Nesta situação, um cromossomo X anormal pode ser propagado por várias gerações sem comprometer seu portador feminino, como no caso da hemofilia ao X no homem. Estes cromossomos X, estruturalmente anormais ou carregadores de algum gene deletério, podem ser inativados ou não, dependendo do caso. Em seguida as células sofrem um processo seletivo, levando vantagem aquelas que mantiverem ativo o X normal, desenvolvendo assim, na maioria das vezes, fêmeas viáveis. O mesmo jamais aconteceria com os machos, uma vez que eles possuem apenas um cromossomo X.

Nos machos, a produção do antígeno H-Y compesaria o embrião, num sentido regulador e direcionador da diferenciação sexual. Assim o embrião masculino, tendo antígeno H-Y, dirige a formação do testículo, o qual determina a involução dos primórdios femininos. Nos casos onde há a produção insuficiente do antígeno, ou algum problema envolvendo a sua ação, como receptores alterados ou moléculas inoperantes, haveria a formação de intersexos variando em fenótipo aparentemente normal até masculino, ambos com gônadas anormais. A etiologia de cada caso particular varia substancialmente. No entanto, parece fundamental que se houver desenvolvimento de tecido testicular, mesmo que em companhia de tecido ovariano, houve a presença do antígeno H-Y no embrião durante o momento da diferenciação sexual. O antígeno pode ser insuficientemente produzido por um gene regulador ou estrutural alterado, ou, conforme a teoria da existência de cópias múltiplas de genes para o H-Y (OHNO, 1967), alguns desse loci poderiam estar translocados para outro cromossomo. Neste novo meio então estes genes poderiam ser inoperantes (caso de algumas fêmeas XY) ou não (caso de machos XX). Este fenómeno, produzido possivelmente pelo efeito de posição dos genes nos novos rearranjos, levaria aos fenótipos anormais. Tal hipótese encaixa-se bem com o descrito anteriormente com respeito à inativação do X, pois dependendo qual dos X é inativado quando um deles é portador de uma translocação X/Y, o fenótipo sexual do indivíduo pode variar muito conforme os genes que estiverem envolvidos no rearranjo.

A partir do exposto, pode-se realmente reconhecer e considerar que o controle genético para a produção de reguladores, produtos ou até mesmo controles envolvidos em processos de ativação e desativação de centros intracromossômicos, é um processo fino e bem estruturado. Ele segue uma lógica sequencial, desde o passo mais fundamental, qual seja a determinação do sexo do zigoto ou sexo genético, até o fenótipo final do indivíduo. Conforme a ontogênese vai avançando, pode-se observar uma crescente interrelação e dependência entre si dos processos e pode-se notar também, a gradativa perda de especificidade dos mecanismos envolvidos.

A incapacidade aparente em identificar genes específicos engajados na determinação sexual pode ser atribuída à dificuldade de identificar maior número de mutantes nestes sistemas. Estes mutantes afetando a determinação sexual, iriam obviamente afetar directamente a adaptação reprodutiva e, portanto seriam severamente selecionados contra. Torna-se assim, difícil fazer-se uma análise genética controlada e sequen-

cial da etiologia e herdabilidade destas alterações ligadas ou não aos cromossomos sexuais.

A tão pregada origem comum dos cromossomos sexuais (THOMPSON, 1978), por um lado é vantajosa no sentido de elucidar mais facilmente a localização de genes específicos relacionados a ambos os cromossomos. Por outro lado, implica em um maior desconhecimento de como tais genes, idênticos originalmente, divergiram e evoluíram de maneira tão oposta ao ponto de, ao dirigirem processos antagônicos, fazem-nos de maneira cooperativa e harmoniosa, garantindo na grande maioria das vezes um produto perfeito.

Pode-se concluir então que a determinação sexual, apesar de ser um evento básico, elementar na formação de cada novo ser, possui ainda etapas desconhecidas de seus mecanismos, os quais, em conjunto, garantem o resultado final. Aparentemente todos esses passos intermediários estão ainda longe de serem entendidos em toda a sua extensão, interrelacionamento e complexidade. Certamente, os avanços nos últimos anos a cerca da fecundação e desenvolvimento embrionário *in vitro* e do antígeno H-Y, irão contribuir muito para o entendimento total deste processo e, possivelmente, permitir o controle e manejo do mesmo de maneira completa. Portanto, é interessante ressaltar e repetir a respeito da importância da detecção e análise profunda de todos os casos anômalos existentes. Esses casos, quando bem explorados utilizando-se de recursos técnicos como a tipagem de antígeno H-Y, poderão elucidar as etapas intrínsecas e ainda não esclarecidas da determinação sexual nos mamíferos.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLISON, J. E.; STANLEY, A. J.; GUMBRECK, L. G. (1985) "Male pseudohermafroditic rats". *Anat. Rec.* 153:85-86.
- ANGELL, R.; GIANELLI, F.; POLANI, P. E. (1970) "Three dicentric y chromosomes". *Ann. Hum. Genet. Lond.* 34:39-50.
- BASRUR, P. K.; KANAGAWA, H. (1969) "Anatomic and cytogenetic studies on 19 hornless goats with sexual disorders". *Ann. Genet. Animale* 1:349-378.
- BAVERSTOCK, P. R.; ADAMS, M.; POLKINGHORNE, R. W.; GOLDBERGER, M. (1982) "A sex-linked enzyme in birds z-chromosome conservation but no dosage compensation". *Nature* 296:763.
- BENNET, D.; BOYSE, E. A.; LYON, M. F.; MATHIESON, B. J.; SHEID, M.; YANAGISAWA, K. (1975) "Expression of H-Y (male) antigen in phenotypically female Tfm/Y/mice". *Nature* 257: 236-238.
- BERNSTEIN, R.; KOO, G. (1980) "Abnormality of the X chromosomes in human 46,XX female siblings with dysgenetic ovaries". *Science* 107:768-769.
- BOROVICK, C. L. e BRUNONI, B. (1981) "46,X del (X) (q13) Karyotype and the localization of the inactivation centre". *Abstract of the 6th International Congress on Human Genetics (Israel)* p. 165.
- BOUTERS, I.; VANDEPLASSCHE, M. (1972) "Cytogenetics and reproduction in large domestic animals". *VII Congr. Int. Reprod. Anim. Insem. Artif. (Alemanha)* vol. II:1091-1094.
- BRIDGES, C. B. (1916) "Non-disjunction as proof of the chromosome theory of heredity". *Genetics* 1:107-163.
- BRIDGES, C. B. (1921) "Triploid intersexes in *Drosophila melanogaster*". *Science* 54:252-254.
- BÜHLER, E. M. (1980) "A synopsis of the human Y chromosome". *Hum. Genet.* 55:145-175.
- BULL, J. J. and BULMER, M. J. (1981) "The evolution of XY females in mammals". *Heredity* 47:347-365.
- BUNKER, M. C. (1966) "Y chromosome loss in transplanted testicular teratomas of mice". *Can J. Genet. Cytol.* 8:312-317.
- BUONICCONTI, L. C.; BRUCE, E. E.; RUSHMER, A.; WEBER, A. F. (1983) "Sterility associated with an XO karyotype in a Belgian mare". *J. of the Amer. Vet. Med. Assoc.* 182:1120-1121.
- BUYS, C. H. C. M. (1979) "Familial transmission of a translocation Y/14". *Hum. Genet.* 53:125-127.
- CASTRO-SIERRA, E.; WOLF, U. (1968) "Studies on the male meiosis of *Ellobius lutescens*". *Th. Cytogenetics* 7:241-248.
- CATTANACH, B. M. (1962) "XO mice". *Genet. Res.* 3:487-490.
- CATTANACH, B. M.; POLLARO, C. E.; HAWKES, S. G. (1971) "Sex reversed mice: XX and XO males". *Cytogenetics* 10:318-337.

- CATTANACH, B. M.; EVANS, E. P.; BURTENSHAW, M. D.; BARLOW, J. (1982) "Male, female and intersex development in mice of identical chromosome constitution". *Nature* 300(5891):445-446.
- CELADA, F. and WELSHONS, W. J. (1963) "An immunogenetic analysis of the male antigen in mice utilizing animals with an exceptional chromosome constitution". *Genetics* 48:139-151.
- DE LA CHAPPELLE, A.; TIPPET, P. A.; WETTERSTRAND, G.; PAGE, D. (1984) "Genetic evidence of X-Y interchange in a human XX male". *Nature* 307:170.
- CLOSE, R. L. (1984) "Rate of sex chromosome loss during development in different tissues of the bandicoots *Paramelis nasuta* and *Isooson macrourus* (Marsupialia, Paramelidae)". *Austr. J. Biol. Sci.* 37:53-61.
- COCK, A. G. (1964) "Dosage compensation and sex-chromatin in non-mammals". *Genet. Res.* 5:354-365.
- COLE, C. J. (1977) "Parthenogenetic reptiles: new subjects for laboratory research". *Experientia* 33:285-289.
- CROCKER, M.; JONASSON, J.; PATEL, C. (1985) "An unusual case of X-15 translocation: evidence for the presence of an 'activator' region on the Xpter of man". *Clin. Genet.* 28:556-560.
- DECKERS, J. F. M.; van der KROON, P. H. W.; DOUGLAS, L. Th. (1981) "Some characteristics of the XO mouse (*Mus musculus* L.) II. Reproduction: fertility and gametic segregation". *Genetica* 57:3-11.
- DOBZHANSKY, T.; SCHULTZ, J. (1934) "The distribution of sex factors in the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*". *J. Genet.* 28:349-386.
- DOSIK, H.; WACHTEL, S. S.; KHAN, F.; SPERGEL, G.; KOO, G. (1976) "Y-chromosomal genes in a phenotypic male with a 46,XX karyotype". *JAMA* 236:2505-2508.
- EICHER, E.; WASHBURN, L. L. (1983) "Inherited sex reversal in the mice: Identification of a new primary sex-determining gene". *The J. of Exp. Zoo.* 228:297-304.
- EICHWALD, E. J.; SILMSER, C. R. (1955) Untitled communication. *Translant. Bull.* 2:148-149.
- EPSTEIN, C. J.; SMITH, S.; TRAVIS, B. (1980) "Expression of H-Y antigen on pre-implantation mouse embryos". *Tissue Antigens* 15:63-67.
- EVANS, H. J.; GOSDEN, J. R.; MITCHEL, A. R.; BUCKLAND, R. A. (1974) "Localization of human satellite DNAs on the Y chromosome". *Nature* 251:346.
- EVANS, H. J.; BUCKTON, K. E.; SPOWART, G.; CAROTHERS, A. D. (1979) "Heteromorphic X chromosomes in 46,XX males: Evidence for the involvement of X-Y interchange". *Hum. Genet.* 49:11-31.
- FERRARO, M. (1980) "Cytogenetics and clinical studies in gonadal dysgenesis with 46,XX t(qter → p222;p223 → qter) karyotype: review and phenotype/karyotype correlations". *J. of Med. Genet.* 17:457-463.
- FRACCARO, M.; MARASCHIO P. PASQUALI, F.; SCAPATICCI, S. (1977) "Women heterozygous for the deficiency of the (p21 → pter) region of the X chromosome are fertile". *Hum. Genet.* 39:283-292.
- FREDGA, K.; GROPP, A.; WINKING, H.; FRANK, F. (1976) "Fertile XX- and XY- type females in the wood lemming *Myopus schisticolor*". *Nature* 261:225-227.
- FRELS, W. I.; CHAPMAN, V. M. (1980) "Expression of the maternally derived X chromosome in the mural trophoblast of the mouse". *J. of Embryol. Exp. Morphol.* 56:179-190.
- FRONZA, G.; WAINBERG, T. M. L.; HURTARO DE LA CATALFO, G. E. (1981) "Multiple sex chromosomes in *Deltamus kampi* (Rodentia, Cricetidae): Preliminary steps towards the establishment of the XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>/XX system". *Caryologia* 34:457-460.
- GASSER, D. L.; SILVERS, W. K. (1972) "Genetics and immunology of sex-linked antigens". *Adv. Immunol.* 5:215-247.

