

PERSPECTIVAS DO USO DE MARCADORES MOLECULARES NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE EQUINOS DE CORRIDA DA RAÇA QUARTO DE MILHA

Guilherme Luis Pereira^{1,2}
Inaê Cristina Regatieri²
Guilherme de Camargo Ferraz²
Antonio de Queiroz Neto²
Rogério Abdallah Curi³

RESUMO

A utilização de marcadores moleculares trouxe grande progresso ao melhoramento genético de espécies comerciais destinadas à produção, como bovinos, suínos e aves, principalmente com o aumento da acurácia de predição de valores genéticos e precocidade na seleção de animais superiores. Isto ocorreu por meio do uso de alguns poucos marcadores ligados a Locus de Características Quantitativas – QTL (Seleção Assistida por Marcadores) ou pela estimação de efeitos de milhares deles simultaneamente (Estudos de Ampla Associação do Genoma – GWAS ou Seleção Genômica – GS). Por outro lado, em outras espécies domésticas, incluindo os equinos, o emprego desta biotecnologia ainda é pouco explorado. Os primeiros estudos a identificar variantes genéticas ligadas a melhores desempenhos em corridas foram realizados recentemente na raça Puro-Sangue Inglês (PSI), resultando na implantação de testes genéticos que auxiliam criadores na seleção de animais com maior potencial genético. Esta revisão tem por objetivo descrever a atual situação dos marcadores moleculares aplicados à cavalos de corrida e as perspectivas do seu uso no melhoramento genético de equinos de corrida Quarto de Milha, raça de grande importância no mundo e também no Brasil.

Palavras-chave: cavalos, desempenho, gene candidato, QTL, SNPs.

PROSPECTS OF THE USE OF MOLECULAR MARKERS IN THE GENETIC BREEDING OF RACING QUARTER HORSES

ABSTRACT

The use of molecular markers has brought great progress to genetic breeding programs of commercial species aimed at production, such as cattle, pigs and poultry, especially with the increase of the accuracy of prediction of breeding values, allowing early selection of better animals. This occurred either through the use of a few markers linked to Locus of Quantitative Trait – QTL (marker-assisted selection) or the estimation of the effects of thousands of them simultaneously (Genome Wide Association Studies – GWAS or Genomic Selection – GS). However, in other domestic species, including equine, the use of this biotechnology remains underexplored. The first studies to identify genetic variants linked to better performance in races were performed with Thoroughbred horses, resulting in the implementation of genetic tests that assist breeders in selecting animals with greater genetic potential. The objective of this review was to describe the current status of molecular markers

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp – Botucatu, 18618-970 Botucatu, São Paulo, Brasil

² Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, 14884-900 Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

³ Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp– Universidade Estadual Paulista, 18618-970 Botucatu, São Paulo, Brasil. rogcuro@fmvz.unesp.br, Tel: 55 14 3880-2984

applied to racehorses and prospects of their use in genetic improvement of racing Quarter Horses, an important breed in the world and also in Brazil.

Keywords: candidate gene, horse, performance, QTL, SNPs.

PERSPECTIVA DEL USO DE MARCADORES MOLECULARES EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE EQUINOS DE CARRERAS DE LA RAZA CUARTO DE MILLA

RESUMEN

La utilización de marcadores moleculares trae gran progreso para el mejoramiento genético de especies comerciales destinadas a la producción, como bovinos, porcinos y aves, principalmente con el aumento de la precisión de predicciones de valores genéticos y rapidez en la selección de animales superiores. Esto ocurrió por medio del uso de algunos pocos marcadores ligados a Locus de Características Cuantitativas – QTL (Selección Asistida por Marcadores) o por la estimación de efectos de millones de ellos simultáneamente (Estudio de asociación del Genoma Completo – GWAS o asociación Genómica – GS). Sin embargo, en otras especies domésticas, incluyendo los equinos, el empleo de esta biotecnología aun es poco explorado. Los primeros estudios para identificar variantes genéticas ligadas a mejores desempeños en carreras fueron realizados recientemente en la raza Pura Sangre Ingles (PSI), resultando en la implantación de pruebas genéticas que auxilian a los criadores en la selección de animales con mayor potencial genético. Esta revisión tiene por objetivo describir la situación actual de los marcadores moleculares aplicados a los caballos de carrera y las perspectivas del uso en el mejoramiento genético de equinos de carrera Cuarto de Milla, raza de gran importancia en el mundo y también en Brasil.

Palabras clave: caballos, desempeño, gen candidato, QTL, SNPs.

INTRODUÇÃO

Nenhum outro animal doméstico desempenhou papel tão direto no desenvolvimento social e político da humanidade como o cavalo. Embora no início de sua domesticação tenham sido utilizados como fonte de matéria prima e alimentos, ao longo da história foram amplamente empregados como meio de transporte e no progresso agrícola. No século XX, com o desenvolvimento tecnológico das mais diversas áreas, grande parte do seu uso prático chegou ao fim, ficando restrito às regiões com baixo índice de desenvolvimento econômico. Contudo, os seres humanos mantiveram estreita relação com estes animais, criando-os para a prática de esportes, recreação, ou simplesmente por sua beleza física (1).

O uso de cavalos em práticas esportivas é o segmento mais lucrativo da equinocultura. Além das provas funcionais, as corridas movimentam grande volume de dinheiro devido às apostas, contratações, comércio de animais, etc. A pesquisa e a utilização de marcadores moleculares, seja por meio de painéis com alguns poucos ou milhares deles, tem trazido bons resultados no melhoramento genético de espécies comerciais de produção. Em equinos, a utilização desta biotecnologia ainda é restrita, com alguns estudos importantes realizados na raça Puro-Sangue Inglês (PSI). Tais estudos geraram alguns testes genéticos que visam auxiliar o processo de seleção de animais para desempenhos superiores em corridas.

Esta revisão tem como objetivos discorrer de modo sucinto a respeito da situação atual da equinocultura e do melhoramento genético de equinos no Brasil e no mundo, dos conceitos sobre marcadores moleculares e da prospecção destes para a seleção de animais superiores

para corrida na raça PSI, além da perspectiva de sua utilização em equinos da linhagem de corrida da raça Quarto de Milha, tendo em vista que os efeitos de polimorfismos de DNA sobre fenótipos são parâmetros intrínsecos de cada população, linhagem ou raça em determinado ambiente.

Equinos no Brasil e no Mundo

Atualmente há cerca de 60 milhões de cavalos no mundo, a maioria deles vivendo nas Américas, Ásia e alguns países da Europa. Os Estados Unidos é o país com maior contingente (aproximadamente 10,5 milhões), seguido da China (6,7 milhões), seguidos do México (pouco mais de 6 milhões), e Brasil (pouco menos de 6 milhões). Estes quatro países, conjuntamente, possuem cerca de 50% da população global de cavalos (2).

O impacto do agronegócio do cavalo no Brasil é bastante expressivo, tendo movimentado, em 2006, valor econômico superior a R\$ 7,5 bilhões ao ano e abrangendo cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (3). Neste sentido, considerando-se a estimativa de que o País possui 5.900.700 cabeças (4), constata-se que aproximadamente para cada dois cavalos há geração de um emprego.

A utilização de equinos na lida de rebanhos bovinos (aproximadamente cinco milhões) vem sendo o seguimento de maior destaque dentro do agronegócio do cavalo no Brasil, representando 52% da movimentação monetária e 78% dos empregos diretos gerados (3). Esta intensa relação tem feito os cavalos acompanharem os bovinos em seu deslocamento para as regiões Centro-Oeste e Norte do País.

Embora a utilização do cavalo na lida com bovinos seja marcante no contexto da equinocultura nacional, o seguimento que envolve os esportes equestres, acompanhando tendência mundial, tem crescido acentuadamente nos últimos anos. Neste sentido, no período de 1999 a 2004 o número de eventos envolvendo as diversas modalidades equestres (salto, adestramento, enduro, concurso completo de equitação, etc.) cresceu 315% (3), ou seja, aumento médio de 15,3% ao ano. Além da utilização do cavalo na lida da fazenda e nas provas equestres, a tendência de sua utilização para lazer vem aumentando significativamente. O cavalo também é utilizado na equoterapia, modalidade disponível há milhares de anos e, agora, reconhecida como de grande eficácia para o tratamento de inúmeros males físicos, psíquicos e comportamentais.

Apesar de certa polêmica envolvendo o tema, principalmente pelo papel histórico que o cavalo desenvolveu junto ao homem, o consumo da carne e de derivados de cavalos é comum em varias partes do mundo, sendo em alguns países da Ásia Central a principal fonte de proteína animal. Em muitos outros países da Europa, América do Sul e Ásia constitui parte significativa das tradições culinárias (5).

Melhoramento genético de equinos

Em relação a outras espécies de exploração zootécnica, as pesquisas na área de melhoramento genético são proporcionalmente menores em equinos, no mundo todo. No Brasil, em particular, dada à grandeza de sua tropa, esta distância é ainda mais evidente. Embora algumas pesquisas publicadas em cavalos envolvam a área de melhoramento genético, ainda não existem, efetivamente, programas consistentes de seleção nas diferentes raças criadas no Brasil. Neste sentido, pequenos grupos de pesquisadores ligados às universidades e institutos de pesquisa têm trabalhado na área, especialmente em relação a aspectos conservacionistas em raças nacionais ou quantitativos de caracteres de interesse econômico em raças nacionais e importadas.

