



## Testes genéticos na equideocultura

**Eduardo Geraldo Alves Coelho; Denise Aparecida Andrade de Oliveira**

*Laboratório de Genética da Escola de Veterinária UFMG*

**RESUMO** - Nos últimos anos a equideocultura deu um salto qualitativo, havendo hoje, no mercado, animais de alto valor e geneticamente superiores. Isso é possível, em grande parte, devido aos avanços na área da genética animal, os quais permitem identificar, não apenas anomalias, mas também diversos genes de interesse econômico. Com o auxílio da citogenética pode-se identificar indivíduos com alterações no número ou na estrutura dos cromossomos, o que em muitos casos afeta principalmente a reprodução. Também a confirmação de genealogia, anteriormente feita por tipagem sanguínea e atualmente por testes de DNA, tem papel extremamente importante, não apenas por garantir a ascendência dos animais, mas também porque um *pedigree* confiável pode permitir ao criador identificar a origem de problemas genéticos em seu rebanho e reduzi-los ou mesmo, eliminá-los. Ainda com as ferramentas da biologia molecular, podemos hoje, identificar indivíduos que apresentam genes desejáveis ou indesejáveis, o que nos permite selecioná-los precocemente, reduzindo assim, os custos do produtor e aumentando o valor agregado dos animais. Entre tais genes podemos destacar os que identificam portadores ou afetados por mutações genéticas indesejáveis como: SCID (Síndrome da Imunodeficiência Combinada), HYPP (Paralisa Hipercalemica), HERDA (Astenia Dérmica Regional Hereditária Eqüina), etc. Também a identificação dos genes que determinam a cor ou padrão da pelagem já pode ser feita direta ou indiretamente (por meio de marcadores genéticos), como é o caso dos genes para as pelagens Overo, Tobiano, etc. Com os avanços no estudo do genoma eqüino muito mais estará disponível em breve, o que certamente só trará maiores contribuições à equideocultura mundial.

Palavra chave: equideocultura, testes genéticos, cavalo

**ABSTRACT** - In the last few years the horse breeding industry is achieving significant progresses producing animals of high commercial value and genetically superior. It was possible, mainly due to the progresses in the area of the animal genetics, which allow identifying, not only anomalies, but also several genes of economical interest. With the aid of the cytogenetics, individuals with alterations in the number or in the structure of the chromosomes can be identified, which in many cases affect mainly the reproduction. Also the genealogy confirmation, previously done by blood type and now by DNA tests, has extremely important role, not just for guaranteeing the origin of the animals. Due to a reliable pedigree, the breeder can identify the origin of genetic problems and can reduce or even eliminate them. With the tools of the molecular biology, today, we can identify individuals that present desirable or undesirable genes, allowing us to select them early, reducing the costs of the producer and increasing the joined value of the animals. Among those genes we can detach the ones that identify carriers or affected animals for undesirable genetic mutations such as: SCID (Severe Combined Immunodeficiency Disease), HYPP (Hypercalemic Periodic Paralysis), HERDA (Hereditary Equine Regional Dermal Asthenia), etc. Also the identification of the genes that determine the coat color or coat pattern can already be made directly or indirectly (through genetic markers), as it is the case of the genes for the coat colors Overo, Tobiano, etc. With the progresses in the study of the equine genoma much more will be available soon, which will certainly bring larger contributions to the world horse breeding industry.

Key word: horse breeding industry, genetic tests, horse.

A equideocultura representa hoje um setor da economia que envolve milhões de reais por ano, havendo no mercado animais de alto valor e geneticamente superiores. Isso é possível em grande parte devido ao avanço na área da genética animal. Os testes genéticos permitem otimizar os programas de

melhoramento genético e maximizar a probabilidade de produção de animais superiores (Li & Pinkel, 2006).

A citogenética estuda a morfologia e o comportamento dos cromossomos, que por sua vez são as estruturas formadas por DNA encontradas no núcleo das células somáticas. O ponto de partida para qualquer

análise citogenética é o conhecimento do número diplóide de cromossomos da espécie em questão, observado nas células somáticas.

Os cavalos possuem número cromossômico  $2n=64$ , sendo 13 pares de cromossomos autossômicos metacêntricos ou submetacêntricos e 18 pares de cromossomos autossômicos acrocêntricos, além dos cromossomos sexuais, sendo o X o segundo maior submetacêntrico e o Y um dos menores acrocêntricos (Bowling, et al., 1997).

A análise do cariótipo (conjunto dos cromossomos de cada indivíduo) permite a identificação das alterações cromossômicas e estas podem ser de dois tipos: numéricas e estruturais. As alterações numéricas envolvem a perda ou a duplicação de cromossomos. E as alterações estruturais resultam do rearranjo de um ou mais cromossomos tais como: deleção, inversão, translocação.

Na equideocultura, é comum o aparecimento de problemas cromossômicos no plantel principalmente devido ao uso intenso de acasalamentos consanguíneos.