- GENCOZIANI, N. (1971) "Male and female cell populations in the quimeric marmoset". In Goldsmith E. L., Moore-Jankowski J. (eds.): *Medical Primatology*. Basel-Karger, pp. 926-938.
- GHOSH, S. N.; SHAH, P. N.; GHARPURE, H. M. (1978a) "Absence of H-Y antigen in XY females with dysgenetic gonads". *Nature* 276:180-181.
- GHOSH, S. N.; SHAH, P. N.; GHARPURE, H. M.; ATHREYA, U. (1978b) "H-Y antigen in human intersexuality". *Clin. Genet.* 14:31-35.
- GIRAUD, F.; MATTEI, I. F.; LUCAS, C.; MATTEI, M. G. (1977) "Four new cases of dicentric Y chromosomes". *Hum. Genet.* 36:249-260.
- GOODFELLOW, P.; PYM, B.; MOHANDAS, T.; SHAPIRO, L. J. (1984) "The cell surface antigen locus, MIC2X, escapes X inactivation". *Am. J. Hum. Genet.* 36:777-782.
- HAMERTON, J. L.; DICKSON, J. M.; POLLARD, C. E.; GRIEVES, S. A.; SHORT, R. V. (1969) "Genetic intersexuality in goats". *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 7:25-51.
- HAUSCHKA, T. S. (1955) "Probable Y linkage of a histocompatibility gene". *Transplant. Bull.* 2:155-157.
- HAYMAN, D. L.; MARTIN, P. G. (1965) "Sex chromosome mosaicism in marsupial genera, *Isodon* e *Parameles*". *Genetics* 52:1201-1206.
- HECHT, T.; COOKE, H. J.; CERRILLO, M.; MEER, B.; RECK, G.; HAMEISTER, H. (1980) "A new case of Y to X translocation in a female". *Hum. Genet.* 54:303-307.
- HERBST, E. W.; FREDGA, K.; FRANK, F.; WINKING, H.; GROPP, A. (1978) "Cytological identification of two X-chromosomes types in the wood lemming (*Myopus schisticolor*)". *Chromosoma* 69:185-191.
- HOO, J. J. (1979) "Clinical consequences of Xp-". *Hum. Genet.* 46:349-351.
- JOHNSTON, A. W.; SPEED, R. M.; KLOPPER, A.; ROBINSON, I. A. (1974) "A patient with a dicentric Y Chromosome". *Clin. Genet.* 6(4):362-331.
- JOHNSTON, P. G. (1981) "X chromosome activity in female germ cells of mice heterozygous for Searle's translocation T(X;16) 16H". *Gen. Res.* 37:317-322.
- JONES, H. W.; RARY, J. M.; ROCK, J. A.; CUMMINGS, D. (1979) "The role of H-Y antigen in a fertile XY female horse". *J. Reprod. Fertil.* 58:157-160.
- JOSEPH, A.; THOMAS, I. M. (1982) "A complex rearrangement involving three autosomes in a phenotypically normal male". *J. Med. Genet.* 19(5):375-377.
- JOST, A. (1947) "Recherches sur la differenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Role des gonades foetales dans la differenciation somatique". *Anch. Anat. Micr. Morph. Exper.* 36:271-316.
- KAHARA, (1983) "Chromosomes mechanisms of sex determination, G- and C- banding patterns and nucleolus organizer regions in *Tropidurus torquatus* (Sauria, Iguanidea)". *Genetica* 60:151-156.
- KALELA, O. and OKSALA, T. (1966) "Sex ratios in the wood lemming *Myopus schisticolor* (Lillijeb.) in nature and in captivity". *Ann. Univ. Turkuensis, Ser. A* 2:1-24.
- KOO, G. C.; WACHTTELL, S. S.; KRUPEN-BROWN, K.; MITT, L. R.; BREG, W. R.; GENEL, M.; ROSENTHAL, I. M.; BORGANKAR, D. S.; MÜLLER, D. A.; TANTRAVAHU, R.; SCHE-RECK, R. R.; ERLANGER, B. R.; MILLER, O. J. (1977) "Mapping the locus of the H-Y gene on the human Y chromosome". *Science* 198:940-942.
- KRATZER, P. G. (1982) "Timing of X-chromosome inactivation is stage dependent rather than age dependent". *The J. of Exper. Zool.* 222:77-80.
- KRKO, C. J.; GOLDBERG, E. H. (1976) "Detection of H-Y (male) antigen on 8 cell mouse embryos". *Science* 193:1134-1135.
- KUHLWEIN, KONIETZO, D.; SCHUTTE, B. (1981) "Zur korpelichen und geistigen Belastbarkeit von Menschen mit einem XX-Mann-Syndrom". *Andrologia* 13(1):56-63.
- LAUS, C. E. (1982) "Aspectos citogenéticos e morfológicos da intersexualidade em suínos (*Sus scrofa domestica*)". *Dissertação de Mestrado, Depto. Genética, Fac. Med. de Rib. Preto - USP*.

- LYON, M. F. (1961) "Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus L.*). *Nature (Lond.)* 190:372-373.
- MAKINO, S.; SASAKI, M. S.; SUFONI, T.; ISHIKAWA, T. (1982) "Chromosome condition of an intersex swine". *Proc. Jpn. Acad.* 38:686-689.
- MATTEHEY, R. (1964) "Etude sur les chromosomes d'*Ellobius lutescens* Th. (Mammalia-Muridae-Microtinae). II. Informations complementaires sur les divisions meiotiques". *Rev. Suisse Zool.* 71:401-410.
- MATTEI, (1979) "Les anomalies de structure du chromosome Y". *J. Génét. Médicale* 27(1):53-66.
- MC CARRY, J. R.; ABBOTT, U. K. (1979) "Mechanisms of genetic sex determination, gonadal sex differentiation, and germ cell development in animals". *Advances in Genetics* 20:217-290.
- MC FEELY, R. A.; HARE, W. C. D.; BIGGERS, J. D. (1967) "Chromosomes studies in 14 cases of intersex in domestic mammals". *Cytogenetics* 6:242-253.
- MC LAREN, A. and MONK, M. (1982) "Fertile females produced by inactivation of an X chromosome of sex reversed mice". *Nature* 300:346-448.
- MIRZAYANTS, G. G. (1978) "X-X translocation in a patient with gonadal dysgenesis and the problem of phenotype-genotype correlations". *Hum. Genet.* 40:249-258.
- MITTWOCH, U. (1967) "Sex differentiation in mammals". *Nature (Lond.)* 214:554-556.
- MITTWOCH, U. (1977) "H-Y antigen and the growth of the dominant gonad". *J. Med. Genet.* 14:335-338.
- MONESI, V.; GEMEIA, R.; D'AGOSTINO, A.; BOITAM, C. (1978) "Biochemistry of male germ cell differentiation in mammals: RNA synthesis in meiotic and post meiotic cells". *Curr. Top. Dev. Biol.* 12:11-36.
- MORGAN, T. H. (1926) "The theory of the gene". *Yale Univ. Press, New Haven, Connecticut.*
- MOREIRA FILHO, C. A.; TOLEDO, S. P. A.; BAGNOLLI, V. R.; FROTA PESSOA, O.; BISI, H.; WAJNTAL, (1979) "H-Y antigen in Swyer syndrome and the genetics of XY gonadal dysgenesis". *Hum. Genet.* 53:51-56.
- MOREIRA FILHO, C. A.; OTTO, P. G.; MUSTACCHI, Z.; FROTA PESSOA, O.; OTTO, P. A. (1980) "H-Y antigen expression in a case of XX hermaphroditism". *Hum. Genet.* 55:309-314.
- MOREIRA FILHO, C. A.; AMARAL, A. T.; OTTO, P. G.; VIANNA MORGANTE, A. M.; OTTO, P. A.; ELEJALDE, B. R. (1981) "H-Y antigen expression in a case of mixed gonadal dysgenesis". *Hum. Genet.* 57:366-370.
- MÜLLER, H. J. (1947) "Evidence of the precision of genetic adaptation". *Harvey Lecture* 43:165-229.
- MÜLLER, U.; ASCHMONEIT, I.; ZENZES, M. T.; WOLF, U. (1978a) "Binding studies of H-Y antigen in rat tissues: Indications for a gonad specific receptor". *Hum. Genet.* 43:151-157.
- MÜLLER, U.; SIEBERS, J. W.; ZENZES, M. T.; WOLF, U. (1978b) "The testis as a secretory organ for H-Y antigen". *Hum. Genet.* 44:333-338.
- NAGAI, Y. and OHNO, S. (1977) "Testis determining H-Y antigen in XO males of the mole vole (*Ellobius lutescens*)". *Cell* 10:729-732.
- NAGAI, Y.; CICCARESE, S.; OHNO, S. (1978) "The identification of human H-Y antigen and testicular transformation induced by its interaction with the receptor site of bovine fetal ovarian cells". *Differentiation* 13:155-164.
- NARAHARA, K.; YABUCHI, H.; KIMURA, S.; KIMOTO, H. (1978) "A case of a reciprocal translocation between the Y and n.º 1 chromosomes". *Hum. Genet.* 23:225-231.
- NORBY, D. E.; HEGREBERG, G. A.; THULINE, H. C. (1974) "An XO cat". *Cytog. Cell. Genet.* 13(5):448-453.
- OHNO, S. (1961) "Sex chromosomes and microchromosomes of *Gallus domestique*". *Chromosoma* 11:484-498.

- OHNO, S.; JAINCHILL, J.; STENIUS, C. (1963) "The creeping vole (*Microtus oregoni*) as a gonosomic mosaic: I. The OY/XY chromosome constitution of the male". *Cytogenetics* 2:232-239.
- OHNO, S.; BEÇAK, W.; BEÇAK, M. L. (1964) "X-autosome ratio and the behavior pattern of individual X-chromosomes in placental mammals". *Chromosoma* 15:14-39.
- OHNO, S.; ATKIN, N. B. (1966) "Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes". *Chromosoma* 18:455-466.
- OHNO, S. (1976) "Sex chromosomes and sex-linked genes". *New York, Springer-Verlag*.
- OHNO, S. (1976) "Major regulatory genes for mammalian sexual development". *Cell* 7:315-321.
- OHNO, S. (1977) "The original function of MHC antigens as the general plasma membrane anchorage site of organogenesis-directing proteins". *Immunol. Rev.* 33:59-69.
- OHNO, S.; CICCARESE, S.; NAGAI, Y.; WACHTEL, S. S. (1978) "H-Y antigen in testes of XX (Balb.) XY (C3H) chimaeric male mouse". *Arch. Androl.* 1:103-109.
- OHNO, S. (1979) "Major sex determining genes". *New York, Springer-Verlag*.
- OHNO, S. (1980) "Two major regulatory genes for mamalian sex determination and differentiation". *Genetics* 52/53:267-273.
- PAPAIOANNOU, V. E.; WEST, J. D. (1981) "Relationship between the parental origin of the X chromosomes, embrionic cell lineage and X chromosome expression in mice". *Genet. Res.* 37:187-197.
- PALUTKE, W. A.; CHEN, Y.; CHEN, H. (1973) "Presence of brightly fluorescent material in testes of XX males". *J. Med. Genet.* 10:170-174.
- PATHAK, S. and STOCK, A. D. (1976) "Giemsa banding and the identification of the Y/A translocation in the African marsh mongoose, *Atilax paludinosus* (Carnivora, Viveridae)". *Cytogen. Cell Genet.* 16:487-494.
- PFEIFER, R. A. (1980) "Observations in a case of X/Y translocation, t(X;Y) (p22; q11) in a mother and son". *Cytogenet. Cell Genet.* 26:150-157.
- PINHEIRO, L. E. L.; BASRUR, P. K.; ALMEIDA, JR.; GARCIA, J. M. (in press) "X-trisomy and 1/29 translocation in an infertile cow".
- PINHEIRO, L. E. L.; MIKICH, A. B.; BECHARA, G. H.; ALMEIDA JR., I. L.; BASRUR, P. K. (in press). "Isochromosome Y in an infertile heifer".
- PONZIO, G.; DE MARCHI, A.; CARBONARA, A.; GODANO, A.; MASSARA, F. (1981) "Dicentric Y chromosome in a patient with gonadal dysgenesis and seminoma". *Hum. Genet.* 58:282-293.
- RARY, J. M.; CUMMINGS, D. K.; JONES, H. W.; ROCK, J. A. (1979) "Assignment of the H-Y antigen gene to the short arm of chromosome Y". *The J. of Heredity* 70:78-80.
- RASTAN, S.; KAUFMAN, M. H.; HANDYSIDE, A. H.; LYON, M. F. (1983) "X-chromosome inactivation in extraembryonic membranes of diploid parthenogenetic mouse embryos by differential staining". *Nature* 288:172-173.
- ROSENFELD, R. G.; LIUZZATTI, L.; HINTZ, R. L.; MILLER, O. J.; KOO, G. C.; WACHTEL, S. S. (1979) "Sexual and somatic determinants of the human Y chromosome: Studies in a 46, XYp phenotypic female". *Am. J. Hum. Genet.* 31:458-468.
- SCHMID, M. (1983) "Unusual Heteromorphic sex chromosomes in a marsupial frog". *Experientia* 39:1153-1155.
- SCHMIDT, M.; STOLZMANN, M. (1984) "Replication variants of the human inactive X chromosome. II. Frequency and replication rate relative to the other chromosomes of the complement". *Chromosoma (Berl.)* 89:68-75.
- SELDEN, J. R.; WACHTEL, S. S.; KOO, G. C.; HASKINS, M. E.; PATTERSON, D. E. (1978) "Genetic basis of XX male syndrome XX true hermaphroditism: Evidence in the dog". *Science* 201:644-646.



