# RAÇA EQUINA GARRANA

# Genotipagem para características de interesse/ indesejáveis

## 2022



**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

# Raça equina Garrana

# Genotipagem para características de interesse/ indesejáveis 2022

**Inês Carolino e Nuno Carolino**

Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos
**Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.**
Polo de Investigação da Fonte Boa
Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém
PORTUGAL

Telm:(+351) 964112424
E- mail: ines.carolino@iniav.pt

**Sofia Ferreira**

Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos
**Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.**
**Laboratório de Genética Molecular de Alter**
Coudelaria de Alter 7440-152 Alter do Chão - PORTUGAL
Tel: (+351) 245610070/2 - Fax: (+351) 245610071

**Débora Seixas**

Instituto Superior de Agronomia
Tapada da Ajuda
1349-017 Lisboa, Portugal

## Introdução

O processo de domesticação e seleção levou à diversificação extrema do tamanho das espécies e os cavalos não são exceção. Atualmente, raças como a *American Miniature* medem, em média, menos de um metro ao garrote, enquanto as raças *Shires* e *Percherons* podem exceder os dois metros. Nos equinos, o tamanho corporal é uma característica étnica determinante e um critério importante para a caracterização morfológica das diferentes raças e, em alguns casos, como na raça Garrana, é crucial para a classificação de reprodutores. Entre outros requisitos, apenas é permitida a inscrição no Livro de Adultos de animais com menos de 1,36 metros de altura ao garrote.
O tamanho corporal é descrito como sendo uma característica complexa, influenciada por muitos genes e fatores ambientais. No entanto, é reconhecida em diversas espécies e populações por apresentar uma heritabilidade elevada e, em vários estudos de associação genómica foram identificados *loci* que explicam uma proporção significativa da variabilidade do tamanho corporal.
As técnicas moleculares podem permitir identificar o potencial genético dos animais em idades muito jovens e contribuir para o aumento da precisão de seleção, pelo que constituem um auxiliar cada vez mais promissor nos programas de melhoramento genético, como no caso da raça Garrana.
Neste sentido, o Laboratório de Genética Molecular do INIAV - Polo de Investigação da Fonte Boa, com o objetivo de associar as regiões do ADN dos equinos com a conformação e tamanho corporal em cavalos, efetuou análises de 6 SNP's (*single nucleotide polymorphism*) em 5 genes apresentados na Tabela 1. Assim, foram genotipados os ADN's de 113 equinos (identificação em anexo) da raça Garrana para os referidos SNP's.

Tabela 1 – Identificação dos SNP's analisados

| Gene | ISAG ID | Cromossoma | Alelo Referência | Alelo Alternativo |
|---|---|---|---|---|
| ACAN | P306304DWARFD4 | 1 | CGTGGTGATGATCTGGCACGA | - |
| ACAN | P313DWARFSHETLAND | 1 | G | C |
| B4GALT7 | P381DWARFFRIESIAN | 1 | G | A |
| CLCN1 | P882MYOT | 4 | A | C |
| RYR1 | P926MH | 10 | C | G |
| SCN4A | P705HYPP | 11 | C | G |


**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

Foram analisados 3 SNP's associados ao tamanho dos animais P306304DWARFD4; P313DWARFSHETLAND e P381DWARFFRIESIAN, que em algumas raças de cavalos foram determinantes no fenótipo do Nanismo Condrodisplásico. Esta doença genética tem como consequência a redução desproporcional do tamanho corporal do equino e pode estar associada a defeitos de desenvolvimento ósseo e articular, que afetam a saúde do equino (Eberth *et al.*, 2018; de Andrade *et al.*, 2020). As mutações que causam esta patologia estão presentes em genes diferentes, como o gene ACAN (AggreCan) e o gene B4GALT7 (beta-1,4 galactosiltransferase 7) (de Andrade *et al.*, 2020). No entanto, em termos de transmissibilidade, estas mutações são todas autossómicas recessivas (Eberth *et al.*, 2018; de Andrade *et al.*, 2020). Os equinos da raça Garrana analisados neste estudo não apresentam nenhum alelo "mutante", ou seja, não se identificaram animais com predisposição para o referido Nanismo Condrodisplásico ou que possam transmitir esta variante à descendência, pois apresentaram homozigotia para o alelo do tipo selvagem.