Os problemas mais comuns encontrados nos testes citogenéticos nos cavalos são:

Infertilidade nas éguas (disgenesia gonadal ou síndrome de Turner equina – 63, X0). Defeito cromossômico que causa infertilidade em éguas caracterizado pela falta de um dos cromossomos X. Fenotipicamente pode-se dividir em três grupos: (A) As éguas são fenotipicamente intersexo e anatomicamente aberrantes. (B) As éguas têm fenótipo externo normal mas as gônadas e outras partes do sistema reprodutivo são infantis ou aberrantes. (C) As éguas parecem anatomicamente normais, mas apresentam anomalias na função reprodutiva (Halman, 1985).

Reversão sexual 64,XY (intersexo) Também conhecido como pseudohermafroditismo. O fenótipo é intermediário entre macho e fêmea, pois são mais altos e musculosos do que as fêmeas, porém há na região sexual uma vagina com um pênis hipoplásico substituindo o clítoris (Halman, 1985).

Apesar de sua importância, a citogenética clássica é pouco utilizada na área de produção animal. No entanto, somando-se a ela novas técnicas como hibridização *in situ*, uso de marcadores fluorescentes e alguns procedimentos usados na biologia molecular, como por exemplo a reação em cadeia da polimerase (PCR), tornou-se possível o conhecimento dos genomas

animais, identificando-se assim, indivíduos portadores ou afetados por mutações genéticas indesejáveis, auxiliando nos programas de melhoramento genético e evitando o nascimento de potros defeituosos e/ou mortos, que representa uma perda econômica e emocional aos criadores (Smith, 1980).

Alguns testes já estão disponíveis no mercado baseados na utilização da PCR, para identificação tanto de genes indesejáveis quanto desejáveis.

Entre eles temos testes para identificação da Síndrome da imunodeficiência combinada (SCID). Doença genética autossômica recessiva identificada em cavalos Árabes. A deficiência de componentes do sistema imune para proteção contra patógenos faz com que os potros sucumbam antes de cinco meses, devido a infecções generalizadas (Smith, 1980).

Paralisia hipercalêmica (HYPP), determina episódios esporádicos de tremores, rigidez e paralisia muscular generalizada, não associada à exercícios físicos, acompanhada pelo nível elevado de potássio no soro sanguíneo. É herdado, de forma autossômica dominante e acomete a raça Quarto de Milha (Bowling, 1996).

Astenia dérmica regional hereditária equina (HERDA). Doença degenerativa da pele predominantemente encontrada na raça Quarto de Milha. Os sintomas mais comuns são: seromas, hematomas e ulcerações que se desenvolvem inicialmente no dorso e vão piorando progressivamente com a idade. As lesões começam a se desenvolverem a partir de um ano e meio de idade. O problema segue o padrão de herança autossômica dominante (Tryon, et al., 2007).

No caso dos genes desejáveis, também há vários testes genéticos disponíveis no mercado, com base na PCR. Principalmente testes para identificação de genes que codificam cor de pelagem, pois muitas associações de criadores registram os animais com base no padrão de cor das pelagens. Dentre eles pode-se destacar os testes de marcador genético para o gene que codifica o padrão de pelagem Tobiano (Pampa) que possui uma conjugação de malhas brancas despigmentadas, bem delimitadas, com qualquer outra pelagem, normalmente cruzam a linha superior do tronco em algum lugar entre as orelhas e a cauda, quase sempre atingem o dorso e tendem a apresentar bordas bem definidas. Estão presentes desde o nascimento do

indivíduo e são estáveis em toda a sua vida. (Rezende & Costa, 2007). Outro teste disponível permite identificar os alelos do padrão Overo, que é caracterizado por apresentar manchas brancas predominantemente localizadas na porção lateral e ventral do abdome, que pode se estender horizontalmente, mas nunca cruzar o dorso. Os olhos são normalmente castanhos, podendo um ou ambos serem azuis ou parcialmente azuis. Geralmente, uma se não as quatro patas possuem coloração. Cabeça predominantemente branca e a calda normalmente é de uma só cor.

O padrão Overo pode estar associado a outros padrões de pelagem, principalmente com o padrão Tobiano (pampa), formando o Tovero. Este padrão apresenta características de ambos os padrões de pelagem, o que dificulta a resenha do animal. O padrão Overo ocorre nas raças, Pampa, Mangalarga, Campolina, Quarto de Milha, Paint Horse, Cavalo miniatura Americano e Puro Sangue.