- SHAPIRO, L. J.; MOHANDAS, T.; WESS, R.; ROMEO, G. (1979) "Non-inactivation of an X chromosome locus in man". *Science* 204:1224-1226.
- SHAPIRO, L. J.; MOHANDAS, T. (1983) "Non-inactivation of X-chromosome loci in man". In: *Cytogenetic of the mammalian X chromosome Part. A, Alan R. Liss* pp: 299-314.
- SHARMA, T.; GADIE, I. K.; RAMAN, R. (1981) "Similarity in the G-band patterns of constitutive heterochromatin of the composite X and Y chromosomes of certain rodents". *Genetics* 54:281-284.
- SHARP, A. J.; WACHTEL, S. S.; BENIRSCHKE, K. (1980) "H-Y antigen in a fertile XY female horse". *J. Reprod. Fertil.* 58:157-160.
- SHARP, P. (1982) "Sex chromosome pairing during male meiosis in marsupials". *Chromosoma* 86:27-47.
- SHORT, R. V. (1982) "Sex determination and differentiation". *Reproduction in mammals: 2, ed. Austin and Short, Cambridge University Press, Cambr.*
- SIEBERS, J. W.; VOGEL, W. (1973) "Structural aberrations of the Y chromosome and the corresponding phenotype". *Humangenetik* 19:57-66.
- SILVERS, W. K. (1968) "Studies on the induction of tolerance of the H-Y antigen in mice with neo natal skin grafts". *J. Exp. Med.* 128:69-83.
- SILVERS, W. K. and WACHTEL, S. S. (1977) "H-Y antigen: behavior and function". *Science* 195:965.
- SINGH, L.; PURDON, I. F.; JONES, K. W. (1976) "Satellite DNA and evolution of sex chromosomes". *Chromosoma (Berl.)* 59:43-62.
- SINGH, L.; JONES, K. W. (1982) "Sex reversal in the mouse *Mus musculus*) in caused by a recurrent non reciprocal cross over involving the X and an aberrant Y chromosome". *Cell* 28:205-216.
- SITTMAN, K.; BREEUWSMA, J. A.; TE BRAKE, J. H. (1980) "On the inheritance of intersexuality in swine". *Can. J. Genet. Cytol.* 22:507-527.
- SMITH, J. M.; SENSETH, N. CHR. (1978) "On the evolutionary stability of the female biased sex ratio in the wood lemming (*Myopus schisticolor*): The effect of inbreeding". *Heredity* 2:205-214.
- SOUDECK, D.; KARAYA, P. (1976) "C and Q band in long arm of Y chromosomes; Are they identical?". *Hum. Genet.* 32:339-341.
- STENGEL-RUTKOWSKI, S.; ZANKL, H.; RODEWALD, A.; SHARRER, S.; CHAUDURI, J. P.; ZANG, K. D. (1976) "Aspermia associated with a presumably balanced X/autosomal translocation; karyotype 46Yt (X:5) (q28; q11)". *Hum. Genet.* 31:97-106.
- TEPLITZ, R. L.; MOON, Y. S.; BASRUR, P. K. (1967) "Further studies of chimaerism in heterosexual cattle twins". *Chromosoma* 22:202-209.
- THERMAN, E.; PATAU, K. (1974) "Abnormal X chromosomes in man: origin behavior and effects". *Humangenetik* 25:1-16.
- THERMAN, E.; SARTO, G. E.; DISTÉCHE, C.; DENNISTON, C. (1976) "A possible active segment on the inactive human X chromosome". *Chromosoma* 59(2):137-146.
- THOMPSON, F. H. (1978) "H-Y antigen loci". *Science* 201:842.
- TIEPOLO, L.; ZUFFARDI, O.; RODEWALD, A. (1977) "Nullisomy for the distal portion of Xp in a male child with a X/Y translocation". *Hum. Genet.* 39:277-281.
- TURLAU, C.; CHAVIN-COLIN, F.; GROUCHE, J. DE (1980) "A 45, X male with translocation of euchromatic Y chromosome material". *Hum. Genet.* 53:299-302.
- VALE FILHO, V. R.; BASRUR, P. K.; PINHEIRO, L. E. L.; WILTON, J. W. (1983) "Desenvolvimento testicular e quimerismo em touros gêmeos com novilha freemartin, ou com outro touro". *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 7(4):50-83.
- VANDEBERG, J. L. (1983) "Developmental aspects of X chromosome inactivation in eutherian and metatherian Mammals". *The J. Exp. Zool.* 228:271-286.

- WACHTEL, S. S.; KOO, G. C.; BREG, W. R.; THALER, H. T.; DILLARD, G. M.; ROSENTHAL, I. M.; DOSIK, H.; GERALD, P. S.; SAENGER, P.; NEW, M.; LIEBER, E.; MILLER, O. J. (1976a) "Serologic detection of a Y-linked gene in XX males and XX true hermaphrodites". *New Engl. J. Med.* 295:750-754.
- WACHTEL, S. S.; KOO, G. C.; OHNO, S.; GROPP, A.; DEV, V. G.; TANTRAVAHU, R.; MILLER, D. A.; MILLER, O. J. (1976b) "H-Y antigen and the origin of XY female wood lemming (*Myopus schisticolor*)". *Nature* 264:638-639.
- WACHTEL, S. S.; THALER, H. T.; BOYSE, E. A. (1977) "A second system of alloantigens expressed selectively on epidermal cells of the mouse". *Immunogenetics* 5:17-23.
- WACHTEL, S. S.; BASRUR, P. K.; KOO, G. C. (1978) "Recessive male determining genes". *Cell* 15:279-281.
- WACHTEL, S. S.; HALL, J. L.; MÜLLER, U.; CHAGANTI, R. S. K. (1980) "Serum born H-Y antigen in the fetal bovine freemartin". *Cell* 21:917-926.
- WACHTEL, S. S. (1982) "H-Y antigen and the biology of sex determination". ed. *Grune and Stratton*, a Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers.
- WAHRMAN, J. (1983) "The origin of multiple sex chromosomes in the gerbil *Gerbillus gerbillus* (Rodentia: Gerbillinae)". *Cytol. Cell Genet.* 35(3):161-180.
- WELSOHNS, W. J.; RUSSEL, L. B. (1959) "The Y-chromosome as the bearer of male determining factors in the mouse". *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 45:560-566.
- WHITE, M. J. D. (1973) "Animal cytology and evolution". 3<sup>rd</sup> ed. *Cambridge University Press*.
- WINKING, H.; GROOP, A.; FREDGA, K. (1981) "Sex determination and phenotype in wood lemming with XXY and related karyotypic anomalies". *Hum. Genet.* 58:98-104.
- YADAV, B. R. (1982) "Trisomy of the X chromosome in a Murrah buffalo". *The Veter. Rec., August* 28:184-185.
- ZENZES, M. T.; MÜLLER, U.; ASCHMONIET, I.; WOLF, U. (1978) "Studies on H-Y antigen in different cell fractions of the testis during pubescence". *Hum. Genet.* 45:297-303.

## 1

## TESTAGEM DE DESCENDÊNCIA NOS BOVINOS LEITEIROS DO TRONCO FRÍSIA EM PORTUGAL (1)

### II - AVALIAÇÃO GENÉTICA DOS REPRODUTORES MASCULINOS

L. SIEUVE MONTEIRO

Instituto de Ciências Biomédicas de "Abel Salazar"

Universidade do Porto — 4000 PORTO

#### SUMÁRIO

Os valores génicos de 72 touros de origem nacional e Holstein americano e canadiano, utilizados em seis estábulos, produzindo 992 filhas com 2035 lactações no período de 1976 a 1983, foram calculados pela aplicação da metodologia BLUP aos dados da produção leiteira em 305 dias, gordura total e teor butíroso.

O estudo preliminar da distribuição de touros dentro e entre estábulos, levou a retirar da análise final, sete dos treze criadores inicialmente considerados, dada a exclusividade dos touros usados e a conseqüente falta de ligações genéticas.

Na análise, foram considerados com grupos genéticos distintos, os touros de origem nacional, os Holstein nascidos antes de 1967 e os Holstein nascidos depois desta data. Por ordem de mérito genético, os Holstein mais recentes são os primeiros, seguidos de perto pelos touros nacionais e em último lugar os Holstein mais antigos.

A distribuição dos valores génicos individuais demonstrou existir uma sobreposição considerável entre os grupos Holstein e nacional, com alguns touros nacionais positivos e Holsteins exibindo valores génicos francamente negativos. Se fosse seleccionada uma proporção de 25% dos melhores touros, para qualquer das características incluiria aproximadamente 1/3 de touros nacionais e resultaria em aumento de produção da ordem de 6% da média.

Com base nestes resultados é recomendada a restrição da importação ao semen de touros de mérito genético excepcional, para ser utilizado em vacas de elevado índice genético, na produção dos novilhos que seriam, subsequentemente, submetidos à prova de descendência.

(1) Este trabalho foi parcialmente suportado pelo subsídio de investigação N.º 105/85 da Reitoria da Universidade do Porto e pelo UISEE/Departamento de Tecnologia e Sanidade Animal da Escola Superior de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

## ABSTRACT

The breeding values of 72 Portuguese and Holstein sires, with 992 daughters who produced 2035 lactations in six herds during the period from 1976 and 1983, were computed for 305 day milk and fat yield and butterfat percent by Best Linear Unbiased prediction.

A prior study of the distribution of sires within and between herds, resulted in culling from the data seven from the initial thirteen herds. These did not add to the information as bulls were not shared and, consequently, no genetic connections between those herds were available.

In the BLUP analysis, Portuguese bulls were set as a genetic group and the Holsteins were further divided into those born from before and after 1967. Regarding their rank in average predicted breeding values, the younger Holsteins were first, closely followed by the Portuguese, with the older Holstein as the last group.

The distribution of breeding values showed a reasonable amount of overlapping between Holstein and Portuguese sires. The selection of the top 25% bulls would include, for all traits, approximately 1/3 of Portuguese bulls and would increase production values by an average 6% of the mean.

The restriction in semen imports to the very best bull available is recommended. This semen should be used on cows with superior genetic indices for young bull production. These should be subsequently submitted to a progeny test.

## INTRODUÇÃO

A maior parte (60 a 70%) do progresso genético realizado na produção leiteira é atribuível à selecção exercida directamente sobre a vida masculina. A diferença na contribuição relativa dos sexos resulta da maior capacidade reprodutiva dos machos, amplificada pela expansão das tecnologias da reprodução, nomeadamente a inseminação artificial com semen diluído e congelado. O progresso é, também, consequência da precisão das estimativas da capacidade de transmissão genética dos touros, obtidas pelos resultados dos testes de descendência. Paradoxalmente, o sexo em que a característica não tem expressão é o que fica geneticamente melhor definido.

Em contrapartida, a fraca prolificidade desta espécie implica que a maior parte das fêmeas estão directamente envolvidas na reprodução e manutenção dos efectivos. Nestas condições, não é possível contemplar, para a população leiteira, estruturas de tipo estratificado, com separação dos núcleos reprodutivos de elite da população dita comercial, como acontece nos suínos e nas aves. Esta situação poderá eventualmente, modificar-se com a aplicação sistemática, nas fêmeas, de tecnologias reprodutivas, nomeadamente a ovulação múltipla e transferência de embriões e o controle da proporção entre os sexos.

Nas condições actuais, o melhoramento genético dos bovinos leiteiros depende da selecção baseada em estimativas da capacidade de transmissão genética (valor génico) dos reprodutores masculinos obtidas nas provas de descendência. Estas provas consistem na avaliação da capacidade produtiva de fêmeas, descendentes de um grupo de touros, previamente escolhidos com base na indexação genética da sua ascendência.

Em geral, a avaliação genética tem como objectivo estratégico isolar a capacidade de transmissão genética de cada reprodutor da contribuição conjunta dos efeitos ambientais e genéticos não transmissíveis, a dominância e a epistasia. No caso do teste de descendência, dado que são medidos os efeitos médios dos genes efectivamente transmitidos dos touros às filhas, a acção perturbadora da dominância e da epistasia não se põe. Em contraste, a contribuição do ambiente, que é substancial na produção leiteira (cerca de 75% da variação total), pode viciar as conclusões se, por acaso ou mau planeamento, as filhas de determinado reprodutor forem favorecidas ou desfavorecidas relativamente às suas companheiras de estábulo. O efeito de amostragem, que decorre de a decisão selectiva ser baseada em avaliações feitas sobre um número limitado de filhas, constitui, no sistema, um factor adicional de incerteza.

O objectivo do teste de descendência é maximizar a correlação entre o valor atribuído às filhas avaliadas (predição) e todas as filhas que potencial ou actualmente o touro venha a produzir no futuro (valor génico verdadeiro). Os efeitos ambientais que podem ser de natureza sistemática ou decorrentes de acções casuais não-predizíveis, comporta-se como ruído do sistema de transmissão genética. Os primeiros, como a ordem de lactação, idade e mês de parição podem ser removidos pela aplicação dos factores de correcção apropriados (Monteiro, 1986). Os segundos, que incluem o nível de manejo do estábulo, o ano e o período sazonal de parição, correspondem a efeitos casuais que podem ser controlados através do planeamento experimental e da aplicação de modelos estatísticos apropriados.

O planeamento experimental das provas de descendência envolve, em primeiro lugar, a definição da unidade ambiental de testagem. São normalmente identificadas como unidades ambientais de testagem, o estábulo, o ano e o período sazonal de parição. O procedimento experimental corresponde, então, em avaliar o valor de cada touro em teste pela diferença entre as produções médias das filhas e das vacas que pariram no mesmo estábulo-ano-período sazonal (EAS). A metodologia estatística consiste em ponderar de forma adequada as diferenças obtidas por: 1) o número relativo de filhas e de companheiras de estábulo (filhas efectivas) e 2) pelo grau de confiança nessa diferença como representativa do verdadeiro valor génico do touro. Esta última ponderação é função do número de filhas efectivas e da heritabilidade da característica.

Este é, em síntese, o método da comparação das contemporâneas que, proposto no início dos anos 50 por Robertson e Rendel (1954), durante mais de 20 anos foi o método mais efectivo do teste de descendência com principal, mas não única aplicação ao melhoramento dos bovinos leiteiros.

A hipótese da qual depende a eficácia do método de comparação das contemporâneas na avaliação do potencial genético dos touros está centrada na casualização de todo o processo experimental. Assim, todos os touros utilizados num ciclo de testagem, quer os novilhos em teste, quer os pais das contemporâneas, bem como as vacas com que uns e outros vão ser emparelhados, devem corresponder a amostras casuais representativas do mérito genético da população em teste. Não é, portanto,

lícito admitir qualquer progresso genético no sistema ou que haja refugagem diferencial das filhas dos touros em testagem ou das suas contemporâneas. A última condição é facilmente realizável pela limitação da comparação a filhas e a contemporâneas primíparas.

Se for considerado que no início do teste não há progresso genético, o próprio processo selectivo encarrega-se de criar condições para que tal hipótese deixe de verificar-se. Desde que uma proporção dos touros testados seja removida da reprodução, os touros seleccionados que vão ser usados como pais das contemporâneas, no ciclo de testagem seguinte, não podem ser considerados como amostra casual representativa da população. Adicionalmente, se um touro for usado durante vários anos, como vai sendo sucessivamente comparado com touros jovens, cada vez melhores, o seu valor genético aparente vai-se deteriorando com o tempo. A esta situação junta-se a circunstância de, muitas vezes serem simultaneamente avaliados touros de diversas origens, idades e mesmo estirpes. A representatividade da amostra só pode ser mantida se forem definidos grupos de testagem homogêneos, em que a comparação fica limitada aos animais pertencentes a cada grupo.