Assim como em outras partes do mundo, não existem programas concretos de melhoramento genético para animais das raças PSI e Quarto de Milha criados no Brasil. O que se faz atualmente, em razão da disponibilidade de informações fenotípicas e de

genealogia aprofundada, é a estimação de parâmetros genéticos populacionais tais como herdabilidade e correlações genéticas de características de interesse. Desta forma, o que se tem, tanto no PSI como no Quarto de Milha, é a seleção dos indivíduos com base em premiação, desempenho em corridas e genealogia. Mas é possível que, como ferramenta de aperfeiçoamento, a seleção genética feita nestes moldes já não seja mais eficaz. Basta considerar os resultados de provas tradicionais do turfe, um tipo de corrida disputada apenas pela raça PSI, como o Kentucky Derby, nos Estados Unidos, ou o Grande Prêmio Brasil, para constatar que há 50 anos não são registradas melhoras significativas nos tempos dos vencedores. Algo mais refinado em relação à seleção e ao melhoramento genético de equinos vem sendo feito na Europa, com a utilização de modelos estatísticos mais adequados para a obtenção de valores genéticos individuais, como o BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) (6). Esta alternativa tem sido aplicada na criação de cavalos destinados a esportes olímpicos como o *cross country*, o adestramento e o salto.

Apesar de os criadores de cavalos para esporte cada vez mais almejem animais geneticamente superiores, capazes de apresentar melhor desempenho nas provas, existe um distanciamento entre pesquisa e aplicação prática que impede a realização de programas consistentes e contínuos de seleção. Embora tenha ocorrido um aumento significativo das publicações em diversas áreas relacionadas aos equinos (7), o melhoramento genético dos cavalos atletas continua sendo complexo, fazendo com que a obtenção de um animal superior para as provas equestres ou mesmo para o trabalho seja tarefa difícil. A maior causa desta dificuldade é a baixa herdabilidade do desempenho atlético e os valores de correlações genéticas existentes entre as características mais almejadas nos cavalos (8,9,10). A baixa herdabilidade do desempenho atlético em equinos pode ser um argumento a mais para a utilização de novas ferramentas disponíveis para a seleção e o melhoramento genético, tais como os marcadores de DNA ou marcadores moleculares, os quais serão apresentados mais a frente.

Também existem dificuldades e contratempos ao se pesquisar melhoramento genético de cavalos no Brasil que são inerentes à espécie equina como: baixos índices reprodutivos; altos intervalos de geração e parto; baixo número de progênie por parição e longo período de gestação, e em função de aspectos operacionais como: informações escassas e imprecisas de caracteres reprodutivos, comportamentais e de desempenho em grande parte das raças; baixa receptividade das associações de criadores às tecnologias reprodutivas; relação superficial entre órgãos técnicos e criadores.

A questão da aversão às biotécnicas reprodutivas tais como: inseminação artificial; transferência de embriões e fertilização *in vitro*, atualmente restrita de forma mais intensa à raça PSI, é outro fator que pode ter limitado o melhoramento genético pela não utilização massiva de animais superiores. Além de cultural, a não utilização destas técnicas está relacionada ao pequeno tamanho efetivo das populações de muitas raças de equinos, principalmente a PSI. Uma situação contrária, ou seja, de utilização destas ferramentas poderia aumentar ainda mais os níveis de consanguinidade e conseqüentemente de homozigose na raça, promovendo o surgimento de doenças genéticas e traços recessivos indesejados.

Também existem algumas vantagens relativas à pesquisa na área de melhoramento genético de cavalos, utilizando-se princípios de genética quantitativa. A profundidade da genealogia na maioria das raças é alta, características de desempenho geralmente podem ser medidas em ambos os sexos, repetidamente, e em períodos de tempo relativamente curtos.

Com relação à produção dos cavalos atletas, o Brasil aperfeiçoou desde o manejo, pastagem e reprodução até a genética, mesmo que muitas vezes de maneira empírica. Esta preocupação com o melhoramento da qualidade do plantel brasileiro vem ganhando força e a

sua consequência pode ser a expansão da equinocultura no país, observada principalmente por meio do crescimento do número de eventos esportivos.

Fisiologia e metabolismo do músculo estriado esquelético

Muitos dos processos fisiológicos ligados ao ótimo desempenho atlético têm mostrado alguns aspectos semelhantes em humanos e equinos (11,12). Para equinos de competição, o sucesso em provas depende principalmente da capacidade metabólica do animal para converter energia química em mecânica. Componentes destes processos energéticos incluem a taxa, a eficiência e a interação dos metabolismos creatina-fosfato, anaeróbio e aeróbio nos músculos e do fornecimento de glicose e oxigênio por meio do sistema cardiovascular. Cavalos desempenham diferentes tipos de exercício físico, variando de predominantemente anaeróbio para predominantemente aeróbio. Corridas curtas de cavalos da raça Quarto de Milha (201 a 503 metros) são predominantemente anaeróbias, já algumas classes de exercícios de arena, como apartação e rédeas, modalidades desempenhadas pela linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha, intercalam curtos turnos de exercício anaeróbio com maiores períodos de atividade aeróbia (13). Por sua vez, as corridas longas da raça PSI (800 a 3.218 metros) são predominantemente aeróbias.

O músculo esquelético nos mamíferos demonstra alto grau de plasticidade e se adapta rapidamente a diferentes exercícios. Esta adaptação é devido às respostas ao tipo de contração, intensidade dos exercícios, nível de oxigênio e, principalmente, aos exercícios ou treinamentos envolvendo resistência muscular (14,12). Os tipos de fibras musculares podem ser classificados com base na fonte primária de energia (oxidativa/aeróbia ou glicolítica/anaeróbia) e velocidade de contração. Em mamíferos são classificadas como; tipo I ou oxidativa (contração lenta) e; tipo II ou glicolítica (contração rápida), podendo a última ser dividida em diferentes subclasses como, tipos IIA, IIB, IIC e IIM (15). Levando-se em consideração o tipo de treinamento físico, as concentrações do oxigênio no tecido muscular podem variar e atuar sobre a regulação de seu metabolismo (oxidativo ou glicolítico). Em humanos foi constatado que treinamentos de resistência elevam o volume de oxigênio máximo (VO_2 max) e o metabolismo aeróbio. Estes efeitos são provocados, em parte, por meio de um aumento de até 40% na densidade de capilares e de até 30% no número de mitocôndrias musculares, juntamente com o aumento da proporção das fibras oxidativas (16).

Adenosina trifosfato (ATP) é a fonte de energia utilizada pelas fibras musculares para contração. Durante o trabalho muscular, o ATP é hidrolisado em adenosina difosfato (ADP) por meio da enzima miosina-ATPase, liberando fosfato inorgânico e energia para a contração. A adenosina difosfato (ADP) resultante da hidrólise do ATP é fosforilada a partir de creatina-fosfato, com função de manter os níveis de ATP celular constantes. Para a obtenção de ATP, o animal pode utilizar os estoques de creatina-fosfato ou do glicogênio muscular (metabolismos anaeróbio e aeróbio). Entretanto, como o estoque de creatina-fosfato no músculo é muito pequeno, essa via metabólica de produção de ATP predomina apenas nos primeiros segundos – explosão (15).

Quando o músculo utiliza o glicogênio de reserva para obtenção de energia sob a forma de ATP, a glicose é convertida em piruvato e durante o metabolismo aeróbio, o piruvato é oxidado pelo oxigênio molecular, em CO_2 e H_2O . A via aeróbia produz grande quantidade de ATP, porém leva longo tempo para isso devido às numerosas reações que ocorrem na glicólise. Em exercícios físicos de curto tempo e maiores intensidade, os animais necessitam de produção mais rápida de ATP e o oxigênio fornecido aos tecidos musculares pode não ser suficiente para oxidar totalmente o piruvato (17). Nestes casos, a produção de energia acontece predominantemente pelo metabolismo anaeróbio e a glicose é convertida em piruvato e depois em lactato pela via da fermentação láctica, obtendo ATP sem recorrer ao oxigênio (18). Desta forma, a via glicolítica anaeróbia gera acúmulo de lactato e de prótons

H⁺ no músculo e no sangue, o que constitui a principal causa da fadiga e da dor muscular (19,20).

Outra possível causa da fadiga seria a incapacidade de utilização do fosfato inorgânico (Pi) formado na hidrólise do ATP em ADP para a restauração do ATP. Desta forma, o Pi se acumula no citoplasma na forma de KH₂PO₄, que, por sua acidez, atua diretamente sobre as proteínas contráteis, diminuindo sua capacidade de desenvolver tensão dentro dos sarcômeros (15).

Marcadores moleculares

Marcador molecular é toda e qualquer variação oriunda de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA (regiões expressas ou não do genoma). Ao se verificar que esses marcadores segregam de acordo com as leis mendelianas para características monogênicas, ou apresentam distribuições compatíveis com as esperadas para características poligênicas, marcador molecular é também definido como marcador genético (21). Neste sentido, marcadores de DNA são um tipo de marcador molecular e, na maior parte das vezes, marcadores genéticos. Do ponto de vista molecular ocorrem três tipos principais de variações na molécula de DNA, as regiões repetitivas (minissatélites e microssatélites), as inserções e deleções (InDels) e as alterações de uma única base (Polimorfismos de Nucleotídeo Único - SNPs).