Foram também analisados 3 SNP's ligados a patologias relacionadas com o músculo-esquelético (P882MYOT; P926MH; P705HYPP), mas com sintomatologias diferentes.

O SNP P882MYOT, presente no gene CLCN1 (*Chloride Voltage-Gated Channel 1*), é uma mutação autossómica recessiva, que regula a excitabilidade elétrica da membrana do músculo esquelético (Wijnberg *et al.*, 2012), pelo que, a transversão A>C induz a substituição do aminoácido ácido aspártico por alanina, tendo como consequência uma doença neuromuscular, designada de Miotonia. Expressa-se pelo relaxamento lento dos músculos após a contração voluntária ou a estimulação eléctrica. Os equinos de raça Garrana utilizados no presente estudo apenas apresentaram o genótipo A/A, pelo que não é possível que estes animais transmitam o alelo mutante à descendência.

A alteração genética do nucleótido C por um G (SNP P926MH), do gene RYR1 (*Receptor de Rianodina, tipo 1*), associada à doença Hipertermia Maligna (HM), causa a libertação excessiva de cálcio, com um estado hipermetabólico consequente e morte celular (Aleman *et al.*, 2004; Aleman *et al.*, 2009). A exposição a anestésicos voláteis (nomeadamente isoflurano e halotano), relaxantes musculares despolarizantes ou situações de stress fazem com que equinos afetados por esta patologia exibam taquicardia, hipertermia, rigidez muscular, rabdomiólise (ruptura do tecido muscular esquelético), acidose respiratória e metabólica e distúrbios eletrolíticos, podendo ser fatal (Aleman *et al.*, 2009).

O SNP P705HYPP é caraterizado pela alteração de C>G, que ocorre no gene SCN4A (*sodium voltage-gated channel alpha subunit 4*) e está associada à Paralisia Periódica Hipercalémica


**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

(HYPP), que se pode manifestar através de sinais clínicos, como ataques intermitentes de espasmos musculares e fraqueza, cólica, decúbito involuntário ou a morte do equino (Naylor *et al.*, 1999).

Estas duas últimas mutações (SNP P926MH e SNP P705HYPP) são autossómicas dominantes. Ou seja, as doenças são expressas apenas com uma cópia do alelo dominante. No entanto, a população Garrana analisada é homozigótica recessiva para o alelo normal, pelo que não transmitem o alelo mutante à sua descendência e, consequentemente, não deverão ser afetados pelas referidas patologias.

## Conclusão

Todos os animais da raça Garrana analisados são homozigotos para o genotipo dito selvagem nos 6 SNP's estudados e, neste caso particular, o facto de serem geneticamente homogéneos apresenta-se como uma vantagem, tendo em conta que os animais não revelaram ser portadores de alelos mutantes associados a certas patologias e aspetos menos desejáveis ligados à conformação dos equinos, não podendo, desta forma, manifestar e transmitir nenhuma doença relatada à descendência.

Os estudos de genética molecular fornecem medidas objetivas da diversidade entre e intra raças, independentemente do grau de organização dos Livros Genealógicos e do nível de conhecimento das genealogias, permitindo avaliar a importância de uma população, numa perspetiva de conservação, valorização e melhoramento dos recursos genéticos animais, podendo identificar atributos genéticos únicos ou a evidência de isolamento genético atual ou no passado e a sua importância cultural ou histórica.


**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

**Bibliografia**

Aleman, M., Nieto, J. E., & Magdesian, K. G. (2009). Malignant hyperthermia associated with ryanodine receptor 1 (C7360G) mutation in Quarter Horses. Journal of veterinary internal medicine, 23(2), 329-334.