Além das hipóteses conceptuais inseridas no processo de testagem, limitações de natureza prática relacionadas com a capacidade dos meios de cálculo disponíveis na altura, levaram à imposição de várias restrições destinadas a simplificar os cálculos. A mais significativa consiste em considerar de forma colectiva as contemporâneas de cada touro em cada unidade de testagem. Nestas condições, as filhas de um touro e as contemporâneas que pariram num dado estábulo-ano-período sazonal (EAS), são comparadas em massa, sem reconhecer a sua identidade e a possibilidade de relacionamento genético. Esta simplificação permite que os cálculos para cada touro em teste possam ser feitos separadamente, e em fases sucessivas, para cada unidade de testagem. Em termos de cálculo numérico, para  $n$  touros em teste, forma-se um sistema de  $n$  equações simultâneas, em que são tomados como nulos todos os coeficientes fora da diagonal, e os valores na diagonal correspondem ao número de filhas efectivas de cada touro. Tal sistema é equivalente a  $n$  equações simples, que podem ser resolvidas individualmente. Numa segunda fase de computação, as soluções obtidas são ponderadas pelos valores da heritabilidade da característica (Dempfle, 1982).

O método exacto de computação dos valores preditos em situações experimentais idênticas foi desenvolvido em 1935 por Aitkin. Porém, só no fim da década de 70, a disponibilidade de meios de cálculo automático mais potentes permitiu criar algoritmos para a obtenção de estimativas do valor génico dos touros, sem recurso a métodos aproximados.

O método de predição dos valores génicos dos touros designado por método BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) que, de facto, corresponde a uma generalização do método clássico de comparação das contemporâneas, utiliza um planeamento experimental idêntico, excepto que mantém individualizada a identidade, tanto das filhas dos touros em teste como das suas contemporâneas. Nestas condições, o

sistema de equações acima referido, inclui não só as equações determinadas pelos  $n$  touros em teste, como as correspondentes a todos os touros que têm filhas avaliadas nesse ciclo de testagem. Resulta, assim, que, a cada ciclo de testagem corresponde um sistema de equações simultâneas, em que a cada touro e a cada unidade de testagem (EAS) é atribuído uma equação e a respectiva incógnita. Nestas condições, é comum aparecerem sistemas complexos envolvendo 2000 equações com igual número de incógnitas. Nestes casos as soluções são facilmente computadas pelo recurso a métodos iterativos. O resultado final corresponde à predição não tendenciosa (unbiased) do valor génico de cada touro incluído no ciclo de testagem.

Os cálculos, que na comparação das contemporâneas são feitos em duas fases, no sistema BLUP processam-se simultaneamente. A metodologia utilizada tem como suporte teórico o princípio de BAYES, pelo qual toda a informação disponível a priori é previamente incorporada nos coeficientes das equações. Nestas condições, um valor que é função da heritabilidade da característica, é adicionado à diagonal do sistema nas equações dos touros. A matriz de relacionamento dos touros, decorrente de conhecimento prévio sobre o seu parentesco, é também somada à matriz dos coeficientes (ver apêndice). Deste modo, o método BLUP utiliza de forma otimizada toda a informação disponível, quer obtida durante o processo experimental em curso, quer externa a esse processo, como é o caso do pedigree e dos valores da heritabilidade e repetibilidade.

Para além da sua generalidade, o método BLUP permite ainda incorporar mecanismos que parcialmente tomam conta das restrições decorrentes da imposição de absoluta casualização dos touros. Em termos experimentais, o modelo passa a envolver o agrupamento dos touros em grupos genéticos de testagem, dentro dos quais se pode considerar realizada a condição de casualização. A avaliação do valor génico dos touros é conduzida dentro de cada grupo, sendo simultaneamente calculado o valor génico médio do respectivo grupo de testagem. A formação de grupos de testagem está condicionada à definição de critérios de homogeneidade genética. Por exemplo, a criação de grupos de touros em função da idade presume a existência de progresso genético realizado na população, em que os touros mais jovens são geneticamente superiores aos nascidos em períodos mais remotos. Podem ser igualmente adoptadas classificações baseadas na origem, nacional ou regional, ou outras. A condição necessária à formação de grupos genéticos, é que haja razões para julgar que, no ciclo de testagem, se encontram estirpes às quais foram aplicados diferentes métodos, critérios ou pressões selectivas (Schaeffer, 1975). Ainda que não estejam definidas regras fixas para a criação dos grupos genéticos, excepto no que se refere à amostragem casualizada que deve existir dentro de cada grupo, desde que cada um represente de facto uma variante genética discreta, a sua inclusão no modelo, aumenta significativamente a precisão das estimativas da capacidade de transmissão dos touros, como foi demonstrado por Famula e Van Vleck (1982) em estudos de simulação. Em termos de computação, o modelo linear com grupos de testagem

implica a adição ao sistema de tantas equações quantos os grupos genéticos considerados.

O refugio de fêmeas feito com base na produção leiteira da primeira lactação, limita a comparação às contemporâneas primíparas, que constituem uma amostra casual das filhas de cada touro. Henderson (1975a) demonstrou que, desde que o critério de rejeição dos animais seja uniforme e que façam parte dos dados as produções que estiveram na base das decisões de selecção, os resultados BLUP não são afectados pela inclusão da informação referente a todas as lactações.

A validade do método, quando aplicado a populações submetidas a acções selectivas, permite reunir nas equações BLUP toda a informação disponível sobre as lactações de uma vaca, desde que a sua primeira lactação, produzida no mesmo estábulo, faça parte dos dados. A extensão da análise a todas as lactações de uma vaca vai, para o mesmo número e distribuição das filhas, aumentar a precisão da estimativa do valor génico de cada touro. O incremento da probabilidade de ocorrência de lactações contemporâneas em estábulos com número reduzido de animais, constitui uma vantagem adicional da aplicação do método BLUP a vacas com várias lactações.

A estrutura da população leiteira portuguesa é caracterizada pela sua dispersão em pequenas unidades de produção e pela utilização simultânea de grande número de touros de diversas origens. Este trabalho tem como objectivo primário demonstrar que o método BLUP é particularmente indicado para estas condições, visto que a robustez que resulta da aplicação de meios potentes de computação e da sofisticação dos métodos estatísticos de cálculo do valor génico, permite, não só compensar alguns desequilíbrios experimentais, como esgotar toda a informação disponível. A utilização de dados correspondentes às contemporâneas múltiparas, permite aproveitar, em cada ciclo de testagem, unidades de produção que, em outras circunstâncias seriam desperdiçadas. A introdução do conceito de grupo genético e a manutenção da identidade de cada touro durante o processo de análise, toma em linha de conta o facto de os touros aqui utilizados não constituírem uma população genética homogénea, permite avaliar o impacto dos vários grupos no melhoramento genético da população leiteira nacional e actualizar continuamente as estimativas do valor de cada touro usado na inseminação artificial. A adição aos dados de produção da informação resultante da matriz de relacionamento dos touros, constitui contributo suplementar para a maior eficiência do sistema de análise.

Como objectivo secundário, através do estudo preliminar de distribuição dos touros pelas explorações leiteiras aqui analisadas, são apontadas algumas situações que, do ponto de vista de testagem e melhoramento genético, conduzem a substancial redução na eficácia de utilização dos dados.



## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados analisados neste trabalho correspondem ao mesmo conjunto que foi apresentado na primeira publicação desta série (Monteiro, 1986) e envolvem igualmente as características de produção total de gordura em 305 dias de lactação e a percentagem média de gordura em animais do tronco Frísia. Para a avaliação do valor génico dos touros houve necessidade de se proceder a uma segunda edição dos dados, em que foram eliminadas do conjunto todas as vacas sem paternidade conhecida.

Na análise da distribuição das filhas pelos estábulos, foram descartados dois criadores que não tinham qualquer registo no livro genealógico. Deste modo, no período de 1976 a 1983 foram estudadas catorze unidades de produção, servidas por um total de 293 touros de origem nacional, europeia (França, Alemanha, Holanda e Grã-Bretanha) e americana (Estados Unidos e Canadá) para os quais foi possível obter valores aproximados para as datas de nascimento. A utilização exclusiva de touros por alguns dos criadores impediu o estabelecimento de ligações genéticas entre unidades de testagem. Nestas condições, dado que as estimativas do valor génico seriam apenas referidas à unidade ambiental (estábulo) em que tinha produzido filhas, foi decidido não incluir estes criadores na análise BLUP. Acresce que se trata de touros de origem europeia, em que cada estábulo optou por reprodutores de uma única nacionalidade, pelo que, em alguns casos deve tratar-se de fêmeas importadas.

A análise final incidiu sobre os seis estábulos que usaram touros de origem nacional e Holstein-Frísia americana e canadiana. Foram assim estudadas 992 vacas a que corresponde um total de 2035 lactações.

Foram definidos três grupos genéticos de testagem de acordo com a origem nacional ou americana, subdividindo estes últimos em touros nascidos antes e depois de 1967.

Na análise BLUP, para a incorporação de informação a priori no sistema (ver apêndice) foram usados os valores de respectivamente 0,25 e 0,45 para a heritabilidade e repetibilidade da produção de leite e total de gordura e de 0,60 para a heritabilidade e repetibilidade do teor butiroso.

Para a aplicação do modelo misto de análise BLUP a estes dados houve necessidade de desenvolver uma bateria de programas de computador. Utilizou-se a linguagem CDC FORTRAN 5, disponível no computador CYBER 170-720 do Centro de Informática da Universidade do Porto.

Os dados, de que deve constar, no mínimo, a identificação da vaca, do estábulo e do touro, bem como a ordem de lactação e o valor da característica em análise, são submetidos ao programa BLEDIT. Este programa, que tem como objectivo geral a preparação dos dados para a análise BLUP, elimina as lactações de ordem ou de períodos pouco representados, bem como todas em que não conste a sua própria identificação, a do touro (pai), do estábulo, e de todas as filhas de touros que não constem de qualquer grupo de testagem. Assinala ainda as lactações fora de sequência, calcula a idade de parição em meses, as constantes para o ano-período

sazonal (AS) e o valor de características secundárias. Também reúne os touros nos grupos de testagem previamente definidos, aplica os factores de correcção e ordena os dados por valores crescentes de, respectivamente, os códigos de estábulo, touro, vaca e ordem de lactação.

Após a edição, correcção e codificação dos dados, a análise do valor genético dos touros é conduzida pelo programa BLPRF, baseado no algoritmo desenvolvido por Ufford, Henderson e Van Vleck (1978), em que foi seguida a estratégia de computação recomendada por Shaeffer (1976).

Este programa é composto por uma série de subrotinas que produzem de uma forma sequenciada os passos necessários à condução da análise BLUP do valor génico dos touros. Em primeiro lugar, são construídas as equações dos touros com os coeficientes correspondendo ao número de filhas produzidas por cada touro, apresentando no segundo membro a produção total correspondente à irmandade paterna. Seguidamente, são absorvidas as equações correspondentes a cada ano-período sazonal (AS) nas equações dos touros. A absorção é feita sequencialmente para cada estábulo e os resultados combinados em equações correspondentes a cada touro. As equações referentes aos grupos de testagem e aos multiplicadores de Lagrange, que permitem a obtenção de soluções únicas ao sistema (vêr apêndice) são incorporadas neste ponto. Segue-se o cálculo da matriz inversa da matriz de relacionamento e dos valores correspondentes à razão entre as variâncias do erro, as variâncias das médias de produção das irmandades paternas e das médias das lactações produzidas por cada animal. Estes valores, obtidos a partir da heritabilidade e da repetibilidade da característica, constituem, depois da sua incorporação na diagonal da inversa da matriz de relacionamento, a informação a priori que é somada à matriz de coeficientes dos touros. Finalmente, uma subrotina de iteração, calcula as soluções BLUP para as equações dos touros e dos grupos de testagem e coloca essa informação num ficheiro permanente. Uma última subrotina calcula, pelo método das retro-soluções (vêr apêndice), os valores génicos individuais de cada vaca e os valores ajustados para cada EAS. Estes resultados, que correspondem aos índices genéticos das vacas, são apresentados na próxima publicação desta série. O programa BLPRF tem as seguintes limitações: um máximo de 50 touros e de 30 anos-períodos sazonais (AS) para cada estábulo; o máximo de 10 lactações por vaca. Não há limite para o número de estábulos e de vacas por estábulo.

Por último, o programa BLIST procede à listagem e à impressão dos resultados referentes aos valores génicos médios dos grupos de testagem, valores individuais relativos (diferenças preditas) e absolutos (estimativas da capacidade transmissora) dos touros com descendência. Também são apresentados os valores génicos calculados indirectamente para os touros com descendentes e colaterais no ciclo de testagem. Imprime ainda o número de filhas efectivas e os valores da repetibilidade (precisão relativa) da prova.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### a) Distribuição de touros por estábulos

Nos treze estábulos incluídos nesta análise preliminar, no período de 1976 a 1983 serviram na reprodução um total de 259 touros com 992 filhas que produziram 2035 lactações. A frequência da distribuição dos touros que foram usados exclusivamente num só estábulo ou simultaneamente em dois ou mais estábulos é apresentada na Tabela I.

Tabela I

Frequência de utilização de touros por estábulos

Número de Utilizadores	Número de Touros
1	219
2	30
3	9
4	1
Total	310

Verifica-se que, do total de 259 touros, 219 (85%) foram usados num único estábulo e, num só caso o mesmo touro serviu em quatro unidades de produção. Este touro, de origem americana, teve 42 filhas que fizeram 100 lactações. O total de 310 touros apresentados na Tabela refere-se a touros diferentes quando usados como reprodutores no mesmo estábulo e aos mesmos touros quando usados por diferentes criadores.

A distribuição das filhas produzidas por touros usados na reprodução em todos os estábulos é apresentada na Tabela II e as respectivas lactações na Tabela III.