Marcadores moleculares permitem que os genótipos dos indivíduos sejam determinados em muitos loci (22), possibilitando que parâmetros genético-populacionais como frequências alélicas e genotípicas sejam estimados. Estas informações permitem a comparação de frequências entre populações e revelam diferenças em suas composições genéticas que podem contribuir para variações fenotípicas (23). Isto é possível tendo em vista que ao longo da domesticação e formação das raças, os animais domésticos experimentaram a seleção natural e a artificial. Estas pressões de seleção levaram ao aumento da frequência de algumas mutações em regiões específicas do genoma, as quais tornaram os indivíduos mais adaptados ou deram a eles características favoráveis com base na demanda humana. Ao mesmo tempo, outros polimorfismos apresentaram diminuição de frequência ou eliminação completa.

Entretanto, para a identificação das regiões do DNA responsáveis por características de interesse, recorreu-se durante muito tempo a algumas estratégias diferentes, como a localização de QTL pela análise de regiões microssatélites do maior número possível de indivíduos de grandes famílias, originárias de acasalamentos direcionados (24). Porém, a aplicação dessa ferramenta esbarrava na dificuldade de se constituir famílias para o estudo, no elevado custo para a manutenção dos animais, principalmente em espécies, cujo intervalo entre gerações é grande (caso dos bovinos e equinos), e na quantidade de trabalho e tempo necessários para a coleta dos dados moleculares. Além disso, após a identificação do QTL ainda havia longo caminho a percorrer até a descoberta dos genes e polimorfismos diretamente implicados com o fenótipo.

Metodologia alternativa para minimizar essas dificuldades foi a busca de genes candidatos principais, onde o objetivo é estudar os mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de interesse, na tentativa de pesquisar variações de genes específicos entre indivíduos que apresentam fenótipos diferentes (25). A estratégia do gene candidato tem como maior vantagem o fato de não ser obrigatório a genotipagem de grande número de indivíduos de grandes famílias originados de acasalamentos direcionados, uma vez que, a princípio, espera-se que o polimorfismo estudado seja determinante direto de variação fenotípica, ou seja, causal ou em forte desequilíbrio de ligação com o polimorfismo causal. Entretanto, polimorfismos que segregam e se encontram associados a características interessantes em animais de certa linhagem ou raça, podem não segregar em animais de outras linhagens ou raças da mesma espécie.

Além disso, resultados positivos de associação entre polimorfismos e características de interesse obtidos para populações de animais de uma linhagem ou raça não são imediatamente aplicáveis à populações de linhagens ou raças diferentes, uma vez que efeitos de substituição de alelos de um polimorfismo são parâmetros intrínsecos de cada população ou raça em determinado ambiente (26). Assim sendo, antes de transpor marcadores das populações onde foram identificados para a comercialização, é fundamental a corroboração dos seus efeitos sobre as características de interesse em diferentes raças e ambientes em processo conhecido como validação.

Marcadores SNPs

À medida que as sequências de nucleotídeos dos genomas foram sendo desvendadas, característica observada foi o grande número de variações de ponto (um nucleotídeo) encontradas ao se comparar segmentos correspondentes do mesmo genoma. As mais comuns ocorrem, aproximadamente, a cada 600 bases e são denominadas polimorfismos de nucleotídeos únicos ou SNPs.

As substituições mais frequentes observadas no DNA envolvem bases nitrogenadas de mesma característica estrutural, ou seja, são trocas entre duas purinas (A/G ou G/A) ou duas pirimidinas (C/T ou T/C) e são denominadas transições. As transversões são substituições de uma purina por uma pirimidina ou o contrário. Essas alterações podem ser provocadas por erros de incorporação de bases durante a replicação do DNA ou em outros casos, são causadas por agentes ambientais. Caso essas alterações ocorram em células germinativas, sejam transmitidas às gerações seguintes e se fixem na população a uma frequência mínima de 1%, passam a ser denominadas de polimorfismos (27).

Os SNPs podem ocorrer em regiões codificadoras ou com função regulatória, bem como em espaços intergênicos, sem função determinada. Em regiões codificadoras, quando resultam em substituição de aminoácido na sequência proteica, são denominados não sinônimos, podendo a substituição ser conservativa ou não conservativa em função das características dos aminoácidos envolvidos na troca. Nesses casos, pode haver modificações estruturais e funcionais na proteína. Embora SNPs sinonímicos não alterem a sequência proteica, eles podem modificar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro e conseqüentemente, afetar a quantidade de proteína produzida. Esta também pode ser afetada quando ocorrem alterações nas regiões não traduzidas do RNA mensageiro (5' UTR e 3' UTR). Além disso, polimorfismos gênicos podem promover processamentos alternativos, geração ou supressão de códons de terminação, alteração nos códons de iniciação da tradução e alterações no padrão de expressão de genes quando a troca de bases ocorre em sequências promotoras (28).

Recentemente, polimorfismos intrônicos ganharam importância pelo fato de não mais poderem ser descartados como possíveis responsáveis diretos por alterações fenotípicas. RNAs não codificantes transcritos a partir de regiões de introns (micro-RNAs) estão envolvidos em diferentes processos biológicos tais como os controles transcricional e pós-transcricional da expressão gênica (29).

Estudos em humanos e em espécies de interesse zootécnico mostraram a ocorrência de milhões SNPs ao longo do genoma de um indivíduo (*Human Genome Project Information, The SNP Consortium LTD, Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, EquCab2.0 SNP Collection*). Além dos marcadores SNP serem abundantes, suas bases moleculares permitem sua distribuição homogênea pelo genoma (30).

Marcadores moleculares no melhoramento genético de equinos

Apesar da maior dificuldade de aplicação de ferramentas moleculares em estudos visando a seleção e o melhoramento genético de equinos em função, entre outros, da

disponibilidade de animais, as informações referentes ao genoma da espécie vêm experimentando expansão sem precedentes.

De acordo com Chowdhary (31), entre os maiores destaques provenientes da análise do genoma de equinos estão o seu sequenciamento completo (EquCab2.0) e, a partir deste, a identificação de 750 mil SNPs com o sequenciamento inicial da égua “Twilight” da raça Puro-Sangue Inglês, e outros 400 mil detectados em equinos de sete diferentes raças. Dados provenientes do sequenciamento de uma égua Quarto de Milha revelaram que dos 3,15 milhões de SNPs descobertos, 2,8 milhões são SNPs novos, incluindo 18 mil SNPs não sinônimos e 2,6 mil complexos (32). Como resultado destes desenvolvimentos e da aplicação dos chips de SNPs, pode ser antecipado que, nos próximos anos, as bases genéticas de importantes características monogênicas serão analisadas com maior acurácia e rapidez e as características complexas/multigênicas de interesse terão seus componentes genéticos dissecados.

Ao longo dos últimos nove ou dez anos, muitas equipes de pesquisa ao redor do mundo analisaram grande quantidade de genes candidatos individuais buscando a identificação de marcadores potencialmente associados à características de interesse em cavalos tais como: cor da pelagem (33,34,35); doenças (36,37,38); resistência a doenças (39,40,41); reprodução e fertilidade (42,43); comportamento e temperamento (44,45); e desempenho (14,46-50).

Projetado para permitir a identificação de regiões genômicas modificadas pela seleção e a identificação de SNPs e genes que contribuem para características de interesse nas principais raças de equinos criadas atualmente no mundo, o *Equine SNP50 BeadChip* da empresa Illumina (Illumina Inc., USA) constitui-se em poderosa plataforma para a seleção e o melhoramento genético da espécie, habilitando pesquisadores da área a conduzir vasta gama de experimentos em que a aplicação da genotipagem de polimorfismos de DNA é necessária. Já em sua segunda geração, o novo SNP *chip* equino (*Equine SNP70 BeadChip*; Illumina Inc., EUA) possui aproximadamente 65 mil SNPs, dos quais 19 mil são novos marcadores e 45 mil foram validados no *Equine SNP50 BeadChip*.

Em um primeiro momento, esses chips serviram com sucesso, principalmente, à identificação de SNPs, regiões genômicas e genes relacionados à importantes doenças e síndromes que acometem determinadas raças tais como lordose (51,52), osteocondrose (53,54), neuropatia laringeal recorrente (55), nanismo (56) e síndrome do potro lavanda (57). Mais recentemente, características complexas relacionadas ao desempenho em provas esportivas e aptidões específicas tem sido alvo de pesquisas por meio de chips de SNPs para equinos (12,58-60).

Detalhamento da raça Quarto de Milha

O cavalo da raça Quarto de Milha teve sua formação na América do Norte, a partir do século XVII, com a introdução de equinos de origem árabe e turca, trazidos por colonizadores europeus. Contudo, seu maior desenvolvimento ocorreu com a ocupação do oeste Norte Americano, devido à necessidade de cavalos robustos e versáteis, com aptidão à sela e à tração, visto a dificuldade de se manter plantel variado de animais para atender as diversas necessidades. A população desses equinos cresceu e em 1940 fundou-se a *American Quarter Horse Association* (AQHA), primeira envolvendo a raça. Atualmente conta com aproximadamente cinco milhões de cavalos registrados em todo o mundo (61).

No Brasil existem aproximadamente 424.000 animais registrados junto a Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha (ABQM), desde sua fundação em 1969, tendo impacto relevante no agronegócio nacional do cavalo, visto que estão avaliados em aproximadamente US\$ 827,3 milhões, ocupando área de 593,2 mil hectares de propriedades rurais. A mão de obra empregada diretamente é bastante significativa, oferecendo 318 mil empregos diretos (média de quatro funcionários por criador ou proprietário) (61).