Aleman, M., Riehl, J., Aldridge, B. M., Lecouteur, R. A., Stott, J. L., & Pessah, I. N. (2004). Association of a mutation in the ryanodine receptor 1 gene with equine malignant hyperthermia. Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine, 30(3), 356-365.

de Andrade, D. G. A., Basso, R. M., Magro, A. J., Laufer-Amorim, R., Borges, A. S., & de Oliveira-Filho, J. P. (2020). Evaluation of a new variant in the aggrecan gene potentially associated with chondrodysplastic dwarfism in Miniature horses. Scientific reports, 10(1), 1-10.

Eberth, J. E., Graves, K. T., MacLeod, J. N., & Bailey, E. (2018). Multiple alleles of ACAN associated with chondrodysplastic dwarfism in Miniature horses. Animal genetics, 49(5), 413-420.

Frischknecht M., Flury C., Leeb T., RiederS. and Neuditschko M. (2016). Selection signatures in Shetland ponies. Stichting International Foundation for Animal Genetics, 47, 370–372.

Makvandi-Nejad S, Hoffman GE, Allen JJ, Chu E, Gu E, Chandler A. M., Loredo A.I., Bellone R.R., Mezey J.G., Brooks S.A.and Sutter N.B. (2012) Four Loci explain 83% of size variation in the horse. PLoS One 7: e39929. doi:10.1371/journal.pone.0039929

Meira C.T., Fortes M.R.S., Farah M.M., Porto-Neto L.R., Curi R.A., Moore S.S. and Mota M.D.S.. A genome-wide association study for height at withers in racing Quarter horse. Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet. 20:420-423

Naylor, J. M., Nickel, D. D., Trimino, G., Card, C., Lightfoot, K., & Adams, G. (1999). Hyperkalaemic periodic paralysis in homozygous and heterozygous horses: a co-dominant genetic condition. Equine veterinary journal, 31(2), 153-159.

Signer-Hasler H, Flury C, Haase B, Burger D, Simianer H, Leeb T. and Rieder S. (2012) A Genome-Wide Association Study Reveals Loci Influencing Height and Other Conformation Traits in Horses. PLoS ONE 7(5): e37282. doi:10.1371/journal.pone.0037282

TOZAKI T., SATO F., ISHIMARU M., KIKUCHI M., KAKOI H., HIROTA K. and NAGATA S. (2016). Sequence variants of BIEC2-808543 near LCORL are associated with body composition in Thoroughbreds under training. J. Equine Sci. Vol. 27, No. 3 - pp.107–114.

Veronica Felt (Master's Thesis), 2016 - Genetic analysis of conformation traits in Icelandic horses with focus on head morphology and body length. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Animal Breeding and Genetics.

Wijnberg, I. D., Owczarek-Lipska, M., Sacchetto, R., Mascarello, F., Pascoli, F., Grünberg, W., ... & Drögemüller, C. (2012). A missense mutation in the skeletal muscle chloride channel 1 (CLCN1) as candidate causal mutation for congenital myotonia in a New Forest pony. Neuromuscular disorders, 22(4), 361-367.