Tabela II

Distribuição das filhas (grupos de meias irmãs paternas)  
dos touros usados em reprodução

N.º de filhas /touro	N.º de Touros
1 - 4	212
5 - 8	16
9 - 12	14
13 - 16	5
17 - 20	4
21 - 24	1
25 - 28	1
29 - 32	1
33 - 36	2
37 - 40	1
41 - 44	1
45 +	1

Tabela III

Distribuição das lactações produzidas por grupos  
de meias-irmãs paternas

N.º de lactações /irmandade	N.º de Grupos
1 - 5	193
6 - 10	22
11 - 15	13
16 - 20	9
21 - 25	4
26 - 30	4
31 - 35	2
36 - 40	3
41 - 45	2
46 - 60	2
61 - 75	2
75 +	3

Em ambos os casos a distribuição é acentuadamente assimétrica com grande frequência dos valores mais pequenos. Assim 212 touros produziram 1 a 4 filhas; destes, 157 touros, correspondendo a 61% do total utilizado neste período tiveram uma única filha, que representa a mediana da distribuição. Para o número de lactações produzidas pelo conjunto de filhas de cada touro, também há grande predomínio do número reduzido de lactações. Dos 157 touros com uma só filha, 36% teve apenas uma lactação registada e 50% fez duas lactações.

A distribuição dos touros, filhas e lactações pelos estábulos é apresentada na Tabela IV. Também aqui se expressa a distribuição, em percentagem, dos touros usados por cada criador classificados consoante a sua origem (nacionalidade).

Tabela IV

Distribuição por estábulo do número de touros, filhas e lactações;  
Distribuição por origem dos touros usados por cada criador (percentagem)

Est.	N.º de filhas	N.º de Lact.	N.º de Touros	ORIGEM %						
				NAC	FR	AL	HOL	BRT	EU	CAN
1	337	703	40	35	—	—	—	—	35	30
2	307	691	40	20	—	—	—	—	65	15
3	37	65	12	25	—	—	—	—	33	42
4	111	177	60	2	—	85	—	2	10	1
5	11	21	3	100	—	—	—	—	—	—
6	24	43	21	—	—	—	—	100	—	—
7	42	59	30	—	100	—	—	—	—	—
8	14	22	13	—	—	—	100	—	—	—
9	6	9	4	—	—	—	—	100	—	—
10	14	20	14	—	—	93	—	7	—	—
11	18	41	18	—	—	—	100	—	—	—
14	20	42	13	23	—	—	—	—	15	62
15	51	142	41	2	—	67	29	—	—	2
Total	992	2035	310	10	10	30	14	9	17	10

Código - NACional; FRancesa; ALemã; HOLandesa; BRiTânica; Estados Unidos; CANadá

Nesta Tabela torna-se aparente o reduzido número médio de filhas produzidas por touro e por estábulo. Em nove dos treze criadores analisados, os touros produziram em média menos de duas filhas, e destes, em dois casos (10 e 11) cada touro foi usado uma única vez. Apenas os estábulos codificados com 1 e 2 apresentam o número médio de, respectivamente 8,4 e 7,6 filhas por touro.

A distribuição por origem dos touros pelos criadores é igualmente desequilibrada. Sete dos treze estábulos analisados usaram touros de origem nacional, enquanto que um (7) optou pela exclusividade no uso de touros de origem francesa.

Parece haver maior consenso e uniformidade na opção de touros americanos e canadianos que se encontram espalhados por, respectivamente, 5 e 6 produtores. Em contraste, as opções europeias parecem ser mais exclusivas, com pouca sobreposição entre si ou com os adeptos da estirpe Holstein.

No conjunto dos produtores, os touros de origem alemã são os mais frequentemente usados, com 30% do total. No entanto, dos 92 touros alemães, 51 são exclusivamente usados pelo estábulo 4, o que corresponde a 85% dos touros aí utilizados. A remoção deste lote implica que o grupo Holstein, incluindo touros de origem americana e canadiana, passa a corresponder a 33% do total de touros e, aproximadamente a 37% do total de filhas e de lactações.

No seu conjunto, estes resultados põem em evidência a tendência dos criadores de optar pelo aumento do número de touros, com a conseqüente redução no número de filhas produzidas por touro. Além disso, estes touros são, em muitos casos, praticamente de utilização exclusiva por cada criador. Em termos de estrutura da população, a situação assemelha-se à monta natural, em que cada produtor baseia a renovação dos efectivos nos seus touros privados.

O tamanho reduzido das irmandades, bem como a falta de sobreposição entre criadores, de touros e de grupos genéticos, tem conseqüências importantes, relativamente à efectividade da prova de descendência.

O número de filhas vai afectar de forma directa a precisão das estimativas do valor génico dos touros. Esta precisão designada de repetibilidade da prova, corresponde à correlação entre o valor estimado e o verdadeiro valor génico dos animais testados. Em condições reais, tem de haver um compromisso entre o número de touros avaliados, que vai determinar a intensidade de selecção possível, e a precisão da estimativa, que vai condicionar a probabilidade da ocorrência de erros no apuramento dos animais. Normalmente, é considerado como um valor aceitável que, num teste de descendência sejam medidas, em média, 60 a 70 filhas por touro. Neste caso, o valor é ultrapassado apenas por um dos 259 touros usados na análise.

A falta de sobreposição de touros e de estábulos, normalmente ligada à dimensão das irmandades, vai condicionar a possibilidade de combinar a informação disponível sobre os vários estábulos. Para que a informação sobre os touros usados em dois estábulos seja passível de ser combinada, é necessário que existam um ou mais touros que, utilizados simultaneamente em ambos estábulos, estabeleçam uma ligação (connectness) entre si. Assim, é possível estabelecer uma comparação que se baseia no

valor relativo das filhas produzidas em estábulos diferentes, e obter predições válidas de todos os outros touros que sejam apenas usados em um ou em outro estábulo.

A falta de ligação entre estábulos não vai impedir a obtenção de estimativas dos valores génicos desses touros. Apenas que, neste caso, as estimativas só representam o valor relativo dos touros utilizados naquele estábulo e não são directamente comparáveis com quaisquer outros.

Os touros provenientes de várias origens, presumivelmente submetidos a pressões e critérios de selecção diferentes, são candidatos obvios à formação de grupos genéticos de testagem. A preferência que certos criadores mostram por touros de uma determinada origem vai contribuir para complicar a situação experimental. Para além de determinar implicitamente a falta de ligações entre estábulos, a utilização em exclusivo ou quase, de touros de uma origem por um criador, vai criar uma situação em que é impossível distinguir o efeito do nível ambiental do estábulo do valor génico médio do grupo de testagem.

Nestas condições, foi decidido estabelecer critérios para a inclusão de criadores na análise BLUP. Foram aprovados os estábulos em que touros comuns a duas ou mais unidades de produção tenham estabelecido as ligações entre si e que se encontrem distribuídos de forma equilibrada pelos grupos de testagem. Por preencherem estas condições, foram incluídos na análise BLUP os estábulos identificados pelos números 1, 2, 3, 4, 5 e 14. As ligações estabelecidas e o número de touros comuns a cada par de estábulos são apresentadas na figura 1.

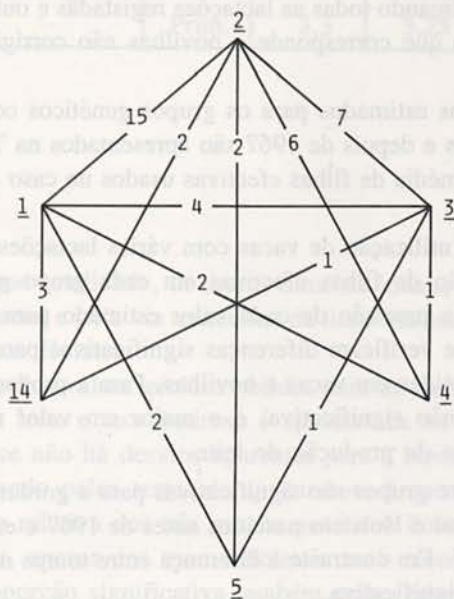


Fig. 1 — Ligações genéticas entre os estábulos decorrentes da utilização conjunta de touros. Os números sublinhados representam o código do estábulo; os números entre pares de códigos representam os touros comuns a esses estábulos.

Verifica-se que, neste conjunto, é sempre possível estabelecer uma ligação directa ou indirecta entre qualquer par. É este o caso dos estábulos 4, 5 e 14 em que as ligações são feitas através dos touros usados nas restantes unidades.

Tendo em consideração que os estábulos escolhidos usam touros nacionais ou de origem americana ou canadiana, a avaliação dos 51 touros de origem alemã do estábulo 4, ficaria confundida com o nível de ambiente, sem que fosse produzida informação adicional. Nestas condições foi decidido descartar esses touros e considerar nos seis estábulos os touros nacionais, os americanos e os canadianos, o que corresponde aproximadamente a 3/4 das filhas e das lactações, passando estes dois últimos grupos a ter a designação genérica de estirpe Holstein.

#### b) Avaliação do valor génico dos touros

Os seis estábulos submetidos à análise BLUP correspondem a um total de 81 touros nacionais e Holstein. A aplicação do programa BLEDIT eliminou mais 9 touros que estavam representados num único nível de testagem (EAS). Encontram-se nestas condições 4 touros pertencentes aos estábulos 1 e 2 e que compreendiam a quase totalidade dos touros com filhas paridas no ano de 1976. Touros que produziram apenas uma filha e uma lactação foram retidos na análise. Ainda que as estimativas de valor génico destes touros sejam irrelevantes, contribuem para a comparação dos outros touros que também produziram filhas nesses EAS. Foi efectuada uma análise implicando todas as lactações registadas e outra envolvendo apenas a primeira lactação, o que corresponde a novilhas não corrigidas para a ordem de lactação.

Os valores génicos estimados para os grupos genéticos com touros nacionais e Holstein nascidos antes e depois de 1967 são apresentados na Tabela V bem como o número de touros e a média de filhas efectivas usados no caso de lactações múltiplas e de novilhas.

Verifica-se que a utilização de vacas com várias lactações aumenta substancialmente o número médio de filhas efectivas em cada grupo genético contribuindo, assim, para melhorar a precisão de cada valor estimado para o valor génico.

Em caso algum se verificam diferenças significativas para cada grupo genético entre as estimativas obtidas em vacas e novilhas. Para a produção de leite, em que a diferença, ainda que não significativa, é a maior em valor absoluto, corresponde apenas a 1% da média de produção de leite.

As diferenças entre grupos são significativas para a gordura total e teor butiroso para os grupos Nacional e Holstein nascidos antes de 1967 e entre Holstein nascidos antes e depois de 1967. Em contraste a diferença entre touros nacionais e os Holstein mais recentes não é significativa.

Estes resultados que, neste caso, apenas implicam a amostra de touros utilizados pelos estábulos durante o período analisado, não deve ser extrapolado para a generalidade dos touros nacionais. De facto, o resultado não é surpreendente na medida



Tabela V

Número médio de filhas efectivas e valor génico estimado para as características de produção leiteira para os grupos genéticos Nacionais, Holsteins nascidos antes (<1967) e depois (>1967) de 1967, em vacas (Mult.) e novilhas (Prim.). Para cada coluna, células com letras diferentes correspondem a diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

Grupo Genético	Número de Touros	N.º de Part.	Filhas Efecti.	Valor Génico		
				Gord. Total kg	Prod. Leite kg	Teor Butir.%
Nacional	20	Mult.	10,3	2,87 a	35,89 a	0,030 a
		Prim.	6,5	1,19 a	-30,12 a	0,038 a
Holstein <1967	18	Mult.	4,6	-5,55 b	-72,13 a	-0,067 b
		Prim.	3,0	4,44 b	7,82 a	-0,106 b
Holstein >1967	34	Mult.	4,5	2,69 a	36,25 a	0,037 a
		Prim.	3,3	3,25 a	22,29 a	0,068 a

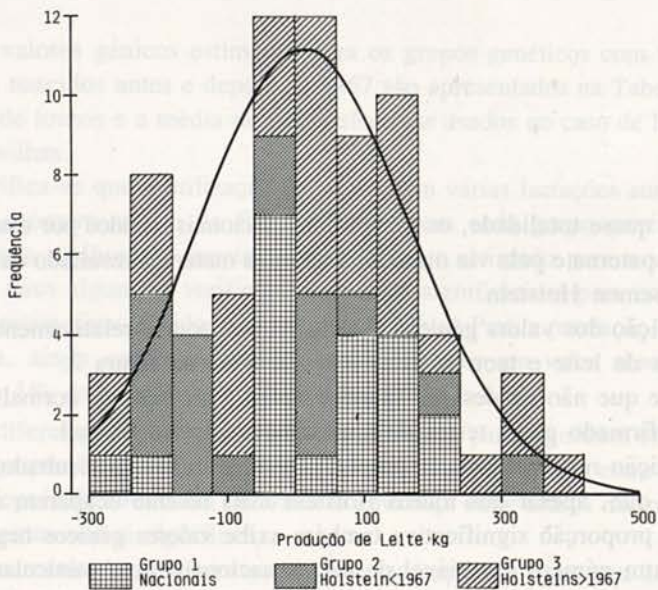
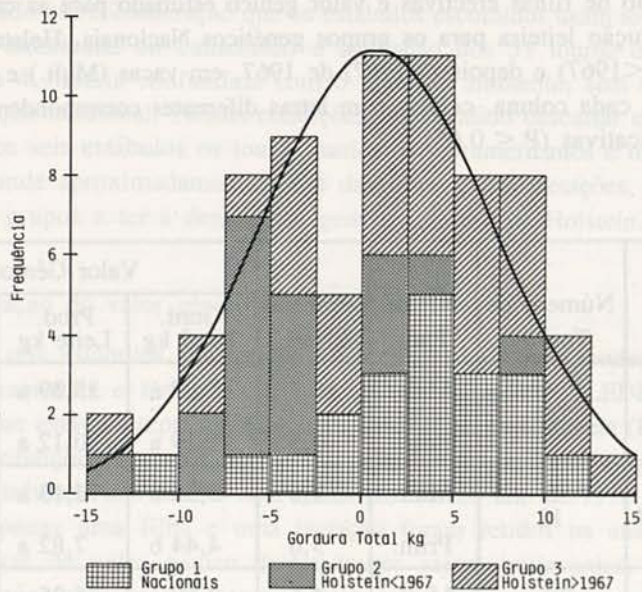
em que na sua quase totalidade, os touros ditos nacionais, usados por estes criadores são, pela linha paterna e pela via masculina da linha materna, resultado da importação recorrente de semen Holstein.