Dentro da raça Quarto de Milha há subdivisão em diferentes segmentos de aptidão, provenientes de distintos objetivos de seleção, consideradas linhagens, entre as quais: a de trabalho, a de conformação e a de corrida. A linhagem de trabalho destina-se às provas de caráter funcional, explorando habilidades como agilidade e obediência, características consideradas de grande importância no manejo do gado a campo. Dentro desta linhagem sempre houve grande interesse na produção de cavalos com *cow sense* superior (62). *Cow sense*, ou habilidade de trabalhar com o gado bovino, pode ser medida pela capacidade do cavalo em cercar o gado e apartar do rebanho um animal escolhido (63), com pouca assistência do cavaleiro (62). Acredita-se que o cavalo deve ter a habilidade de perceber e antecipar os movimentos do bovino para ser um bom apartador (64). A linhagem de conformação enfatiza a morfologia do padrão racial.

A linhagem de corrida explora a aptidão dos animais quanto à velocidade em pistas retas e de curta distância. Destacadamente equinos desta raça tem melhor desempenho em corridas de curtas distâncias do que qualquer outra raça (61), sendo os mais velozes cavalos do mundo e um dos mais velozes dentre todos os animais, podendo alcançar velocidades de até 88 km/h e percorrer, a partir de uma posição estática, $\frac{1}{4}$ de milha (402 metros, aproximadamente) em menos de 21 segundos (65). Apesar do efetivo de animais ser relativamente menor nesta que nas demais linhagens, sua importância econômica é substancial, não somente por gerar renda por meio de premiações e apostas (US\$ 2,5 milhões 3 (3), mas também pelo elevado custo gerado na manutenção destes animais dentro desta modalidade esportiva (entre R\$ 800,00 e R\$ 1.400,00, em média mensal, excluindo-se medicamentos e procedimentos veterinários).

Não há estudos de melhoramento genético no Brasil envolvendo a linhagem de trabalho, basicamente devido à escassez/inconsistência de informação de desempenho armazenada atualmente no *Stud Book* da ABQM. No entanto, desde 2009, esta associação vem de modo regular, registrando dados de desempenho de todos os animais participantes de provas por ela homologadas, o que permitirá no curto prazo, a realização de pesquisas. Pelos mesmos motivos, que os da linhagem de trabalho, não há pesquisas na área de melhoramento envolvendo a linhagem de conformação. Uma vez que apenas na linhagem de corrida encontram-se disponíveis dados de desempenho em quantidade e consistência suficientes, somente nela foram realizadas pesquisas envolvendo melhoramento genético (66,67,68).

Um atributo seletivo para o Quarto de Milha de corrida é a pontuação conhecida como Índice de Velocidade (IV), que é obtido durante sua campanha, com o intuito de classificar o desempenho do animal. Seu cálculo está relacionado com o tempo obtido na corrida ajustando-se para diferentes distâncias percorridas. Os animais com IV superior acabam sendo valorizados economicamente e são utilizados mais intensamente na reprodução e, portanto, interferindo na formação da linhagem. O IV foi criado nas corridas da raça Quarto de Milha com o intuito de permitir comparação de desempenhos entre os animais em diferentes condições (distâncias, hipódromo, clima, país) (69).

Cada hipódromo tem sua própria tabela de IV para cada distância, que é elaborada a partir da média das três vitórias mais rápidas (três melhores tempos) para cada um dos três últimos anos consecutivos, sendo que o valor da média destes nove tempos equivalerá ao IV igual a 100 (68). Os pontos de IV são inteiros e variam de acordo com o tempo, ao nível de centésimos de segundo, seguindo ajustes em acordo com a distância percorrida. A tabela de IV (Tabela 1) faz a conversão do tempo em pontos do IV com ajustes pelas distâncias. Como exemplo, nas distâncias de 365 metros (m), 402 m e 503 m, a cada 4 centésimos de segundo, a mais ou a menos, que um animal obtém, em relação ao tempo que representa o índice de velocidade igual a 100, diminui-se ou acresce-se um ponto neste índice. Assim, ao se considerar que a média das nove vitórias (IV = 100) foi de 22 segundos para os 402 m, o animal cujo tempo se situe entre 22,01 e 22,04 terá IV igual a 99, se o tempo estiver entre

22,05 e 22,08 o IV será 98, e assim por diante. Por outro lado, se o tempo estiver entre 21,96 e 21,99 será acrescido em um ponto, obtendo o IV 101, e os que tiverem tempo entre 21,92 e 21,95 seus IVs serão de 102 pontos, e assim sucessivamente. Para distâncias menores, o cálculo do IV é realizado considerando-se menor variação do tempo, Em 320 m se alternará a cada 3 e 4 centésimos de segundo, iniciando com 3 centésimos de segundo, enquanto que em 301 m e 275 m será de 3 centésimos de segundo e em 228 m será a cada 2 centésimos de segundo. Esta tabela é válida para animais que correm carregando peso mínimo de 53 Kg. Para aqueles com peso inferior, deve-se acrescentar 5 centésimos de segundo ao seu tempo, para cada quilo a menos.

Tabela 1. Variação para pontuação do índice de velocidade (IV), de acordo com a distância (metros), tendo como ponto de partida os tempos referentes ao IV igual a 100.

	Tempo (Centésimos de segundo)			
	4	3 e 4*	3	2
Distância(m)	365	320	275	228
	402		301	
	503			

* alternados, iniciando-se com três centésimos.

Com o intuito de se estabelecer um registro para desempenhos, criou-se o Registro de Mérito em Corridas (Tabela 2), atribuído aos animais com IV igual ou superior a 80 pontos.

Tabela 2. Classificação do registro de mérito de acordo com o IV.

	Índice de Velocidade (pontos)		
	80 a 90	91 a 99	>100
Registro de mérito	AA (Double A)	AAA (Triple A)	AAAT (Top Triple A)

Genes candidatos para desempenho em equinos de corrida

O potencial atlético em mamíferos é influenciado por complexa inter-relação entre conjunto de genes e fatores ambientais (49). A contribuição genética para potencial atlético em humanos é bem documentada, no qual mais de 220 genes já foram descritos (70).

Embora seja provável que o desempenho atlético em equinos também seja influenciado por grande número de genes, até o momento poucas variantes genéticas foram relacionadas à característica, exclusivamente em animais Puro-Sangue Inglês, entre estas SNPs nos genes *myostatin* – *MSTN* (14,58,59,71), *piruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4* – *PDK4* (72,49), *creatine kinase, muscle* – *CKM* e *cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2* – *COX4I2* (50). Recentemente, um SNP do gene *doublesex and mab-3 related transcription factor 3* – *DMRT3* equino foi associado de forma altamente significativa à marcha em equinos de diversas raças. Esta mutação afeta consideravelmente a coordenação motora ligada à locomoção (73).

Além dos genes mencionados acima, outros dois podem ser considerados de importância para o aprofundamento de estudos em razão do papel fisiológico desempenhado por seus produtos. Os genes *monocarboxylate transporter 1* – *MCT1* e *cluster of differentiation 147* – *CD147* estão relacionados ao controle e retardamento da fadiga muscular

(74). Neste sentido, o estudo de polimorfismos em suas sequências podem providenciar informações e ferramentas genéticas úteis para a seleção de equinos atletas.

MSTN – myostatin

O *MSTN* é membro da família de genes *transforming growth factor-beta* (TGF- β), é expresso no tecido muscular esquelético e atua como regulador negativo do crescimento da massa muscular. Várias mutações ou polimorfismos têm sido identificados no *MSTN* em bovinos (75,76), ovinos (77), camundongos (78) e mais recentemente em humanos (79), entre outros, resultando em fenótipos de hiperplasia e hipetrofia muscular (dupla musculatura).

Polimorfismo do *MSTN* em cães de corrida da raça Whippet mostrou-se associado a aumento da massa muscular e também à habilidade atlética (80). Binns et al. (59) utilizaram 189 cavalos Puro-Sangue Inglês vencedores de corrida na América do Norte e identificaram por meio chips de SNPs (*Illumina Equine SNP50 BeadChip*) dois polimorfismos (BIEC2-417274 e BIEC2-417495) associados a distância ótima de corrida. Análises de bioinformática revelaram que estes SNPs com maiores significâncias estatísticas e localizados no cromossomo equino 18 (ECA18), são vizinhos ao loco do gene *MSTN*. Em pesquisa paralela e publicada no mesmo ano, Hill et al. (58), também utilizando o *Equine SNP50 BeadChip* em 118 cavalos elite Puro-Sangue Inglês de corrida, divergentes em relação à distância ótima de corrida, e identificaram o SNP BIEC2-417495 (localizado no cromossomo 18 a aproximadamente 690Kb do gene *MSTN*), como o mais significativamente relacionado à característica.

Ao analisar o gene *MSTN* equino em amostra de 148 cavalos Puro-Sangue Inglês registrados, Hill et al. (14) identificaram um novo polimorfismo (g.66493737C>T) fortemente associado à distância ótima de corrida, para o qual animais de genótipo CC mostraram-se adequados para corridas de distâncias curtas (rápidas), animais de genótipo CT para corridas de distâncias médias e animais de genótipo TT para corridas de distâncias longas (resistência). Segundo os mesmos autores, testes comparativos de associação demonstraram consistentemente o SNP g.66493737C>T como variante superior na predição de aptidão para distâncias em cavalos de corrida da raça Puro-Sangue Inglês.