Tanto o padrão Tobiano quanto o Tovero ocorrem devido à expressão de genes dominantes, porém o padrão overo está associado a um defeito genético conhecido como Síndrome Letal do Potro Branco ou Aganglionose Ileocólica. Potros homocigotos para o gene dominante são totalmente ou quase totalmente brancos devido à ausência de melanócitos na pele. Estes potros são surdos e apresentam olhos azuis. Apresentam dificuldade de passar alimento através do trato intestinal, devido à deficiência das células nervosas (aganglionose) que controlam a ação dos músculos peristálticos, como resultado, o mecônio não passa pelo trato intestinal levando ao bloqueio intestinal crônico. Tem-se tentado intervenções cirúrgicas sem sucesso e, deste modo, a condição é letal em todos os casos, daí a importância da identificação dos indivíduos heterocigotos (Rezende & Costa, 2007; Bowling, 1996).

Devido a seu alto valor comercial, os equinos, principalmente aqueles destinados à prática de esportes, têm a necessidade de serem mais precisamente identificados quanto à sua descendência, tanto para fins de registro quanto para sua aquisição. A confirmação de genealogia tem papel extremamente importante, não apenas por garantir a ascendência dos animais, mas também porque um *pedigree* confiável pode permitir ao criador identificar a origem de problemas genéticos em

seu rebanho e reduzi-los ou mesmo, eliminá-los. Inicialmente os testes genealógicos eram feitos através da tipagem sanguínea, onde são testados sete sistemas de grupos sanguíneos, compreendendo 34 fatores sanguíneos diferentes. No entanto, para que o grau de precisão da tipagem sanguínea de equinos seja o mesmo que o obtido em bovinos, não basta testar apenas esses sete sistemas de grupos sanguíneos. É necessário proceder os testes de pelo menos seis variantes protéicas distintas, considerando cinco sistemas de grupos sanguíneos e mais quatro sistemas de variantes protéicas (Pereira, 2001).

Apesar da alta precisão do teste de tipagem sanguínea na exclusão de um falso parentesco (maior que 98%), em alguns casos como ocorrem com éguas portadoras de quimerismo sanguíneo poderá levar à falsa exclusão de parentesco, o que não ocorre com o teste de DNA extraído do bulbo capilar. O teste de DNA baseado nos microssatélites (seqüências de 1 a 6 nucleotídeos que se repetem em tandem), possui como uma das principais características exatamente a considerável variação observada quanto ao número de vezes que uma determinada seqüência de bases se repete. Num certo ponto de um cromossomo podemos ter, por exemplo, a seqüência TG repetida 15 vezes, enquanto que, no mesmo local do cromossomo homólogo do mesmo animal, podem haver 12 cópias desta seqüência. Essa variação chamada polimorfismo, é o que torna cada indivíduo distinto do outro. Considerando que os microssatélites são hereditários, podem então, ser utilizados em verificação de parentesco, com precisão de aproximadamente 99,9% (Pereira, 2001).

Além de sua importância na solução de casos mais complexos, ainda por motivos como facilidade de obtenção e transporte de amostras (no caso de bulbos capilares), possibilidade de análise de material de indivíduos já falecidos (ossos, sêmen, embriões e outros tecidos) facilidade de realização dos testes (permitindo até mesmo automatização) e comercialização dos reagentes *primers* em forma de *kits*; a tipagem por DNA tem se expandido rapidamente (Pereira, 2001).

A tipagem por DNA, assim como a tipagem sanguínea, está sujeita ao rigoroso controle de qualidade feito pela ISAG (International Society of Animal Genetic), por meio dos testes comparativos internacionais, organizados e coordenados por essa

sociedade, permitindo a padronização mundial dos testes (Pereira, 2001).

Assim sendo, com o avanço da genética principalmente do projeto genoma equino novos testes estarão disponíveis no mercado fornecendo novas ferramentas para um maior desenvolvimento da equideocultura mundial.

### **Referências Bibliográficas:**

- BOWLING, A.T. Horse Genetics. Cab International, New York, 199p, 1996.
- BOWLING, A.T., BREEN, M., CHOWDHARY, B.P., et al. International system for cytonetic nomenclature of domestic horse. Chromosome Research, v.5, p433-443, 1997
- HALNAN, C.R.E. Equine cytogenetics: Role in equine Veterinary practice. Equine Veterinary Journal, v.17, n.3, p. 173-177, 1985.
- L.I., M., PINKEL, D. Clinical cytogenetics and molecular cytogenetics. Journal. Zhejiang, v.7, n.2: 162-163, 2006
- PEREIRA, J.C.C. Citogenética e o melhoramento animal. In.: Melhoramento genético aplicado à produção animal. Cap.26, pág.479, 3 ed., Belo Horizonte: FEPMVZ editora, 2001.
- REZENDE, A.S.C; COSTA, M.D. Pelagem dos Equinos. 2. Ed. Belo Horizonte. FEPMVZ, Ed. 112p, 2007.
- SMITH, A.T. Aspects of genetics and disease in the horse. Journal of animal science, v.51, n5, 1980.
- TRYON, R.C.; STEPHEN, D.; WHITE, S.D.; et al. Homozygosity mapping approach identifies a missense mutation in equine cyclophilin B (PPIB) associated with HERDA in the American Quarter Horse. Genomics, v.90, p.93-102, 2007.