A distribuição dos valores génicos obtidos para os touros relativamente à gordura total, produção de leite e teor butiroso é apresentada na figura 2.

Verifica-se que não há desvios aparentes para a hipótese de normalidade o que de resto é confirmado pelos testes de ajustamento à curva normal.

A distribuição relativa dos três grupos genéticos ilustra os resultados da Tabela V. Verifica-se que, apesar dos touros Holstein mais recente ocuparem as melhores posições, uma proporção significativa também exhibe valores génicos negativos. Em contrapartida, um número apreciável de touros nacionais, com particular relevância para a gordura total e teor butiroso, apresentam valores génicos francamente positivos.

Figura 2 — Distribuição dos valores gênicos dos touros pertencentes aos grupos Nacional, Holsteins nascidos antes (<1967) e depois (>1967) de 1967, para a produção total de matéria gorda (kg), produção de leite (kg) e teor butíroso (%).



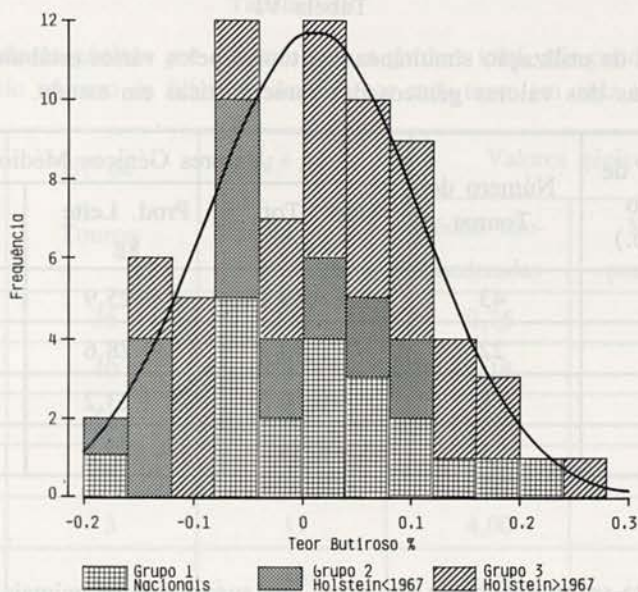


Fig. 2c

### c) Utilização dos touros em função do valor génico

A relação entre o valor génico estimado para os touros e a frequência da sua utilização pelos diversos estábulos representa uma avaliação indirecta do seu impacto no melhoramento genético da população Frísia incluída nesta amostra. O valor génico médio dos touros usados separada ou simultaneamente em dois ou mais estábulos é apresentado na Tabela VI.

Não é aparente qualquer relação entre os valores génicos médios e número de utilizações do mesmo touro pelos vários estábulos. Apenas o touro usado por quatro criadores foi classificado em segundo e sétimo lugar para, respectivamente, a gordura total e a produção leiteira, mas apresenta um valor génico negativo para o teor butiroso.

Tabela VI

Frequência da utilização simultânea dos touros pelos vários estábulos e respectivas médias dos valores gênicos das características em estudo.

Frequência de Utilização (N.º Estab.)	Número de Touros	Valores Gênicos Médios		
		Gord. Tot. kg	Prod. Leite kg	Teor But. %
1	43	+ 1,49	+ 25,9	+ 0,017
2	22	- 0,49	- 28,6	+ 0,014
3	6	- 0,16	+ 23,2	- 0,029
4	1	+ 8,26	+ 319,5	- 0,017

Apresenta-se seguidamente evidência que sugere que os animais geneticamente superiores produzem maior número de filhas e de lactações. As correlações entre os valores gênicos estimados e o número de filhas e de lactações apresentados na Tabela VII são pequenas mas consistentemente positivas.

Tabela VII

Coefficientes de correlação (107 G.L.) entre os valores gênicos de cada touro e o número de filhas e de lactações produzidas.

Variáveis	Valores Gênicos		
	Gordura Total	Produção Leite	Teor Butiroso
N.º de Filhas	0,063	0,136	0,106
N.º de Lactações	0,071	0,102	0,054

A tendência é aparente na produção de gordura total apresentada na Tabela VIII, em que são comparadas as médias simples dos valores gênicos dos touros usados por cada criador, com as mesmas médias ponderadas pelo número de filhas produzidas por cada touro.

Tabela VIII

Médias dos valores génicos por estábulo para a gordura total, não-ponderadas e ponderadas pelo número de filhas produzidas por cada touro em cada estábulo.

Código Estábulo	N.º de Touros	N.º de Filhas	Valores génicos	
			Médias não- ponderadas	Médias ponderadas
1	36	326	0,75	2,76
2	40	307	-0,18	0,86
3	11	36	-0,04	1,89
4	8	22	4,30	6,82
5	3	11	4,00	4,83
14	11	18	0,60	0,57
Total	109	720	0,66	2,01

As médias dos valores génicos simples, que podem ser interpretadas como representando a validade objectiva da escolha dos touros, têm valores próximos de zero em quase todos os casos, implicando que são igualmente usados touros com valor génico positivo ou negativo. Os estábulos 3 e 4 que apresentam médias positivas são pequenos, com reduzido número de touros e filhas. Se, no entanto, estes valores forem contrastados com as médias equivalentes, mas ponderadas pelo número de filhas que cada touro produziu, todos os valores são positivos e, com excepção do estábulo 14, superiores às médias não ponderadas. Pode-se, portanto, concluir que, ainda que o critério usado na escolha dos touros pelos criadores não apresente qualquer relação com o seu valor genético, mesmo assim há tendência para, dentro dos escolhidos, usar mais intensamente os melhores.

#### d) Projecção de respostas a acções selectivas

Numa tentativa de projectar os resultados que poderiam ter sido obtidos se a escolha dos touros tivesse seguido critérios objectivos, baseados nos valores determinados no teste de descendência, foram analisadas as produções das filhas dos 25 por cento melhores touros (primeiro quartil) para cada característica. Se puder ser assumido que estes touros inseminaram uma amostra casual das vacas de cada exploração, os resultados são representativos das produções potenciais que poderiam ser obtidas por selecção, em cada estábulo. Dado que foi mantida a estrutura da população, considerando-se a proporção de filhas que cada touro de facto produziu, os resultados são

inferiores aos que poderiam ser obtidos se os melhores touros da coorte seleccionada fossem usados mais intensamente. As médias totais e para cada estábulo referentes a todos os touros e aos do primeiro quartil são corrigidas pelo método dos quadrados mínimos para os efeitos do ano e do período sazonal de parição. Os resultados referentes ao número de touros do primeiro quartil usados na exploração, percentagem de filhas desses touros relativamente ao total, médias de produção de filhas dos touros seleccionados e sua superioridade relativamente a todas as filhas, são apresentados na Tabela IX. O estábulo 14, que, dos touros seleccionados para a produção de leite e de gordura teve apenas uma lactação, foi excluído desses cálculos.

Tabela IX

Número de touros (NT), percentagem de filhas (%F), produções médias das filhas dos touros do primeiro quartil usados em cada estábulo e diferença (Dif.) para as médias do estábulo.

Estáb.	Gordura Total kg				Produção Leite kg				Teor Butiroso %			
	NT	%F	1.ºQrt.	Dif.	NT	%F	1.ºQrt.	Dif.	NT	%F	1.ºQrt.	Dif.
1	9	44	205,2	+7,3	11	48	6332	+220	3	6	3,46	+,23
2	10	34	198,6	+16,0	8	15	6298	+544	10	34	3,39	+,21
3	4	44	177,8	+2,7	5	64	5689	+266	1	6	3,39	+,15
4	4	77	139,1	-1,8	2	55	5131	+30	4	59	3,00	+,19
5	1	5	139,9	+5,1	2	82	4841	+164	1	18	3,42	+,47
14	—	—	—	—	—	—	—	—	3	64	2,97	+,25
Total	18	39	172,1	+10,9	18	34	5658	+317	18	20	3,27	+,25

A diferença entre as médias de produção das filhas dos touros do primeiro quartil e as médias de todas as filhas, pode ser interpretada como resposta à selecção envolvendo uma proporção de 0,25 dos touros. Verifica-se que o estábulo 4 que apresenta um valor negativo para a superioridade dos seleccionados relativamente à gordura total usa, de facto, 77% de filhas de touros seleccionados. Em todas as outras explorações, a utilização de touros com maior valor génico implicaria aumentos da ordem de 3 a 4% da produção média, atingindo 9% no estábulo 2 em que, para a gordura total e produção de leite foram usadas respectivamente apenas 34 e 15% das filhas dos touros seleccionados. Para o teor butiroso, em que a estabilidade da resposta resulta da maior heritabilidade desta característica, há tendência aparente para usar com pouca intensidade os touros melhoradores. Em geral, poderiam ter sido obtidos aumentos de produção da ordem dos 6,3% para a gordura total, 5,6% para a

produção de leite e de 7,6% para o teor butiroso, se fosse exclusivamente usado, para cada caso, o quarto dos touros geneticamente superiores.

Pode, portanto, concluir-se que a escolha objectiva dos touros usados na reprodução, determinaria o progresso genético da população leiteira, com o correspondente aumento da produção média individual, e a avaliação mais precisa dos valores génicos pela modificação da relação touro:vacas de 1:10 para valores mais aceitáveis, da ordem de 1:40.

A análise das origens dos touros seleccionados no primeiro quartil mostra que, para a gordura total a proporção de Nacionais para Holstein antigos e recentes é de 6:1:11; a relação equivalente para a produção de leite é 6:2:10 e para o teor butiroso de 5:2:11. Esta distribuição, que reflecte os resultados dos grupos genéticos apresentados na Tabela V e na figura 2.; tem implicações importantes no que se refere ao delineamento de uma possível estratégia de melhoramento genético da população leiteira nacional.

Pode considerar-se que no estado presente da arte, se justifica ainda a importação de semen Holstein para melhoramento do efectivo leiteiro. No entanto, os resultados apontam para a necessidade de estabelecer critérios discriminativos relativamente à quantidade, selecção e subsequente utilização do semen importado.

Num trabalho de simulação com computador, Monteiro et al. (1983) mostraram que, num sistema com imigração contínua de semen superior, a partir de um período determinado pelo «lag» do sistema, a dependência exclusiva da importação de semen já não é justificável.

Os resultados aqui representados, em que 1/3 dos touros incluídos no primeiro quartil e o touro classificado em terceiro lugar para a gordura total, são de origem nacional, implicam que o recurso à importação de semen deve ser limitado a um número restrito de touros de valor genético excepcional. Esse semen deve ser utilizado exclusivamente nas vacas com os melhores índices genéticos, para a produção de novilhos. Para a via de touros para produzir vacas, e, em alguns casos para a via masculina, em competição directa com os exóticos, há toda a vantagem económica e genética em optar pelos touros de origem nacional, desde que adequadamente testados e seleccionados.

## APÊNDICE

### Modelo Teórico

O modelo estatístico adoptado corresponde ao tipo designado de modelos mistos para ajustamento de constantes nos quais podem ser incluídos factores fixos e casuais (Searle, 1971). Neste caso as estimativas dos efeitos fixos e casuais são obtidas pela aplicação do método BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) a dados de produção leiteira.

A estrutura genética, designada por modelo touro, com efeitos genéticos aditivos e registos repetidos (Henderson, 1984), corresponde a uma análise de tipo hierárquico com três níveis, em que cada touro, representado pelas filhas que formam o conjunto de meias-irmãs paternas, é classificado dentro de um grupo de testagem.

O modelo linear pode apresentar-se em notação escalar da forma seguinte:

$$Y_{ijklm} = g_i + s_{ij} + h_{kl} + c_{ijkm} + e_{ijklm}$$

em que os índices têm o seguinte significado:

i indica o grupo genético de testagem;

j indica o touro dentro do i-ésimo grupo;

k indica o estábulo;

l indica o ano-período sazonal de parição dentro de k-ésimo estábulo;

m indica a filha do ij-ésimo touro no k-ésimo estábulo;

e os coeficientes são:

y é o registo de produção corrigido para ordem, idade e mês de parição;

g é o efeito fixo do grupo de testagem;

s é o efeito casual dos touros, com variância  $\sigma_s^2$  que corresponde à variância das médias de grupos de irmãs paternas;

h é o efeito fixo do estábulo-ano-período sazonal (EAS);

c é o efeito casual correspondente à filha de cada touro com variância  $\sigma_c^2$  referente às médias dos registos de produção repetidos;

e é o efeito residual, não genético, com variância  $\sigma_e^2$

Em notação matricial, em que as maiúsculas e minúsculas sublinhadas representam, respectivamente, matrizes e vectores coluna, o modelo pode apresentar-se na seguinte forma:

$$\underline{y} = \underline{X}\underline{\beta} + \underline{Z}\underline{u} + \underline{e}$$

em que

$\underline{y}$  é o vector de observações em que cada elemento corresponde a um registo de produção;

$\underline{\beta}$  é o vector de efeitos fixos desconhecidos do grupo de testagem (g) e do estábulo-ano-período sazonal (h)



$\underline{u}$  é um vector de variáveis casuais não-observáveis correspondendo aos efeitos do touro (s) e das vacas (c)

$\underline{e}$  é um vector de variáveis casuais não-observáveis associado a cada registo de produção;

$\underline{X}$  e  $\underline{Z}$  representam matrizes em que cada elemento, com o valor zero ou a unidade, corresponde a uma observação associada com as incógnitas  $\beta$  e  $u$ .

Os valores esperados para os parâmetros são neste modelo:

$$E \begin{bmatrix} \underline{y} \\ \underline{u} \\ \underline{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \underline{X}\beta \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

A matriz de variâncias-covariâncias é:

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \underline{y} \\ \underline{u} \\ \underline{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \underline{V} & \underline{ZG} & \underline{R} \\ \underline{GZ}' & \underline{G} & 0 \\ \underline{R} & 0 & \underline{R} \end{bmatrix} \sigma^2$$

em que  $\underline{V} = \underline{ZGZ}' + \underline{R}$ ;

$\underline{R} \sigma^2$  é  $\underline{I} \sigma_e^2$ ,  $\underline{I}$  representa a matriz identidade.