De fato, em estudo recente, envolvendo 33 raças (n = 744), foi encontrada na região do gene *MSTN* assinatura de seleção em equinos da raça Paint Horse e Quarto de Milha (81). Com sequenciamento e análise histológica demonstrou-se que o SNP em questão (g.66493737C>T), localizado no intron 1, e uma variação altamente correlacionada (95%) da região promotora (SINE de 227 pb), estavam significativamente associados ao volume da fibra muscular do tipo IIX (81). Atualmente a genotipagem deste SNP é empregada de forma comercial para auxiliar a predição da distância ótima de corrida em equinos da raça Puro-Sangue Inglês.

DMRT3 - doublesex and mab-3 related transcription factor 3

A família de genes *DMRT* (*DMRT1-8*) codifica vasta gama de fatores de transcrição cuja função vem sendo bastante estudada em vertebrados e invertebrados. Seus padrões de expressão não estão restritos somente ao desenvolvimento das gônadas, mas também a outros processos de desenvolvimento, envolvendo principalmente o sistema nervoso central (82).

O *DMRT3* codifica importante fator de transcrição na configuração de circuitos da medula espinhal, controlando o movimento em vertebrados. Está envolvido na especificação neuronal, incluindo a subdivisão de células da medula espinhal, e o desenvolvimento de uma rede de neurônios responsável pela coordenação do sistema locomotor que controla os movimentos dos membros. Por meio do silenciamento deste gene (*DMRT3*^{-/-}) em camundongos observou-se menor gasto de tempo de nado e espasmos frequentes nos movimentos dos membros, quando colocados em água, padrão este que não foi observado nos

camundongos controle. Em esteira, camundongos *DMRT3*^{-/-} tiveram maior dificuldade de movimentos em alta velocidade e apresentaram passadas significativamente mais longas, creditada ao maior tempo no movimento de extensão. Heterozigotos não diferiram dos controles (73).

Dentre os equinos, naturalmente ocorrem três padrões de locomoção, em ordem crescente de velocidade: o passo; o trote e o galope. Alguns cavalos podem alternar o padrão intermediário de velocidade pela marcha, sendo, conseqüentemente, incapazes de desenvolver grande velocidade. Em estudo de associação ampla do genoma (GWAS), um marcador foi significativamente associado com o padrão de movimento em equinos da raça Islandesa. Após sequenciamento da região foi identificado um SNP (g.22999655C>A) no gene *DMRT3* significativamente associado ao tipo de andamento (73).

Em análise inicial com diversas raças, a frequência do alelo A foi próxima a 100% em raças marchadoras, com altas frequências de homozigotos AA, e 0% em raças não marchadoras (73). Posteriormente, mostrou-se a ocorrência do alelo A, ainda que em baixa frequência, em raças não marchadoras (83). De acordo com Andersson et al. (73), a ocorrência da variante A do SNP g.22999655C>A cria *stop códon* prematuro que resulta em proteína de 300 aminoácidos contra 438 do tipo selvagem (alelo C). Assim, o alelo mutante (A) do gene *DMRT3* pode se mostrar prejudicial para raças de velocidade, diminuindo o desempenho de cavalos em corridas.

CKM - creatine kinase, muscle

O gene *CKM*, mapeado no cromossomo equino 10 (ECA10), codifica um tipo muscular de isoenzima da creatina quinase encontrada exclusivamente no músculo estriado e envolvida em processos celulares energéticos, como a fosforilação da creatina formando a creatina fosfatada (creatina-fosfato). Durante exercício, camundongos *CKM* nocaute mostraram falta de explosão muscular, mas mantiveram as condições normais de força absoluta (84). Polimorfismos no gene *CKM* humano têm sido associados com aumento na resistência cardio-respiratória assim como ao consumo máximo de oxigênio após vinte semanas de treinamento (85).

O transcriptoma do músculo esquelético de cavalos Puro-Sangue Inglês mostrou que o mRNA do *CKM* é o mais abundantemente expresso, representando 6,9% de todo o transcrito (48). Por outro lado, estudos indicaram que o mRNA do *CKM* compõe aproximadamente 1% do transcriptoma músculo esquelético humano (86). A expressão muito elevada do mRNA do *CKM* no músculo esquelético equino em comparação ao humano é indicativo da importância do produto do gene no fenótipo atlético altamente adaptado do Puro-Sangue Inglês. Em apoio a estes dados, transcritos do gene *CKM* equino aumentaram significativamente após quatro horas de exercício em esteira e após período de 10 meses de treino (87).

O fator de regulação interferon (IRF-1) é um fator de transcrição mediado por oxigênio envolvido na biogênese e metabolismo mitocondrial. Em humanos foi demonstrado ser significativamente ativado após um período de persistência no exercício físico (88). O SNP g.15884567A>G do gene *CKM* equino, localizado no intron 4, rompe um suposto sítio de ligação do IRF-1 (50). Ao investigar o efeito do polimorfismo g.15884567A>G do gene *CKM* sobre a retrospectiva de desempenho em corridas em 148 animais da raça Puro-Sangue Inglês, Gu et al. (50) encontraram o alelo A como favorável para a característica, sendo que indivíduos de genótipos AA e AG apresentaram-se superiores em relação aos GG. Os autores ressaltaram, entretanto, que tais resultados preliminares de associação entre o polimorfismo do *CKM* e performance em corrida deve ser validado e outras populações de equinos antes que a aplicação da informação possa ser utilizada.

PDK4 - piruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4

A expressão do gene *PDK4*, localizado no cromossomo equino 4 (ECA4), é coordenada pelo co-ativador transcricional PGC-1 α (89), o qual tem sido identificado como um dos fatores críticos no controle da adaptação ao exercício (90). O PGC-1 α é um regulador chave do metabolismo energético que atua regulando a sensibilidade à insulina pelo controle do transporte de glicose, mediando a angiogênese induzida por exercício (91) e coordenando a biogênese mitocondrial (92).

A regulação da utilização da glicose é rigidamente controlada pela captação de glicose pelos seus transportadores, pela taxa de fluxo glicolítico e pela conversão de piruvato em acetil-CoA na mitocôndria por meio da função catalisadora do complexo piruvato desidrogenase (PDC). O passo crítico limitante da velocidade de oxidação da glicose é a regulação da montagem do PDC, que é controlado pela piruvato desidrogenase quinase (PDK). A PDK bloqueia a formação do PDC, resultando na beta-oxidação de ácidos graxos para acetil-CoA como substrato para a fosforilação oxidativa. A oxidação de ácidos graxos é altamente eficaz na geração de ATP e é controlada pela expressão de *PDK4* no músculo esquelético durante e após o exercício (93).

Eivers et al. (87) identificaram aumento significativo da expressão do mRNA do gene *PDK4* (+7,4-fold) em músculos esqueléticos de equinos durante a recuperação do exercício físico. Considerando-se que variação na expressão gênica pode ser fortemente influenciada por variações genéticas estruturais, Hill et al. (49) investigaram a possibilidade de associações entre SNPs identificados no *PDK4* e desempenho em corrida de cavalos da raça Puro-Sangue Inglês. Encontraram o SNP g.38973231A>G fortemente associado com a característica, sendo que indivíduos de genótipo AA e AG apresentaram maior *handicap rating* em relação aos de genótipo GG.

COX4I2 - cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2

Citocromo c oxidase (COX) é uma enzima multi-subunidade (Complexo IV) que catalisa a transferência de elétrons do citocromo c reduzido para o oxigênio na respiração mitocondrial. COX é um dímero no qual cada monômero é composto de 13 subunidades, das quais três são codificados pelo genoma mitocondrial (COX1, 2 e 3). O COX4, codificado pelo DNA nuclear, é responsável pela regulação e montagem das subunidades mitocondriais codificadas no interior da membrana da organela e tem sido associado com o seu volume. O COX4 compreende duas isoformas (COX4-1 e COX4-2) codificadas pelos genes *COX4I1* e *COX4I2*, os quais são diferencialmente regulados em ambientes de normóxia (oxigênio normal) e hipóxia (falta de oxigênio) (94). Em ambientes com oxigênio normal, o gene *COX4I1* é preferencialmente transcrito. Em ambientes de oxigênio limitado o regulador principal de resposta à hipoxia, HIF-1 (fator induzível de hipoxia 1), ativa a transcrição dos genes *COX4I2* e *LON* mitocondrial, o que inibe a expressão do *COX4I1*. Neste sentido, tem sido proposto que a regulação ambiental de COX4-2 pode aumentar a eficiência da respiração celular (94).

Gu et al. (50) identificaram uma fraca, mas significativa, associação entre o SNP intrônico g.22684390C>T do gene *COX4I2* de equinos, localizado no cromossomo 22 (ECA22), e a retrospectiva de desempenho em corridas utilizando 278 animais da raça Puro-Sangue Inglês. Animais homocigotos para o alelo menos frequente (T) foram fenotipicamente superiores aos de genótipo CC e CT. Ainda de acordo com estes autores, o SNP g.22684390C>T pode ser o causador direto de variação na característica uma vez que rompe um possível sítio de ligação de um elemento de resposta a glicocorticóides (GRE).