**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

# Identificação dos animais genotipados

| Amostra | NIN | NOME | SEXO | DATA_NASC |
|---|---|---|---|---|
| 74653 | 257479 | ISA | F | 15/07/2013 |
| 74654 | 257472 | IDALIA | F | 30/05/2013 |
| 74655 | 260616 | ILIANA | F | 01/06/2013 |
| 74656 | 260750 | IRINA | F | 22/05/2013 |
| 74657 | 256067 | IVANA | F | 30/05/2013 |
| 74658 | 257280 | IBA | F | 21/07/2013 |
| 74659 | 258288 | IGUANA | F | 20/05/2013 |
| 74661 | 255374 | IPICA | F | 20/05/2013 |
| 74662 | 255370 | IMPERIAL | F | 30/05/2013 |
| 74663 | 256402 | IPICA | F | 11/06/2013 |
| 74664 | 256328 | IZAURA | F | 01/08/2013 |
| 74665 | 255358 | IMARA | F | 04/06/2013 |
| 74667 | 255344 | ISOLDA | F | 27/05/2013 |
| 74668 | 271096 | IRINA | F | 01/09/2013 |
| 74669 | 270405 | IMAIA | F | 01/06/2013 |
| 74670 | 255357 | IERIA | F | 02/06/2013 |
| 74671 | 255373 | ISBELTA | F | 31/05/2013 |
| 74672 | 256334 | IARIS | F | 31/05/2013 |
| 74673 | 259326 | IDALIA | F | 01/07/2013 |
| 74674 | 259261 | IDALIA | F | 14/08/2013 |
| 74675 | 259260 | IDILIA | F | 20/12/2013 |
| 74676 | 264705 | I-HICAS | F | 16/05/2013 |
| 74677 | 264595 | I-HACATA | F | 17/05/2013 |
| 74678 | 250822 | HAXOS | M | 30/05/2012 |
| 74679 | 250857 | HAMIN | M | 26/05/2012 |
| 74680 | 255977 | HSILO | M | 01/05/2012 |
| 74681 | 255123 | HEPICO | M | 15/04/2012 |
| 74682 | 248137 | HOMERO | M | 15/03/2012 |
| 74683 | 253064 | HAJIO VICENTE | M | 26/08/2012 |
| 74685 | 259841 | HUGO | M | 01/04/2012 |
| 74686 | 256474 | HITLER | M | 29/04/2012 |
| 74687 | 269929 | HAQUO | M | 01/04/2012 |
| 74688 | 251344 | HILTO | M | 30/04/2012 |
| 74689 | 250564 | HIPO | M | 10/03/2012 |
| 74690 | 250576 | HALDO | M | 01/06/2012 |
| 74691 | 253200 | HILO SANCHO | M | 01/03/2012 |
| 74692 | 250828 | HÉLIO MEÃES | M | 17/04/2012 |
| 74693 | 252163 | HENO | M | 17/03/2012 |
| 74694 | 296839 | HORACIO | M | 01/11/2012 |
| 74695 | 281256 | HERCULES | M | 05/05/2012 |



**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 74696 | 251157 | GAROTO | M | 08/06/2011 |
| 74697 | 251066 | GALA | M | 01/06/2011 |
| 74698 | 244950 | GAVE | M | 22/04/2011 |
| 74699 | 244952 | GANT | M | 20/04/2011 |
| 74700 | 245520 | GULIVER MEÃES | M | 15/05/2011 |
| 74701 | 244446 | GONÇALO MEÃES | M | 30/05/2011 |
| 74702 | 261910 | GAROTO | M | 05/05/2011 |
| 75482 | 270410 | JAZO | M | 01/05/2014 |
| 75484 | 258641 | ISOCO | M | 01/08/2013 |
| 75485 | 255958 | ICOS | M | 06/05/2013 |
| 75486 | 270407 | IZO | M | 31/07/2013 |
| 75487 | 255997 | IQIU | M | 25/04/2013 |
| 75488 | 259258 | IQUOLO | M | 03/04/2013 |
| 75489 | 255377 | IBIDO | M | 23/05/2013 |
| 75491 | 240346 | FADO | M | 12/05/2010 |
| 75492 | 240350 | FULO | M | 15/04/2010 |
| 75493 | 249358 | FOGUETE | M | 01/03/2010 |
| 75494 | 258281 | FERRADURA | M | 16/05/2010 |
| 75495 | 241957 | FELIZARDO | M | 15/05/2010 |
| 75496 | 241971 | FIDALGO | M | 22/05/2010 |
| 75497 | 240163 | FAUSTINO | M | 07/05/2010 |
| 75498 | 244352 | FIGO | M | 20/05/2010 |
| 75499 | 239465 | FAROL | M | 15/05/2010 |
| 75500 | 242391 | FUZETA | M | 25/04/2010 |
| 75501 | 239046 | FASCO | M | 07/05/2010 |
| 75502 | 239641 | FALCÃO | M | 07/08/2010 |
| 75503 | 243685 | FIGO SANCHO | M | 26/04/2010 |
| 75504 | 239139 | FORTUNA | M | 20/05/2010 |
| 75505 | 240806 | FALCAO | M | 12/05/2010 |
| 75506 | 241963 | FIGARRO | M | 17/04/2010 |
| 75507 | 262263 | JACIARA | F | 20/05/2014 |
| 75508 | 261997 | JACARTA | F | 22/04/2014 |
| 75509 | 261998 | JACA | F | 22/04/2014 |
| 75510 | 269933 | JURIMA | F | 02/04/2014 |
| 75511 | 260788 | JOANA | F | 07/04/2014 |
| 75513 | 260792 | JULIETA PENTIEIROS | F | 03/04/2014 |
| 75514 | 261550 | JAMARA | F | 10/04/2014 |
| 75515 | 269601 | JESSICA | F | 04/04/2014 |
| 75516 | 269602 | JAB | F | 30/05/2014 |
| 75517 | 269604 | JESSA | F | 31/05/2014 |
| 75518 | 263969 | JADE | F | 01/07/2014 |



