

HETEROGENEIDADE DO PADRÃO DE MANCHAS BRANCAS PRODUZIDAS PELO GENE KIT EM CAVALOS CRIOULO

MOREIRA, Carla G. A.¹; MUNDSTOCK, Cristina P²; DUARTE, Rodrigo T².; RODRIGUES, Marília Danyelle Nunes²; ALMEIDA, Diones Bender²; FREITAS, Thales Renato³

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

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal do Rio Grande do Sul – thales.freitas@ufrgs.br

1. INTRODUÇÃO

O cavalo com a pelagem tobiana geralmente têm cascos e patas brancas. Manchas brancas no corpo geralmente cruzam a linha superior em algum lugar entre as orelhas e cauda. As áreas brancas tendem a ter afiada, contornos definidos e também são geralmente vertical em caráter (SPONENBERG 2009). Estas manchas brancas irregulares cruzando a linha média dorsal é o que caracteriza a pelagem até o momento. O padrão de pelagem tobiano apresenta um alelo dominante tobiano (To) (SPONENBERG, 2008), de maneira que tanto os animais heterozigotos quanto os homozigotos possuem o mesmo padrão de pelagem, ou seja, são fenotipicamente indistinguíveis.

De acordo com HASSE et al. (2007), esta modificação na cor é causada por mutações no gene KIT, que produzem fenótipos de despigmentação. O padrão de manchas é proporcionado por uma inversão no cromossomo 3, que rompe o elemento regulatório do gene KIT (BROOK et al. 2007; HAASE et al. 2008). Para fins de registro da ABCCC, todos os animais que possuem o padrão de manchas brancas passando pelo dorso são registrados como tobiano. Baseado nisto e na existência de diversas mutações no gene KIT, este trabalho teve como objetivo avaliar se todos os padrões de pelagens que possuem manchas brancas sobre o dorso na raça Crioula estão relacionadas com a inversão no cromossomo 3.

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). Para avaliar a inversão no cromossomo 3, ligado a pelagem tobiana, em outras raças de equinos foram utilizados os primers descritos por Haase et al., (2008). As amplificações foram realizadas usando desnaturação inicial a 95°C por 5', seguidos por 35 ciclos a 95°C por 45", anelamento a 57°C por 45" e extensão a 72°C por 45" e, finalmente, um último passo de extensão a 72°C por 5'. Após a amplificação, os produtos foram checados em gel de agarose 0,7%, corado com Gelgreen e visualizados em transluminador de luz branca. Os produtos foram separados e visualizados em gel de poliacrilamida de empilhamento, sendo a porção inferior representada por concentração de 10%, e a parte superior 8%. Em seguida corou-se o gel com nitrato de prata (SANGUINETTI et al. 1994).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Figura 1 são apresentados os padrões de animais com características fenotípicas de pelagem tobiano. Todos os animais apresentaram a mancha branca ultrapassando a linha dorsal do animal.

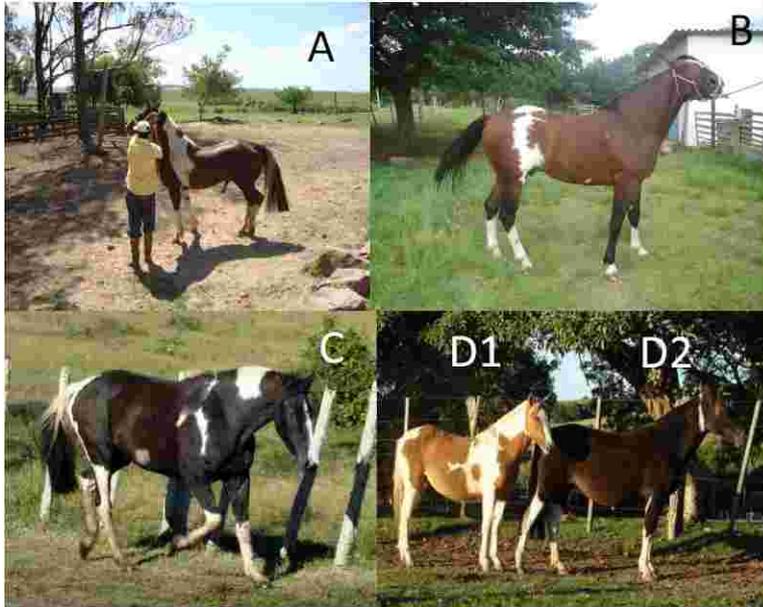


Figura 1. A - Tobiano pelo registro da ABCCC e pelo teste de inversão cromossomal, B - animal negativo para teste tobiano; C – animal Picaço pelo registro da ABCCC, mas tobiano pelo teste de inversão cromossomal; D1 animal Oveiro pelo registro da ABCCC, mas tobiano pelo teste de inversão cromossomal e D2 animal Picaço pelo registro da ABCCC, mas tobiano pelo teste de inversão cromossomal.