MCT1 – monocarboxylate transporter 1 e CD147 – cluster of differentiation 147

Proteínas transmembrana denominadas transportadores monocarboxilatos auxiliam o organismo na adaptação ao estresse fisiológico causado pelo exercício físico. Entre 14 diferentes isoformas, a proteína transportadora monocarboxilato tipo 1 (MCT1), codificada pelo gene de mesmo nome (*MCT1*), é uma das mais encontradas em mamíferos e localiza-se no músculo e na membrana dos eritrócitos (95).

Esses transportadores facilitam o transporte de lactato e outros substratos como o piruvato, o acetoacetato e o β -hidroxibutirato, para dentro e fora das células por meio da membrana plasmática. Este transporte é realizado juntamente com um próton e é controlado pelo gradiente de íon hidrogênio, portanto, não requer utilização de ATP (96). Quando são realizados exercícios intensos, a concentração de lactato no plasma e nas células vermelhas do sangue varia consideravelmente e pode aumentar muito, tornando os animais extremamente propensos à fadiga muscular. Essa variação da concentração ocorre devido à taxa de influxo de lactato para dentro das hemácias, o que é dependente da atividade das proteínas MCTs. A proteína MCT1 tem como principal função transportar os íons H^+ e lactato do plasma para dentro dos eritrócitos, mantendo assim, a homeostase ácido/base e retardando a acidose sistêmica e a fadiga.

Os transportadores MCTs necessitam de proteína acessória para sua correta localização e ação na membrana plasmática. A proteína acessória da isoforma MCT1 é uma glicoproteína integrante da membrana plasmática, pertencente à superfamília das imunoglobulinas, denominada *cluster of differentiation 147 - CD147* (74), codificada por gene de mesmo nome (*CD147*). Segundo Wilson et al. (97), a proteína acessória é necessária para a manutenção da atividade catalítica dos MCTs e para sua translocação para a membrana plasmática. Segundo Koho et al. (95), a alta ou baixa capacidade de transporte de lactato é mais intensamente regulada pela maior ou menor expressão de CD147 do que pela expressão de MCT1.

Reeben et al. (47) buscaram sequências dos genes *MCT1* e *CD147* em cavalos da raça Standardbred, para examinar as diferenças entre os equinos que possuíam maior e menor capacidade de transporte de lactato em suas hemácias. Os autores encontraram polimorfismos no gene da proteína MCT1 (Lys547Gln – AY457175.1:c1573A>C) e da proteína CD147 (Met125Val – EF564280.1:c389A>G), no entanto, aparentemente não relacionados com a atividade de transporte de lactato. Mykkänen et al. (98) estudaram os mesmos polimorfismos descritos acima em equinos saudáveis e com miopatia, nas raças Standardbred e Finnhorses, mas não conseguiram associar claramente as mutações com os sinais fenotípicos nos animais.

Para definir as bases genéticas da expressão das proteínas MCT1 e CD147 e para determinar se a baixa expressão dessas proteínas era devido à variantes no DNA, Koho et al. (99) buscaram por polimorfismos em equinos das raças Standardbred, Finnhorse, Warmblood e Icelandic. Os autores encontraram dois SNPs na sequência do *MCT1*: Val432Ile: 1498G>A e Lys547Gln: 1573A>C, que não explicaram a variação da expressão gênica. No gene da proteína CD147, foram encontrados os SNPs não sinônimos Met125Val: 389A>G e Ile51Val: 168A>G, além de mais dois SNPs (888G>C e 990C>T) na região 3' UTR do gene (responsável por regular a estabilidade do RNAm). Neste caso, os autores concluíram que os SNPs nos nucleotídeos 389 e 990 apresentaram efeito sobre a expressão do complexo de transporte MCT1 – CD147.

Estudos de genes candidatos para desempenho em corridas no Quarto de Milha

Resultados obtidos a partir do sequenciamento da região do SNP g.66493737C>T do gene *MSTN* mostrou o alelo C fixado na linhagem de corrida da raça Quarto de Milha (n = 30). Dessa forma, a realização de teste associação para verificação de sua relação com desempenho em corridas não foi possível (100). Em Hill et al. (49), a genotipagem de 35 cavalos Quarto de Milha também mostrou a alta ocorrência do alelo C (0,9) e do genótipo CC

(CC 0,83; CT 0,14; TT 0,03). Estes resultados demonstram que este alelo vem sofrendo pressão de seleção na raça e confirmam a sua relação com corridas de curtas distâncias.

Na análise de 296 animais de corrida e 68 de trabalho da raça Quarto de Milha, as diferenças de frequências alélicas e genótípicas se mostraram significativas para os SNPs g.38973231A>G do gene *PDK4* e g.22684390C>T do gene *COX4I2* entre as duas linhagens. O mesmo não foi observado quando estas frequências foram comparadas entre fenótipos extremos de corrida. Também não houve efeitos significativos no teste de associação entre os alelos dos dois polimorfismos e o Índice de Velocidade (IV) (Pereira et al., dados não publicados). Estes resultados sugerem que os alelos dos genes *PDK4* e *COX4I2*, relacionados com melhor desempenho em corridas na raça PSI, estejam relacionados à adaptações benéficas do metabolismo aeróbico e, dessa forma, tenham papéis secundários no desempenho em corridas curtas, predominantemente anaeróbicas, na raça Quarto de Milha.

O SNP g.15884567A>G do gene *CKM* mostrou-se polimórfico em amostra da raça Quarto de Milha, porém não foram encontradas associações significativas de suas variantes com as linhagens de corrida (n = 40) e de trabalho (n = 20), ou com grupos de fenótipos contrastantes para desempenho dentro da linhagem de corrida (n = 20 de IV inferiores, n = 20 de IV superiores) (Pereira et al., dados não publicados). Com base em sua importância no metabolismo energético muscular em exercícios intensos e curtos, era esperado que variações do gene *CKM* apresentassem papel relevante sobre o desempenho em corridas na raça Quarto de Milha, ou ainda que estivessem associadas à diferentes linhagens dentro da raça. Entretanto, a sua relação com o metabolismo aeróbico via sua interação com o IRF-1 pode explicar a associação não significativa deste SNP com o desempenho em corridas em Quartos de Milha, visto que a ocorrência deste tipo de metabolismo é praticamente inexistente em provas desta raça.

O SNP g.22999655C>A do gene *DMRT3* foi genotipado em 60 animais da raça Quarto de Milha, sendo 40 da linhagem de corrida e 20 da de trabalho. Exceto por dois animais heterozigotos (CA) no grupo de animais de corrida com IV inferiores (n = 20) e um na linhagem de trabalho (n = 20), todos foram homozigotos (CC). A aparição do alelo da marcha (A) do gene *DMRT3* apenas em animais Quarto de Milha de corrida de IV inferior e de trabalho indica a possibilidade de esta alteração afetar consideravelmente o desempenho em corridas (100).

Resultados de trabalho realizado por Regatieri et al. (101) mostraram o alelo A do polimorfismo do gene *MCT1* (AY457175.1:c1573A>C – Lys547Gln) praticamente fixado na raça Quarto de Milha (n = 40), com apenas um animal heterozigoto (AC). De maneira semelhante, a genotipagem do polimorfismo do gene *CD147* (EF564280.1:c168T>C ou A>G – Ile51Val) mostrou o alelo A fixado na raça de origem americana. Desta forma, não foi possível determinar a influência dos alelos destes polimorfismos sobre o transporte de lactado do plasma para hemácias e sobre o desempenho atlético em corridas da raça Quarto de Milha.

Considerações finais

Da mesma forma que para a maior parte das características de importância econômica, o desempenho em corridas dos equinos Quarto de Milha deve ser governado por grande número de genes, localizados em regiões cromossômicas denominadas Locus de Características Quantitativas (QTL).

Embora marcadores de DNA já sejam utilizados para predição de distâncias ótimas e desempenhos superiores em corridas para a raça Puro-Sangue Inglês, esses marcadores não têm os mesmos efeitos em diferentes raças de igual propósito (corrida). Esta afirmação pode ser mantida ainda que se considere a linhagem de corrida da raça Quarto de Milha, a qual possui influência genética de PSIs que correm distâncias curtas.

Considerando ambas as informações acima, a realização de estudo amplo de associação do genoma (GWAS) em animais Quarto de Milha de corrida será de grande interesse para a descoberta e utilização de marcadores genéticos específicos para a seleção de indivíduos superiores e para programas de melhoramento genético nesse segmento da raça.

