

FREQUÊNCIAS DO GENE ASIP EM CAVALOS CRIoulos

MOREIRA, Carla G. A.¹; MUNDSTOCK, Cristina P ; DUARTE, Rodrigo T.; RODRIGUES, DODE, Maria Eduarda B.; BASSINI, Liane N.; FREITAS, Thales Renato¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul – carlafarma@gmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul – thales.freitas@ufrgs.br

1. INTRODUÇÃO

A coloração da pelagem dos animais é determinada pela quantidade de duas melaninas básicas, eumelanina (preto/marrom) e a feomelanina (amarelo/vermelho), que são controladas geneticamente pelo loci *Extension* (*locus E ou MC1R*) e proteína *Agouti* (*ASIP*) respectivamente (Searle, 1968, Jackson, 1994). Esses pigmentos são produzidos pelos melanócitos (Adalsteinsson et al., 1995). Altos níveis de tirosinase produzem eumelanina (preto e marrom) e o seu baixo nível acarreta a produção de feomelanina (vermelho e amarelo), conseqüentemente a tirosinase é um fator limitante na melanogênese (Hearing e Tsukamoto, 1991; Jackson 1993).

A pelagem equina está dividida em três tipos: pelagem básica, pelagem de diluição e pelagem manchada. A proteína ASIP se manifesta na pelagem básica, em que o receptor do hormônio estimulante de melanócito (*Melanocortin 1 receptor, MC1R*) no locus *Extension* e a proteína *Agouti* (*ASIP*) atuam. Estas são as proteínas mais importantes na melanogênese (Voisey e Daal, 2002) sendo o alelo mais comum no locus o gene *Agouti* dominante, a qual produz o pigmento amarelo.

Até a presente data, a mutação no gene ASIP que produz o pigmento preto não foi avaliada na raça de cavalos Crioulo do Brasil. Com base nisto, este estudo teve como objetivo avaliar se a mutação na região codificadora do gene ASIP, responsável pela formação do pigmento de eumelanina, observado em outras raças de equinos está presente na raça de cavalos crioulos criados no Brasil. Além disso, este trabalho também teve como objetivo testar se este locus encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As extrações de DNA foram realizadas utilizando o Kit Blood Genomic DNA Miniprep de acordo com as instruções do fabricante (Axygen Bioscience, USA). A qualidade da extração foi checada em gel de agarose 0,7%, corado com Gelgreen (Biotium, USA) e visualizado em transluminador de luz branca (Clare chemical, USA). Foram utilizados os primers descritos por RIEDER et al. 2001. As amplificações foram realizadas usando desnaturação inicial a 95°C por 5', seguidos por 35 ciclos com desnaturação a 95°C por 30", anelamento a 56°C por 30" e extensão a 72°C por 30" e, finalmente, extensão a 72°C por 7'. Os produtos foram separados e visualizados em gel de poliacrilamida a uma concentração de 10%, Em seguida corou-se o gel com nitrato de prata (Sanguinetti et al. 1994)

afim de proceder a genotipagem. No total foram analisadas e genotipadas 275 amostras.

Foi utilizado o programa GENEPOP para cálculo das frequências gênicas e genotípicas e para teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (Raymond e Rousset, 1995; Rousset, 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Figura 1 são apresentados alguns fenótipos (pelagens) dos animais genotipados para o gene ASIP.

A genotipagem realizada mostrou que existe variação nas frequências alélicas nas diferentes pelagens da raça crioula. A frequência do alelo dominante considerando toda a amostra genotipada foi de 47,1% e do recessivo 52,9%.



Figura 1. Pelagens básicas em avaliação. (1) Picaça, (2) colorada, (3) Baia, (4) Gateada.

Maior frequência (70%) de homozigotos para o alelo dominante foi encontrada na pelagem douradilha, enquanto que para o alelo recessivo foi na pelagem preta (90%). Nenhum homozigoto recessivo (fenótipo₂ preto) foi observado na pelagem douradilha. ¹Na pelagem picaça (fenótipo₂ preto) foi observado genótipo homozigoto para o alelo dominante, resultado este não esperado, uma vez que este alelo confere a cor amarela ou vermelha. Este resultado provavelmente possa ser devido a erros no registro do animal constante do banco de dados da ABCCC.

Nos heterozigotos, a frequência mais alta apresentada foi da pelagem zaina seguido das pelagens oveira, gateada, colorada e baia. Todas estas pelagens apresentam pêlos que variam do preto ao marrom e vermelho até o amarelo. Sendo algumas destas pelagens formadas pela composição de pelos de

diferentes cores, entre elas a moura (pelo preto e branco) e a rosilha (pêlo vermelho e branco). As pelagens: oveira, tobiana e tostada podem apresentar os três genótipos, pois a primeira são variações de branco que ocorrem sobre a capa básica e a tostada é vermelha, mas sendo resultado da alteração do receptor melacortin (RIEDER, 2009).

A partir dos resultados observados, pode-se inferir que, não há uma seleção para uma pelagem específica em relação as aceitas para registro pela ABCCC, haja vista que o teste para equilíbrio de Hardy-Weinberg não foi significativo ($P > 0,63$). Embora possa estar ocorrendo fatores que alterem as frequências gênicas e genóticas, tais como: migração, pois muitos animais são importados do Chile, Argentina e Uruguai e também algum tipo de seleção morfológica, estes fatores não estão contribuindo para alterações das frequências do gene ASIP. Acasalamentos não aleatórios também são praticados na raça Crioula, o que em parte pode contribuir para alteração das frequências genóticas. Contudo, esta prática de manejo não refletiu sobre as frequências genóticas do gene ASIP.

3. CONCLUSÃO

O teste de genotipagem para detecção da mutação no gene ASIP confirmou que a mutação observada neste gene, em outras raças de cavalos é a mesma na raça Crioula. O gene ASIP encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg na amostra avaliada, confirmando que não há uma seleção específica para pelagens na raça Crioula.

4. REFERÊNCIAS

ADALSTEINSSON, S.; BJARNADOTTIR, S.; VAGE, D.I.; JONMUNDSSON, J.V. Brown coat color in Icelandic cattle produced by the loci Extension and Agouti. **Journal of Heredity** vol., 86, p.395-398, 1995.

HEARING, V.J. TSUKAMOTO K: Enzymatic control of pigmentation in mammals. **FASEB Journal** vol., 5, p.2902-2909, 1991.

JACKSON, I.J. Colour-coded switches. **Nature**, vol., 362:587-588, 1993.

RIEDER, S.; TAOURIT, S.; MARIAT, D.; LANGLOIS, B.L; GUÉRIN, G. Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1 loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). **Mammalian Genome**, v. 12, p.450-455, 2001.

RIEDER, S. Molecular tests for coat colours in horse. **J. Anim. Breed. Genet.** V. 126,p. 415-424, 2009.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Heredity**, V.86, P.248-249, 1995.

ROUSSET, F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resources v.8, p. 103-106, 2008.

SANGUINETTI, C. J.; DIAS NETO, E.; SIMPSON, A.J.G. **Rapid Silver staining and recovery of products separated on polyacrylamide gels.** Biotechniques,. V.17, n.5, p. 915-919,1994.

SEARLE, A.G. **Comparative Genetics of Coat Colour in mammals,** Logos Press, London, UK, 1968.

VOISEY J.; VAN DAAL, A. Agouti: from mouse to man, from skin to fat. **Pigment Cell Research,** vol. 15, p.10-18, 2002.