Na Figura 2 é apresentado o padrão de banda para checagem da pelagem tobiano. Animais homocigotos, não tobianos apresentam somente a banda de 159 pb e os animais tobianos apresentam também a banda de 209 pb.

1 M 2 3 4 5 6 M 7 8 9 10 11 12 13

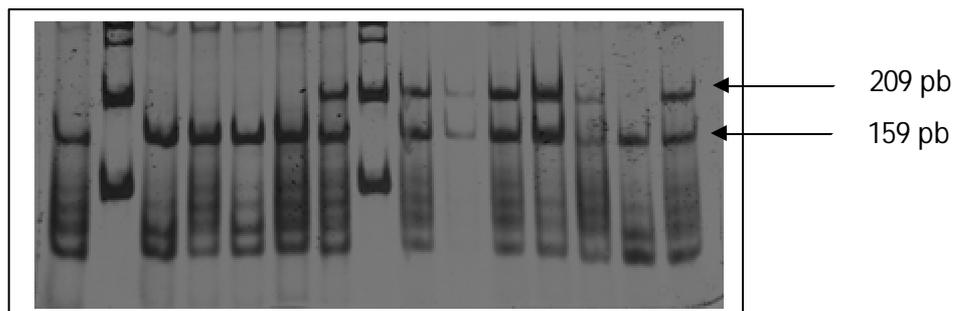


Figura 2 – Amostras 1, 2, 3, 4, 5 e 12 animais não tobianos. Amostras 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 13 animais tobianos. Bandas de 159 e 209 pb representam os alelos genotipados. M marcador de peso molecular (Axygen, USA).

O animal A (Figura 1) apresenta o fenótipo compatível com genótipo, ou seja, mancha branca cruza a linha dorsal e sendo classificado como tobiano. O animal B (Figura 1) apresenta a mancha branca cruzando a linha dorsal na região da

garupa, contudo pelo teste não apresenta a inversão característica dos animais tobianos (animal 2, Figura 2). O fenótipo tobiano é uma herança autossomal dominante (HAASE et al. 2008), porém de forma divergente o animal não possui pais com este fenótipo e a genotipagem revela que o animal não apresenta alelos responsáveis pela pelagem tobiana. O animal C (Figura 1) apresenta características de tobiano e o seu genótipo confirma esta hipótese (animal 6 da Figura 2). O mesmo é observado para os animais D1 e D2 (Figura 1). Estes animais foram classificados pelos técnicos da ABCCC como ovelheiro e o outro como picaço bragado, sendo ambas as pelagens não tobianas. Entretanto, ambos os indivíduos 3 e 4 (Figura 2) apresentam genótipo para pelagem tobiana.

Do total de animais da raça Crioula coletado e genotipado até o momento nenhum foi homocigoto para a inversão cromossomal, características da pelagem tobiana.

4. CONCLUSÃO

Nem todos os padrões de pelagem que possuem a mancha branca que cruza o dorso apresentam a inversão no cromossomo 3, característica da pelagem tobiana.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROOKS, S.A.; LEAR, T.L.; ADELSON, D.L.; BAILEY, E. A inversion near the KIT gene and the Tobiano spotting pattern in horse. **Cytogenetic and Genome Research**, V. 119, p.225-230, 2007.

HAASE, B.; BROOKS, S.A.; SCHLUMBAUM, A.; et al. Allelic heterogeneity at the equine KIT locus in dominant white (W) horses. **PLoS Genetics**, V.3, e195., 2007.

HAASE, B.; JUDE, R.; BROOKS, S.A.; LEEB, T. An equine chromosome 3 inversion is associated with the tobiano spotting pattern in German horse breeds. **Animal Genetics**, VI. 39, p.306-309, 2008.

SPONENBERG, D.P. Equine color genetics. Ames: Editora Wiley-Blackwell, 3a ed. 2009.

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.