REFERÊNCIAS

- 1 Bowling AT, Ruvinsky A. Genetics of Horse. Oxon, UK: CAB International; 2000.
- 2 Food and Agriculture Organization. The Global Livestock Production and Health Atlas (GLiPHA) [Internet]. Rome: FAO; 2011 [cited 2011 Nov 20]. Available from: <http://kids.fao.org/glipha/>.
- 3 Lima RAS, Shiota R, Barros GSC. Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalo no Brasil. Piracicaba: CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/USP; 2006.
- 4 Food and Agriculture Organization. The horse, the wheel and language [Internet]. Rome: FAO; 2006 [cited 2008 Oct 4]. Available from: <http://www.fao.org/>.
- 5 Anthony DW. The horse, the wheel and language. Princeton: Princeton University Press; 2008. p.199-220.
- 6 Arnason T. Bright future for research in horse breeding! J Anim Breed Genet. 2013;130:167-9.
- 7 Almeida FQ, Silva VP. Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI. Rev Bras Zootec. 2010;39:119-29.
- 8 Koenen EPC, Van Veldhuizen AE, Brascampa EW. Genetic parameters of linear scored conformation traits and their relation to dressage and show-jumping performance in the Dutch Warmblood Riding Horse population. Liv Prod Sci. 1995;43:85-94.
- 9 Wallin L, Strandberg E, Philipsson J. Genetic correlations between field test results of Swedish Warmblood Riding Horses as 4-year-olds and life time performance results in dressage and show jumping. Liv Prod Sci. 2003;82:61-71.
- 10 Bokor A, Blouin C, Langlois B, Stefler J. Genetic parameters of racing merit of Thoroughbred horses in steeplechase races. Ital J Anim Sci. 2005;4:43-5.
- 11 Dias RG, Pereira AC, Negrão CE, Krieger JE. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. Rev Bras Med Esp. 2007;13:211-6.
- 12 Schröder W, Klostermann A, Stock KF, Distl O. A genome-wide association study for quantitative trait loci of show-jumping in Hanoverian Warmblood horses. Anim Genet. 2012;43:392-400.
- 13 Freeman DW. Physical conditioning of horses. Stillwater, Okla: Oklahoma State University, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources; 2013.

14. Hill EM, Gu J, Eivers SS, Fonseca RG, McGiveny BA, Govindarajan P, et al. A sequence polymorphism in MSTN predicts sprinting ability and racing stamina in Thoroughbred Horses. *PLoS One*. 2010;5:1-6.
15. Breazile JE. Fisiologia do Músculo Esquelético. In: Swenson MJ, Reece WO. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 1996. p.777-93.
16. Hoppeler H, Howald H, Conley K, Lindstedt SL, Claassen H, Vock P, et al. Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1985;59:320-7.
17. Ferraz GC, Teixeira Neto AR, Lacerda Neto JC, Pereira MC, Queiroz Neto A. Respostas ao exercício de intensidade crescente em equinos: alterações na glicose, insulina e lactato. *Cienc Anim Bras*. 2009;10:1334-40.
18. Nelson DL, COX MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York, NY: WH Freeman and Company; 2005.
19. Fitts RH. Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev*. 1994;74:49-94.
20. Hogan MC, Gladden LB, Kurdak SS, Poole DC. Increased [lactate] in working dog muscle reduces tension development independent of pH. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27:371-7.
21. Ferreira ME, Grattapalia D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Brasília: Embrapa-Cenargen; 1998.
22. O'Brien SJ, Graves JA. Report of the committee on comparative gene mapping. *Cytogenet Cell Genet*. 1990;55:406-33.
23. Moody DE, Pomp D, Newman S, MacNeil MD. Characterization of DNA polymorphisms in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line 1 Herefords. *J Anim Sci*. 1996;74:1784-93.
24. Haley CS. Livestock QTLs - bringing home the bacon? *Trends Genet*. 1995;11:488-92.
25. Womack JE. The goals and status of the bovine gene map. *J Dairy Sci*. 1993;76:1199-203.
26. Regitano LCA. Importância da genética molecular para o melhoramento de ruminantes. In: *Anais do V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal*; 2004; Pirassununga/SP. Pirassununga/SP; 2004.
27. Kwok PY, Gu Z. Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them? *Mol Med Today*. 1999;5:538-43.
28. Guimarães PEM, Costa MCR. SNPs: Sutis diferenças de um código. *Biotechnologia Cienc Desenvolvimento*. 2002;26:24-7.

29. Nakaya HI, Amaral PP, Louro R, Lopes A, Fachel AA, Moreira YB, et al. Genome mapping and expression analyses of human intronic noncoding RNAs reveal tissue-specific patterns and enrichment in genes related to regulation of transcription. *Genome Biol.* 2007;8:R43.
30. Caetano AR. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Rev Bras Zootec.* 2009;38:64-71.
31. Chowdhary BP. *Equine genomics*. Iowa, EUA: John Wiley & Sons, Inc; 2013.
32. Doan R, Cohen ND, Sawyer J, Ghaffari N, Johnson CD, Dindot SV. Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *BMC Genomics.* 2012;13:78.
33. Brunberg E, Andersson L, Cothran G, Sandberg K, Mikko S, Lindgren G. A missense mutation in PMEL17 is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC Genet.* 2006;7:46.
34. Rosengren PG, Golovko A, Sundstrom E. Positional identification of the grey coat color mutation in horse. In: 7th Dorothy Russell Havemeyer International Equine Genome Mapping Workshop; 2007; Tahoe City, CA, EUA. Tahoe City, CA, EUA; 2007.
35. Reissmann M, Bierwolf J, Brockmann GA. Two SNPs in the SILV gene are associated with silver coat colour in ponies. *Anim Genet.* 2007;38:1-6.
36. Hansen M1, Knorr C, Hall AJ, Broad TE, Brenig B. Sequence analysis of the equine SLC26A2 gene locus on chromosome 14q15-q21. *Cytogenet Genome Res.* 2007;118:55-62.
37. Tryon RC, White SD, Bannasch DL. Homozygosity mapping approach identifies a missense mutation in equine cyclophilin B (PPIB) associated with HERDA in the American Quarter Horse. *Genomics.* 2007;90:93-102.
38. Young AE, Bower LP, Affolter VK, De Cock HE, Ferraro GL, Bannasch DL. Evaluation of FOXC2 as a candidate gene for chronic progressive lymphedema in draft horses. *Vet J.* 2007;174:397-9.
39. Solberg OD, Jackson KA, Millon LV, Stott JL, Vandenplas ML, Moore JN, et al. Genomic characterization of equine interleukin-4 receptor alpha-chain (IL4R). *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;97:187-94.
40. Brown JJ, Ollier WE, Thomson W, Matthews JB, Carter SD, Binns M, et al. TNF-alpha SNP haplotype frequencies in equidae. *Tissue Antigens.* 2006;67:377-82.
41. Rios JJ, Pereygin AA, Long MT, Lear TL, Zharkikh AA, Brinton MA, et al. Characterization of the equine 2-5 oligoadenylate synthetase 1 (OAS1) and ribonuclease L (RNASEL) innate immunity genes. *BMC Genomics.* 2007;8:313.

42. Hamann H, Jude R, Sieme H, Mertens U, Töpfer-Petersen E, Distl O, et al. A polymorphism within the equine CRISP3 gene is associated with stallion fertility in Hanoverian warmblood horses. *Anim Genet.* 2007;38:259-64.
43. Giesecke K, Hamann H, Stock KF, Woehlke A, Sieme H, Distl O. Evaluation of SPATA1-associated markers for stallion fertility. *Anim Genet.* 2009;40:359-65.
44. Momozawa Y, Takeuchi Y, Tozaki T, Kikusui T, Hasegawa T, Raudsepp T, et al. Sequence, detection of polymorphisms and radiation hybrid mapping of the equine catechol-O-methyltransferase gene. *Anim Genet.* 2005;36:190.
45. Momozawa Y, Takeuchi Y, Tozaki T, Kikusui T, Hasegawa T, Raudsepp T, et al. Polymorphism identification, RH mapping, and association analysis with the anxiety trait of the equine serotonin transporter (SLC6A4) gene. *J Vet Med Sci.* 2006;68:619-21.
46. Hanzawa K, Lear TL, Piumi F, Bailey E. Mapping of equine potassium chloride co-transporter (SLC12A4) and amino acid transporter (SLC7A10) and preliminary studies on associations between SNPs from SLC12A4, SLC7A10 and SLC7A9 and osmotic fragility of erythrocytes. *Anim Genet.* 2002;33:455-9.
47. Reeben M, Koho NM, Raekallio M, Hyyppä S, Pösö AR. MCT1 and CD147 gene polymorphisms in standardbred horses. *Equine Vet J Suppl.* 2006;36:322-5.
48. McGivney BA, McGettigan PA, Browne JA, Evans AC, Fonseca RG, Loftus BJ, et al. Characterization of the equine skeletal muscle transcriptome identifies novel functional responses to exercise training. *BMC Genomics.* 2010;11:398.
49. Hill EW, Gu J, McGivney BA, MacHugh DE. Targets of selection in the Thoroughbred genome contain exercise-relevant gene SNPs associated with elite racecourse performance. *Anim Genet.* 2010;41 Suppl 2:56-63.
50. Gu J, MacHugh DE, McGivney BA, Park SDE, Katz LM, Hill EM. Association of sequence variants in CKM (creatine kinase, muscle) and COX4I2 (cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2) genes with racing performance in Thoroughbred horses. *Equine Vet J.* 2010;42:569-75.
51. Cook D, Gallagher P, Bailey E. Illumina Equine SNP50 Bead Chip Investigation of Adolescent idiopathic lordosis among American Saddlebred Horses. *J Equine Vet Sci.* 2009;29:315-6.
52. Cook D, Gallagher P, Bailey E. Genetics of swayback in American Saddlebred horses. *Anim Genet.* 2010;41:64-71.
53. Lykkjen S, Dolvik NI, McCue ME, Rendahl AK, Mickelson JR, Roed KH. Genomewide association analysis of osteochondrosis of the tibiotarsal joint in Norwegian Standardbred trotters. *Anim Genet.* 2010;41:111-20.
54. Teyssèdre S, Dupuis MC, Guérin G, Schibler L, Denoix JM, Elsen JM, et al. Genome-wide association studies for osteochondrosis in French Trotters. *J Anim Sci.* 2012;90:45-53.