**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 75520 | 264785 | JABARDA | F | 01/07/2014 |
| 75521 | 274686 | JULIETA | F | 10/08/2014 |
| 75522 | 261913 | JIPA | F | 03/05/2014 |
| 75524 | 262358 | JC | F | 28/02/2014 |
| 75525 | 262357 | JAZA | F | 31/03/2014 |
| 75526 | 262673 | JEITOSA | F | 15/05/2014 |
| 75527 | 291666 | JINA | F | 02/08/2014 |
| 75528 | 275887 | JUIZA | F | 28/08/2014 |
| 75529 | 293225 | JOAQUINA | F | 01/06/2014 |
| 75530 | 259577 | JANDIRA | F | 02/04/2014 |
| 75531 | 270408 | JAZA | F | 10/04/2014 |
| 108798 | 291351 | MAÇA | F | 2016-04-14 |
| 108799 | 291352 | MAFARRICA | F | 2016-04-22 |
| 108800 | 295960 | MIMOSA | F | 2016-03-28 |
| 108802 | 306625 | MIA | F | 2016-04-21 |
| 108803 | 306300 | MALAGUETA | F | 2016-03-10 |
| 108812 | 290867 | MARAVILHA | F | 2016-03-02 |
| 108813 | 299790 | MIMI | F | 2016-05-18 |
| 108814 | 290865 | MICOLADA | F | 2016-02-28 |
| 108832 | 295400 | MACDONALDS | M | 2016-04-22 |
| 108833 | 297666 | MOURO | M | 2016-04-26 |
| 108834 | 290855 | MUPO | M | 2016-05-01 |
| 108835 | 301684 | MILU | M | 2016-07-01 |
| 108836 | 306299 | MANTAS | M | 2016-03-01 |
| 108837 | 297664 | MARQUÊS DAS SEBES | M | 2016-06-09 |
| 108838 | 289536 | MÁRIO MEÃES | M | 2016-05-10 |
| 108839 | 294287 | MAJOR | M | 2016-07-20 |
| 131562 | 215838 | ZOR | M | 20/04/2004 |
| 131563 | 219510 | AMBAR | M | 20/10/2005 |
| 131564 | 219709 | ATICA | F | 21/05/2005 |
| 131565 | 234155 | DUNDA | F | 12/05/2008 |
| 131566 | 237105 | BIANCA | F | 30/04/2006 |


**Estação Zootécnica Nacional – INIAV Santarém**
Quinta da Fonte Boa – 2005-048 Vale de Santarém – Portugal
Tel: (+ 351) 243 767 300
Website: www.iniav.pt