$\underline{G} \sigma^2$  é  $\underline{I} r \sigma_c^2$ , com  $\underline{G}$  uma matriz diagonal em que os elementos não nulos são representados pelo vector  $\underline{r}$ . O vector  $\underline{r}$  é a razão entre as variâncias  $\sigma_s^2/\sigma_c^2$  e  $\sigma_e^2/\sigma_c^2$  referentes aos efeitos casuais  $\underline{u}$ .

Tendo em conta que os valores das variâncias normalmente não são conhecidos, a sua razão pode ser calculada a partir da heritabilidade e da repetibilidade da característica para as quais existem valores obtidos na literatura ou em experiências prévias, que tendem a ser razoavelmente estáveis em diferentes populações e situações experimentais. Assim, a razão entre variâncias, constituindo informação a priori, que vai ser incorporada no sistema pode ser obtida pelas expressões:

$$\sigma_c^2/\sigma_s^2 = \frac{1-r}{1/4 h^2} \quad \text{e} \quad \sigma_e^2/\sigma_c^2 = \frac{1-r}{r - 1/4 h^2} \quad (1)$$

em que  $h^2$  e  $r$  são respectivamente a heritabilidade e a repetibilidade da característica. As expressões (1) correspondem aos elementos não nulos da matriz diagonal  $\underline{G}^{-1}$ .

As estimativas dos valores para cada factor fixo e casual correspondem às soluções das equações do modelo misto de Henderson da forma:

$$\begin{bmatrix} \underline{X}'\underline{X} & \underline{X}'\underline{Z} \\ \underline{Z}'\underline{X} & \underline{Z}'\underline{Z} + \underline{G}^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \underline{\beta} \\ \underline{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \underline{X}'\underline{y} \\ \underline{Z}'\underline{y} \end{bmatrix} \quad (2)$$

em que  $\underline{X}$  e  $\underline{Z}$  são matrizes de elementos em zero e unidade, com o número de colunas correspondentes ao número de efeitos fixos e casuais, respectivamente, e o

número de linhas ao número de observações;  $\underline{y}$  é o vector que corresponde a cada um dos registos de produção efectuados.

Os coeficientes destas equações são idênticos às equações para o ajustamento de constantes pelo método dos quadrados mínimos, quando  $\underline{u}$  é igualmente tomado como efeito fixo. A diferença consiste, para o caso das equações BLUP, na adição da razão entre as variâncias aos componentes casuais.

Se os touros tiverem ascendência conhecida e forem relacionados entre si, a informação a priori adicional pode também ser incorporada no sistema. Neste caso, a matriz  $\underline{G}$  não é diagonal, mas tem-se que:

$$\underline{G} = \underline{A}\underline{r}$$

em que  $A$  é uma matriz que contem os coeficientes de relacionamento de Sewall Wright ( $1/2$  para pais-filhos e irmãos completos,  $1/4$  para meios-irmãos, etc.). Portanto:

$$\underline{G}^{-1} = \underline{A}^{-1} \underline{r}.$$

A matriz inversa  $\underline{A}^{-1}$  pode ser calculada directamente fazendo uso das regras de cálculo desenvolvidas por Henderson (1975b). Nesta matriz são incluídos coeficientes para ascendentes conhecidos, de modo que podem ser obtidas estimativas indirectas do seu valor génico, mesmo que não haja informação sobre a produção das suas filhas. De forma idêntica, pode ser predito um valor génico provável, através do pai, para novilhos ainda sem descendência.

Dado que os coeficientes e o segundo membro das equações correspondentes aos efeitos fixos do estábulo-ano-período sazonal (EAS) e dos grupos de testagem têm somas iguais, existe dependência entre as equações, pelo que o sistema (2) não tem solução única. Uma só solução pode ser forçada no sistema pela imposição de condições específicas a uma ou mais equações. Pode-se, por exemplo, impor um valor igual a zero a um dos grupos de testagem, o que implica eliminar do sistema a equação correspondente. Para a remoção da dependência, foi aqui adoptado um procedimento alternativo, que consiste em adicionar ao sistema uma equação com multiplicadores de Lagrange, adequados à anulação da soma dos valores estimados para os grupos de testagem.

O sistema de equações, representado simbolicamente em (2) inclui, para além dos multiplicadores de Lagrange, uma equação para : (1) cada touro com filhas ou contemporâneas integradas no ciclo de testagem; 2) cada fêmea (filha ou contemporânea) com registo de produção; 3) cada grupo genético de testagem e, 4) cada EAS.

Em cada ciclo de testagem, um sistema de equações simultâneas deste tipo, pode envolver vários milhares de equações e de incógnitas, que o que torna inviável, por falta de capacidade dos meios de computação actualmente disponíveis, as técnicas de cálculo directo de inversão da matriz de coeficientes e pós-multiplicação pelo vector do segundo membro. Nestas condições é normalmente utilizado o método de absorção, que consiste em reduzir a ordem da matriz absorvendo um número de equações. Neste caso, as equações correspondentes às EAS e aos valores individuais das filhas e das

contemporâneas são absorvidos nas equações dos touros e dos grupos de testagem. Se, por exemplo as equações do sistema (2) forem representadas em forma matricial por:

$$\begin{bmatrix} \underline{P} & \underline{N} \\ \underline{N}' & \underline{Q} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \underline{c} \\ \underline{h} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \underline{Y}_1 \\ \underline{Y}_2 \end{bmatrix}$$

em que  $\underline{c}$  é o vector de soluções dos touros e grupos de testagem,  $\underline{h}$  das restantes soluções, a que correspondem os vectores  $\underline{Y}_1$  e  $\underline{Y}_2$  do segundo membro.  $\underline{P}$ ,  $\underline{N}$  e  $\underline{Q}$  são submatrizes de coeficientes das equações.

Pré-multiplicando o segundo conjunto de equações por  $\underline{NQ}^{-1}$  e subtraindo do primeiro conjunto, tem-se:

$$(\underline{P} - \underline{NQ}^{-1} \underline{N}') \underline{c} = (\underline{Y}_1 - \underline{NQ}^{-1} \underline{Y}_2)$$

As soluções directamente obtidas para o vector  $\underline{c}$ , não são afectadas pela transformação. As soluções para o vector  $\underline{h}$ , correspondendo ao segundo conjunto de equações, podem ser calculadas utilizando os valores obtidos para  $\underline{c}$ , pela seguinte expressão:

$$\underline{h} = \underline{Q}^{-1} (\underline{Y}_2 - \underline{N}' \underline{c})$$

método que é normalmente designado por retro-soluções. A aplicação desta técnica de absorção às equações do modelo misto de testagem reduz o sistema a uma matriz de ordem igual ao número de touros e de grupos de testagem. Mesmo nestas condições, a inversão directa da matriz só é recomendável para ciclos que envolvam, no máximo, um total de 150 touros. Para matrizes de ordem superior, que normalmente é o caso, é preferível recorrer a métodos iterativos para a obtenção das soluções. O método aqui adoptado é o método iterativo de Gauss-Siedel modificado por Henderson (1973).

Em contrapartida, como os coeficientes para o cálculo dos erros padrões das estimativas são obtidos pela matriz inversa da matriz de coeficientes, os métodos iterativos não permitem a obtenção dessas estatísticas. A medida da precisão da estimativa aqui apresentada é a repetibilidade da prova, baseada no número de filhas efectivas, que corresponde à diagonal da matriz das equações dos touros após absorção, e no valor da heritabilidade da característica (McClintock e Taylor, 1982).

#### Abstracts

All accepted abstracts will be published and distributed at the Congress.  
The call for papers will appear in the next announcement to be published in September, 1987. It will be mailed to all those who request a copy.  
The deadline for receipt of abstracts is January 31, 1988.

#### Accommodation

Rooms have been booked in most of the major downtown Toronto hotels, located near the Convention Centre, and also in nearby university dormitories.

## BIBLIOGRAFIA

- AITKIN, 1935. On least squares and linear combinations of observations. Proc. Royal Soc. Edin. 55: 42
- DEMPLE, L., 1982. Problems in estimation of breeding values. Proc. 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, VI: 351. Madrid.
- FAMULA and VAN VLECK, L. D., 1982. Monte Carlo study of genetic groups in sire evaluation. J. Dairy Sci. 65: 1286
- HENDERSON, C.R., 1973. Sire evaluation and genetic trends. Proceedings of Animal Breeding and Genetics Symposium in Honor of Dr. Jay L. Lush Amer. Soc. Anim. Sci Champaign, IL.
- HENDERSON, C.R. 1975a. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. Biometrics 31: 423
- HENDERSON, C.R., 1975b. Use of relationships among sires to increase accuracy of sire evaluation. J. Dairy Sci. 58: 1917
- HENDERSON, C.R., 1984. Application of linear models in animal breeding. University of Guelph, Canadá
- McCLINTOCK, A.E. and TAYLOR, J.F., 1982. Developments in the use of BLUP for estimation of genetic merit. in Future developments in the genetic improvement of animals. Academic Press, Australia.
- MONTEIRO, L.S., 1986. A Testagem da descendência nos bovinos leiteiros do tronco Frísia em Portugal I-Correção de factores ambientais. Brotéria Genética VII: 57
- MONTEIRO, L.S., et al. 1983. The study of breeding schemes incorporating exotic genes in a native dairy population, in Modern Techniques in Animal Breeding. International Summer School in Agriculture, Dublin
- ROBERTSON, A. and RENDEL, J., 1954. The performance of heifers got by artificial insemination. J. Agr. Sci. Camb. 44: 184
- SEARLE, S.R., 1971. Linear models. Wiley, New York.
- SCHAEFFER, L.R., 1975. Dairy sire evaluation for milk and fat production. University of Guelph, Canada
- SCHAEFFER, L.R. 1976. Lecture notes, University of Guelph, Canada
- UFFORD, G.R., HENDERSON, C.R. and VAN VLECK, L.D. 1978. Derivation of computing algorithms for sire evaluation using all lactation records and natural service sires. Anim. Sci. Mimeo. Series No. 39, Cornell University, Ithaca, N.Y.

## AGRADECIMENTO

Agradeço ao colega J. Fatal Gomes Pereira da Estação Nacional de Selecção e Reprodução Animal o apoio prestado na compilação de origens e datas de nascimento dos touros usados neste trabalho.

## XVI INTERNATIONAL CONGRESS OF GENETICS

### Site and Date

The XVI<sup>th</sup> International Congress of Genetics will be held at the Metropolitan Toronto Convention Centre, Toronto, Ontario, Canada, August 20-27, 1988.

### Organization and Sponsorship

The Congress is sponsored by the International Genetics Federation, the Genetics Society of Canada, the National Research Council of Canada, the Royal Society of Canada and the Biological Council of Canada.

### Scientific Program

The scientific program will emphasize the most recent and exciting developments in genetics. It will consist of symposia, workshops and posters grouped into four main divisions as follows:

- I. Genes and Chromosomes
- II. Genomes and Organisms
- III. Populations and Evolution
- IV. Genetics and Society

### Abstracts

All accepted abstracts will be published and distributed at the Congress.

The call for papers will appear in the next announcement to be published in September, 1987. It will be mailed to all those who request a copy.

The deadline for receipt of abstracts is January 31, 1988.

### Accommodation

Rooms have been booked in most of the major downtown Toronto hotels, located near the Convention Centre, and also in nearby university dormitories.

## Pre-and Post-Congress Meetings

A number of pre-and post-Congress meetings will be held on specific topics. These will be organized by local committees and will be listed in a forthcoming announcement.

**The Fourth International Congress on Cell Biology will be held in Montréal, Québec, Canada during the week immediately preceding the Genetics Congress.**

Mail all correspondence to:

XVI<sup>th</sup> International Congress of Genetics

National Research Council Canada

Ottawa, Ontario, Canada K1A0R6

Tel: (613) 993-9009

Telex: 053-3145

Fax: (613) 993-0603

## ÍNDICES DOS VOLUMES V-VIII (1984-1987)

### A. ÍNDICE POR ASSUNTOS

<b>TEMAS EM FOCO</b>	<i>Vol.-Pág.</i>
Novos problemas de Engenharia Genética ..... por <i>Luís J. Archer</i>	V- 5
O conceito de três super-reinos e o seu fundamento genético..... por <i>A. Madeira Lopes</i>	V- 9
Genética de espécies polimórficas. Genética ecológica. Genética evolutiva. Novos fundamentos genéticos ..... por <i>J. A. Serra</i>	V-133
Girases Arqueobacterianas ..... por <i>A. Madeira Lopes</i>	V-137
Aspectos genéticos dos eócitos ..... por <i>A. Madeira Lopes</i>	VI- 5
Centenário da morte de Mendel (1884-1984) ..... por <i>M. Pereira Coutinho</i>	VI- 7
Reprodução humana artificial ..... por <i>Luís J. Archer</i>	VI- 93
Terapia génica no homem ..... por <i>Luís J. Archer</i>	VI- 97

A Conjugação na Levedura .....	VII- 5
por A. Madeira-Lopes	
Reprodução Humana Artificial – um grito de alarme .....	VII-109
por <i>Luís J. Archer</i>	
As Linhas Mestras da Evolução Celular .....	VII-115
por <i>A. Madeira Lopes</i>	
O RNA Ribossómico das Bactérias Fotossintéticas .....	VII-117
por <i>A. Madeira Lopes</i>	
Transmissão e evolução do DNA mitocondrial humano .....	VIII- 5
por <i>A. Madeira-Lopes</i>	
RNAs que são enzimas .....	VIII- 7
por <i>Luís Archer</i>	