55. Dupuis MC, Zhang Z, Druet T, Denoix JM, Charlier C, Lekeux P, et al. Results of a haplotype-based GWAS for recurrent laryngeal neuropathy in the horse. *Mamm Genome*. 2011;22:613-20.
56. Eberth J, Swerczak T, Bailey E. Investigation of Dwarfism Among Miniature Horses using the Illumina Horse SNP50 Bead Chip. *J Equine Vet Sci*. 2009;29:315.
57. Brooks SA, Gabreski N, Miller D, Brisbin A, Brown HE, Streeter C. Whole-genome SNP association in the horse: Identification of a deletion in Myosin a responsible for Lavender Foal Syndrome. *PLoS Genet*. 2010;6:e1000909.
58. Hill EW, McGivney BA, Gu J, Whiston R, Machugh DEA. Genome-wide SNP-association study confirms a sequence variant (g66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses. *BMC Genomics*. 2010;11:1-10.
59. Binns MM, Boehler DA, Lambert DH. Identification of the myostatin locus (MSTN) as having a major effect on optimum racing distance in the Thoroughbred horse in the USA. *Anim Genet*. 2010;41:154-8.
60. Petersen JL, Mickelson JR, Rendahl AK, Valberg SJ, Andersson LS, Axelsson J, et al. Genome-Wide Analysis Reveals Selection for Important Traits in Domestic Horse Breeds. *PLoS Genet*. 2013;9:1-17.
61. Associação Brasileira dos criadores de cavalos Quarto de Milha. Quarto de milha: origem [Internet]. São Paulo; 2015 [cited 2015 Jan 15]. Available from: <http://www.abqm.com.br/a-raca/origem-qm>.
62. Eilersieck MR, Lock WE, Vogt DW, Aipperspach R. Genetic evaluation of cutting scores in horses. *J Equine Vet Sci*. 1985;5:287-9.
63. Hintz RL. Genetics performance in the horse. *J Equine Vet Sci*. 1980;51:582-94.
64. Wagoner DM. Equine genetics and selection procedures. Dallas: Equine Research Publications; 1978.
65. America's Horse Daily. All About the Racing American Quarter Horse [Internet]. Amarillo, TX: American Quarter Horse Association; 2013 [cited 2013 Nov 12]. Available from: <http://americashorsedaily.com/all-about-the-racing-american-quarter-horse/>.
66. Villela LCV, Mota MDS, Oliveira HN. Genetic parameters of racing performance traits of Quarter horses in Brazil. *J Anim Breed Genet*. 2002;4:229-34.
67. Mota MDS, Abrahão AR. Environmental factors affecting time in Quarter Horse races. *Arch Zootec*. 2004;53:95-8.
68. Corrêa MJM, Mota MDS. Genetic evaluation of performance traits in Brazilian Quarter Horse. *J Appl Genet*. 2007;48:145-51.

69. Evans JW. Horses: a guide to selection, care and enjoyment Freeman and Company. 2a ed. New York: WH Freeman; 1989.
70. Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, Rankinen T, Roth SM, Wolfarth B, et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: The 2006-2007 update. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41:35-73.
71. Tozaki T, Miyake T, Kakoi H, Gawahara H, Sugita S, Hasegawa T, et al. A genome-wide association study for racing performances in Thoroughbreds clarifies a candidate region near the MSTN gene. *Anim Genet.* 2010;41:28-35.
72. Gu J, Orr N, Park SD, Katz LM, Sulimova G, Machugh DE, et al. A genome scan for positive selection in Thoroughbred horses. *PLoS One.* 2009;4:1-17.
73. Andersson LS, Larhammar M, Memic F, Wootz H, Schwochow D, Rubin CJ, et al. Mutations in DMRT3 affect locomotion in horses and spinal circuit function in mice. *Nature.* 2012;488:642-6.
74. Gallagher SM, Castorino JJ, Wang D, Philp NJ. Monocarboxylate transporter 4 regulates maturation and trafficking of CD147 to the plasma membrane in the metastatic breast cancer cell line MDA-MB-231. *Cancer Res.* 2007;67:4182-9.
75. Grobet L, Martin LJR, Poncelet D, Pirottin D, Brouwers B, Riquet J, et al. A deletion in the myostatin gene causes double-muscling in cattle. *Nat Genet.* 1997;17:71-4.
76. Kambadur R, Sharma M, Smith TPL, Bass JJ. Mutations in myostatin (GDF-8) in double muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.* 1997;7:910-6.
77. Clop A, Marcq F, Takeda H, Pirottin D, Tordoir X, Bibé B, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat Genet.* 2006;38:813-8.
78. Nishi M, Yasue A, Nishimatu S, Nohno T, Yamaoka T, Itakura M, et al. A missense mutant myostatin causes hyperplasia without hypertrophy in the mouse muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;293:247-51.
79. Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hübner C, Riebel T, Kömen W, et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med.* 2004;350:2682-8.
80. Mosher DS, Quignon P, Bustamante CD, Sutter NB, Mellersh CS, Parker HG, et al. A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genet.* 2007;3:e79.
81. Petersen JL, Valberg SJ, Mickelson JR, McCue ME. Haplotype diversity in the equine myostatin gene with focus on variants associated with race distance propensity and muscle fiber type proportions. *Anim Genet.* 2014;45:827-35.
82. Hong CS, Park BY, Saint-Jeannet JP. The function of Dmrt genes in vertebrate development: It is not just about sex. *Dev Biol.* 2007;310:1-9.

83. Promerova M, Andersson LS, Juras R, Penedo MCT, Reissmann M, Tozaki T, et al. Worldwide frequency distribution of the 'Gait keeper' mutation in the DMRT3 gene. *Anim Genet.* 2014;45:274-82.
84. Van Deursen J, Heerschap A, Oerlemans F, Ruitenbeek W, Jap P, Laak H, et al. Skeletal muscles of mice deficient in muscle creatine kinase lack burst activity. *Cell.* 1993;74:621-31.
85. Echegaray M, Rivera MA. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: genetic and molecular evidence. *Sports Med.* 2001;31:919-34.
86. Welle S, Bhatt K, Thornton CA. Inventory of high-abundance mRNAs in skeletal muscle of normal men. *Genome Res.* 1999;9:p506-13.
87. Eivers SS, Mcgivney BA, Fonseca RG, Machugh DE, Menson K, Park SD, et al. Alterations in oxidative gene expression in equine skeletal muscle following exercise and training. *Physiol Genomics.* 2010;40:83-93.
88. Mahoney DJ, Parise G, Melov S, Safdar A, Tarnopolsky MA. Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *FASEB J.* 2005;19:1498-500.
89. Wende AR, Huss JM, Schaeffer PJ, Giguere V, Kelly DP. PGC-1alpha coactivates PDK4 gene expression via the orphan nuclear receptor ERR alpha: a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism. *Mol Cell Biol.* 2005;25:684-94.
90. Arany Z. PGC-1 coactivators and skeletal muscle adaptations in health and disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2008;5:426-34.
91. Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, et al. The transcriptional coactivator PGC-1 α mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:21401-6.
92. Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1147:321-34.
93. Pilegaard H, Neufer PD. Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in skeletal muscle during and after exercise. *Proc Nutr Soc.* 2004;63:221-6.
94. Fukuda R, Zhang H, Kim JW, Shimoda L, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell.* 2007;129:111-22.
95. Koho NM, Hyypä S, Pösö AR. Monocarboxylate transporters (MCT) as lactate carriers in equine muscle and red blood cells. *Equine Vet J Suppl.* 2006;36:354-8.
96. Merezhinskaya N, Fishbein WN. Monocarboxylate transporters: Past, present, and future. *Histol Histopathol.* 2009;24:243-64.

97. Wilson MC, Meredith D, Fox JE, Manoharan C, Davies AJ, Halestrap AP. Basigin (CD147) is the target for organomercurial inhibition of monocarboxylate transporter isoforms 1 and 4: the ancillary protein for the insensitive MCT2 is EMBIGIN (gp70). *J Biol Chem.* 2005;280:27213-21.
98. Mykkänen AK, Koho NM, Reeben M, McGowan CM, Pösö AR. MCT1, MCT4 and CD147 gene polymorphisms in healthy horses and horses with myopathy. *Res Vet Sci.* 2011;913:473-7.
99. Koho NM, Mykkänen AK, Reeben M, Raekallio MR, Ilves M, Pösö AR. Sequence variations and two levels of MCT1 and CD147 expression in red blood cells and gluteus muscle of horses. *Gene.* 2012;491:65-70.
100. Pereira GL, Regitano LCA, Meira CT, Matteis R, Nadalini EC, Regatieri IC, et al. Variants of MSTN and DMRT3 genes in Quarter Horses. In: *Anais do 60º Congresso Brasileiro de Genética; 2014; Guarujá/SP. Guarujá/SP; 2014.*
101. Regatieri IC, Pereira GL, Curi RA, Ferraz GC, Queiroz-Neto A. SNPs of equine genes encoding MCT1 and CD147 proteins in Arabians and Quarter Horses. In: *Anais do 60º Congresso Brasileiro de Genética; 2014; Guarujá/SP. Guarujá/SP; 2014.*

Recebido em: 27/02/2015

Aceito em: 24/06/2015