#### ARTIGOS GERAIS E DE REVISÃO

Como se chegou à era da genética molecular .....	V- 13
por <i>Luís J. Archer</i>	
História da Genética em Portugal .....	VI- 9
por <i>Aurélio Quintanilha</i>	
Engenharia genética em <i>Bacillus subtilis</i> III. Bacteriófagos .....	VI- 25
por <i>Hermínia de Lencastre</i>	
Seres celulares: classificação genética e fontes de energia .....	VI- 99
por <i>A. Madeira Lopes</i>	
O mecanismo da transdução generalizada .....	VI-121
por <i>Hermínia Lencastre</i>	
Ethical Questions Relating to Genetic Engineering in Humans .....	VII- 7
por <i>Luís Archer</i>	
Engenharia Genética e Ambiente – Um Segundo Debate – .....	VII-119
por <i>Luís J. Archer</i>	
Contribuições portuguesas para o progresso da genética (Tentativa de menção cronológica sistematizada) .....	VIII- 17
por <i>J.A. Serra</i>	



Genética e conservação do ambiente particularmente a preservação de espécies  
 exemplificada com a casa dos Helicídeos ..... VIII- 35  
 por R.M. Albuquerque de Matos e J.A. Serra

Genetic ecology (of polymorphism, adaptation and survival):  
 Proposed new interdisciplinary approaches ..... VIII- 49  
 by J.A. Serra and R.M. Albuquerque de Matos

Padrões de diversidade celular ..... VIII- 61  
 por A. Madeira-Lopes

## ARTIGOS DE INVESTIGAÇÃO

Avanço no melhoramento de Triticale ..... V- 37  
 por F. Bugalho

Sur l'origine des formes polyploides chez l'agrégat du Rumex acetosella ..... V- 49  
 par Abílio Fernandes

A estabilização meiótica em híbridos Lolium-Festuca ..... V- 93  
 por T. Mello-Sampaio, M. Valle Ribeiro e Ana C.A. Sousa

Influência dos parâmetros genéticos na eficiência económica da produção de  
 suínos ..... V- 97  
 por J.C. Angunes-Correia, M.L. Paiva e J.S. Serra

New primary  $8 \times$  - Triticales for Portugal.  
 1 - Obstenion of Amphidiploids ..... V-139  
 por H. Guedes Pinto, Olinda P. Carnide and V.P. Carnide

Múltiplos efeitos de uniforme em *Helix aspersa* e Discussão da Pleiotrofia deste  
 gene  $+$  ..... V-147  
 por R.M. Albuquerque de Matos  $++$

Caracteres Duais e múltiplos em relação com Poliforfismo de *Helix aspersa* ... V-161  
 por R.M. Albuquerque de Matos e J.A. Serra

Taxonomic Polymorfism and Intrinsic Factors in *Helix aspersa* ..... V-181  
 por R.M. Albuquerque de Matos and J.A. Serra

Location of prophage IG3 in the *Bacillus subtilis* chromosome ..... VI- 57  
 por Ilda M. Santos, Rosa M. Fernandes, Herminia de Lencastre and Luís  
 J. Archer

Sur la caryologie de <i>Lavandula Latifolia Medicus</i> I – Les Plantes du Portugal .....	VI-161
por A. Fernandes e M. Teresa Leitão	
Relatedness of Bacteriophages PBS1, AR9 3NT and I10 of <i>Bacillus subtilis</i> ....	VI-179
por Graça A. Vieira, Herminia de Lencastre and Luís J. Archer	
Sur la Caryologie de <i>Lavandula Latifolia Medicus</i> . II – La Microsporogénese chez les plantes du Portugal à $2n=24, 50, 54$ et $60$	VII- 13
por A. Fernandes e M. Teresa Leitão	
Diversidade Fenotípica em <i>Lupinus Albus L.</i> da Região Mediterrânica .....	VII- 41
por J.M. Neves Martins, or J.A. Simpson	
A Testagem da Descendência nos Bovinos Leiteiros do tronco Frisia em Portugal. I – Correção de Factores Ambientais .....	VII- 55
por L. Sieuve Monteiro	
Distribution of Mid-Digital Hair in Jordanian Populations .....	VII-133
by Yousif I. Omari	
Restriction Pattern Analysis of DNAs from Temperate Bacteriophages IG1, IG3 and IG4 of <i>Bacillus subtilis</i> .....	VII-145
by M. Cristina Cardoso, Herminia de Lencastre, Rosa M. Fernandes, M. Candida Lopes and Luís J. Archer	
Um Novo método envolvendo três loci para análise de ligação .....	VIII- 71
por Jorge Sequeiros	

## NOTAS E NOTÍCIAS

Estatutos da Sociedade Portuguesa de Genética .....	V-107
Ficheiro de Actividades dos Sócios .....	V-115
O Professor Antunes Serra homenageado pela S.P.G. ....	V-221
por Antero Martins	
Assembleia Geral da Sociedade Portuguesa de Genética .....	VI-65
por Antero Martins	
Noprot 85 – 2.º Simpósio Nacional de Produção de novas proteínas e utilização de recursos inexplorados .....	VI- 67
5 <sup>th</sup> Congress of the European Anthropological Association .....	VI-191

IV International Lupin Conference Geraldton, Austrália Ocidental 15-22 Agosto 1986 .....	VII-159
por <i>J.M. Neves Martins</i> .....	

## B. ÍNDICE POR AUTORES

Vol.-Pág.

<b>ANTUNES-CORREIA, J.C.</b>	
— Influência dos parâmetros genéticos na eficiência económica da produção de suínos .....	V- 97
<b>ARCHER, Luís J.</b>	
— Novos problemas de Engenharia Genética .....	V- 5
— Como se chegou à era da genética molecular .....	V- 13
— Reprodução humana artificial .....	VI- 93
— Terapia génica no homem .....	VI- 97
— Ethical Questions Relating to Genetic Engineering in Humans .....	VII- 7
— Reprodução Humana Artificial – um grito de alarme .....	VII-109
— Engenharia Genética e Ambiente – Um Segundo Debate – .....	VII-119
— RNAs que são enzimas .....	VIII- 7
<b>ARCHER, Luís J.</b>	
— Ver Santos, Ilda M. <i>et al</i> .....	VI- 57
— Ver Vieira, Graça A. <i>et al</i> .....	VI-179
— Ver Cardoso, M. Cristina <i>et al</i> .....	VII-145
<b>AZOUBEL, Reinaldo</b>	
— Ver Mikichi, Adriana Bos <i>et al</i> .....	VIII-121
<b>BAGULHO, F.</b>	
— Avanço no melhoramento de Triticale .....	V- 37
<b>CARDOSO, M. Cristina</b>	
— Restriction Pattern Analysis of DNAs from Temperate Bacteriophages IG1, IG3 and IG4 of <i>Bacillus subtilis</i> .....	VII-145
<b>CARNIDE, Olinda P.</b>	
— Ver Pinto, H. Guedes <i>et al</i> .....	V-139
<b>CARNIDE, V.P.</b>	
— Ver Pinto, H. Guedes <i>et al</i> .....	V-139
<b>COUTINHO, M. Pereira</b>	
— Centenário da morte de Mendel (1884-1984) .....	VI- 7

<b>FERNANDES, Abílio</b>	
— Sur l'origine des formes polyploides chez l'agrégat du <i>Rumex acetosella</i>	V- 49
— Sur la caryologie de <i>Lavandula Latifolia Medicus</i>	
I – Les Plantes du Portugal	VI-161
— Sur la Caryologie de <i>Lavandula Latifolia Medicus</i> .	
II – La Microsporogénese chez les plantes du Portugal à $2n=24, 50, 54$ et $60$	VII- 13
<b>FERNANDES, Rosa M.</b>	
— Ver Santos, Ilda M. <i>et al</i>	VI- 57
— Ver Cardoso, M. Cristina <i>et al</i>	VII-145
<b>LEITÃO, M. Teresa</b>	
— Ver Fernandes, A.	VI-161
— Ver Fernandes, A.	VII- 13
<b>LENCASTRE, Hermínia de</b>	
— Engenharia genética em <i>Bacillus subtilis</i> III. Bacteriófagos	VI- 25
— O mecanismo da transdução generalizada	VI-121
<b>LENCASTRE, Hermínia de</b>	
— Ver Santos, Ilda M. <i>et al</i>	VI- 57
— Ver Vieira, Graça A. <i>et al</i>	VI-179
— Ver Cardoso, M. Cristina <i>et al</i>	VII-145
<b>LOPES, A. Madeira</b>	
— O conceito de três super-reinos e o seu fundamento genético	V- 9
— Girases Arquebacterianas	V-137
— Aspectos genéticos dos eóцитos	VI- 5
— Seres celulares: classificação genética e fontes de energia	VI- 99
— A Conjugação na Levedura	VII- 5
— As Linhas Mestras da Evolução Celular	VII-115
— O RNA Ribossómico das Bactérias Fotossintéticas	VII-117
— Transmissão e evolução do DNA mitocondrial humano	VIII- 5
— Padrões de diversidade celular	VIII- 61
<b>LOPES, M. Candida</b>	
— Ver Cardoso, M. Cristina <i>et al</i>	VII-145
<b>MARTINS, Antero</b>	
— O Professor Antunes Serra homenageado pela S.P.G.	V-221
— Assembleia Geral da Sociedade Portuguesa de Genética	VI- 65
<b>MARTINS, J.M. Neves</b>	
— Diversidade Fenotípica em <i>Lupinus albus L.</i> da Região Mediterrânica	VII- 41
— IV International Lupin Conference Geraldton, Austrália Ocidental, 15-22 Agosto 1986	VII-159

<i>MATOS, R.M. Albuquerque de</i>	
— Múltiplos efeitos de uniforme em <i>Helix aspersa</i> e Discussão da Pleiotrofia deste gene + .....	V-147
— Caracteres Duais e múltiplos em relação com Poliforfismo de <i>Helix aspersa</i> .....	V-161
— Taxonomic Polymorfism and Intrinsic Factors in <i>Helix aspersa</i> .....	V-181
— Genética e conservação do ambiente particularmente a preservação de espécies exemplificada com a casa dos Helicídeos .....	VIII- 35
<i>MATOS, R.M. Albuquerque</i>	
— Ver Serra, J.A. ....	VIII- 49
<i>MELLO-SAMPAYO, T.</i>	
— A estabilização meiótica em híbridos <i>Lolium-Festuca</i> .....	V- 93
<i>MIKICHI, Adriana Bos</i>	
— Controle Genético da diferenciação sexual .....	VIII-121
<i>MONTEIRO, L. Sieuve</i>	
— A Testagem da Descendência nos Bovinos Leiteiros do tronco Frisia em Portugal.	
I — Correção de Factores Ambientais .....	VII- 55
— Testagem da descendência nos bovinos leiteiros do tronco Frisia em Portugal (I)	
II — Avaliação Genética dos reprodutores masculinos .....	VIII-159
<i>OMARI, Yousif I.</i>	
— Distribution of Mid-Digital Hair in Jordanian Populations .....	VII-133
<i>PAIVA, M.L.</i>	
— Ver Antunes-Correia, J.C. <i>et al</i> .....	V- 97
<i>PINHEIRO, Luís Eustáquio Lopes</i>	
— Ver Mikichi, Adriana Bos <i>et al</i> .....	VIII-121
<i>PINTO, H. Guedes</i>	
— New primary 8 × - Triticales for Portugal	
1 - Obstenion of Amphidiploids .....	V-139
<i>QUINTANILHA, Aurélio</i>	
— História da Genética em Portugal .....	VI- 9
<i>RIBEIRO, M. Valle</i>	
— Ver Mello-Sampayo, T. <i>et al</i> .....	V- 93
<i>SANTOS, Ilda M.</i>	
— Location of prophage IG3 in the <i>Bacillus subtilis</i> chromosome .....	VI- 57
<i>SEQUEIROS, Jorge</i>	
— Um Novo Método envolvendo três <i>loci</i> para análise de ligação .....	VIII- 71

<i>SERRA, J.A.</i>	
— Genética de espécies polomórficas. Genética ecológica. Genética evolutiva. No-fundamentos genéticos .....	V-133
— Contribuições portuguesas para o progresso da genética (Tentativa de menção cronológica sistematizada) .....	VIII- 17
— Genetic ecology (of polymorphism, adaptation and survival): Proposed new interdisciplinary approaches .....	VIII- 49
<i>SERRA, J.A.</i>	
— Ver Antunes-Correia, J.C. <i>et al</i> .....	V- 97
— Ver Matos, R.M. Albuquerque de .....	V-161
— Ver Matos, R.M. Albuquerque de .....	V-181
— Ver Matos, R.M. Albuquerque de .....	VIII- 35
<i>SIMPSON, J.A.</i>	
— Ver Martins, J.M. Neves .....	VII- 41
<i>SOUSA, Ana C.A.</i>	
— Ver Mello-Sampayo, T. <i>et al</i> .....	V- 93
<i>VIEIRA, Graça A.</i>	
— Relatedness of Bacteriophages PBS1, AR9, 3NT and I10 of <i>Bacillus subtilis</i> .....	VI-179



## SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

### FICHA DA ACTIVIDADE DOS SÓCIOS

N.B. — Dactilografar ou preencher com maiúsculas

Nome: .....

Direcção: Instituição (Dep. Fac. Univ. Escl.) .....

.....  
.....

..... Código Postal .....

Residência .....

.....  
..... Código Postal .....

Actividades: Ensino — Secundário   
Universitário

- Investigação — 1. Citogenética   
— 2. Genética Molecular e Microbiana   
— 3. Genética e Melhoramento de Plantas   
— 4. Genética e Melhoramento Animal   
— 5. Genética Humana   
— 6. Genética das Populações e Evolutiva   
— 7. Genética da Diferenciação e Desenvolvimento

Linhas de Investigação em que trabalha (não exceder três linhas) .....

.....  
.....  
.....

Assinatura ..... Data .....

Enviar esta ficha preenchida para:

*Dr. Luís J. Archer*

Instituto Gulbenkian de Ciência

Apartado 14

2781 Oeiras Codex