

## AVALIAÇÃO GENÉTICA DA PELAGEM DE CÃES DA RAÇA DÁLMATA

*(Genetic evaluation of the coat of dogs of the dalmatian breed)*

Patrícia Albuquerque SANTIAGO<sup>1</sup>; Rachel Fradique Accioly MAGALHÃES<sup>3</sup>;  
Ticiania Monteiro ABREU<sup>2</sup>; Anderson Pinto ALMEIDA<sup>3</sup>;  
Cláudio Henrique de Almeida OLIVEIRA<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Médica Veterinária autônoma, Fortaleza, CE; <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará, Depto de Patologia e Medicina Legal; <sup>3</sup>Faculdade Terra Nordeste, Rua Coronel Correia, 1119, Soledade, Caucaia, Ce. CEP:61.600-000. \*E-mail: [claudio.oliveira@fatene.edu.br](mailto:claudio.oliveira@fatene.edu.br)

### RESUMO

A raça Dálmata é uma das raças mais populares, e, de acordo com seu padrão racial, deve apresentar cor de pelagem branca, com pintas pretas ou fígado. Vários loci estão envolvidos na determinação da cor da pelagem dos cães. No Dálmata, os principais são o locus B e o locus E, pois esses loci têm influência um sobre o outro, causando uma interação gênica chamada epistasia, onde o efeito de um gene modifica o efeito de outro, alterando o fenótipo do animal. Com o avanço da cinofilia, o melhoramento genético em cães se tornou mais importante, tornando o conhecimento desses genes uma ferramenta necessária para os criadores. O objetivo deste trabalho foi demonstrar a importância do teste genético para o gene E, e seu auxílio no planejamento de acasalamento nos canis de Dálmatas. Para isso, foi usada uma ninhada nascida em Fortaleza, na qual foram realizados testes genéticos para o gene E do padreador de pintas pretas e de dois filhotes escolhidos aleatoriamente, um preto e um limão. O teste foi realizado através da técnica de PCR, e como resultado foi visto que o pai é heterozigoto (Ee). Já em relação as crias, foi confirmado o homozigoto dominante (EE) para a cria dentro do padrão e o homozigoto recessivo (ee) para a cria limão. Nesta cria ocorreu a epistasia, fazendo com que apresentasse pintas alaranjadas. Assim, conclui-se que não se pode definir o genótipo apenas pelo fenótipo, tornando o teste genético uma importante ferramenta para escolha dos padreadores.

**Palavras-chave:** Teste genético, locus E, epistasia.

### ABSTRACT

The Dalmatian breed is one of the most popular breeds, and, according to its racial pattern, should have a white coat color with black spots or liver. Several loci are involved in determining the coat color of dogs. In the Dalmatian, the major are the locus B and the locus E, because these locus have influence on each other, causing a genetic interaction called epistasis, where the effect of one gene modifies the effect of another, altering the phenotype of the animal. With the advancement of cynophilia, genetic improvement in dogs has become more important, making knowledge of these genes a necessary tool for breeders. The objective of this work was to demonstrate the importance of the genetic test for gene E, and its aid in the planning of mating in dalmatians kennels. For this, a litter born in Fortaleza was used, in which genetic tests were performed for the E gene of the black-spotted and two randomly selected puppies, one black and one lemon. The test was performed using the PCR technique, and as a result it was seen that the parent is heterozygous (Ee). In relation to the offspring, the dominant homozygous (EE) was created for the offspring and the recessive homozygote (ee) for the offspring. In this breed epistasis occurred, causing it to present

orange spots. Thus, it can be concluded that the genotype can not be defined only by the phenotype, making the genetic test an important tool for the selection of stud holders.

**Keywords:** Genetic testing, locus E, epistasis.

## INTRODUÇÃO

A raça Dálmata é muito famosa na história da humanidade e no cinema mundial. Segundo a Federação Cinológica Internacional (FCI, 2011), a raça foi encontrada em pinturas entre o século XVI e XVII, mas as primeiras descrições foram encontradas apenas em 1719 em crônicas de igrejas da Croácia. O primeiro padrão não oficial da raça foi descrito em 1882 por Vero Shaw, e, em 1890 esse padrão foi descrito como o oficial da raça; enfim, em 1955, foi publicado pela FCI o primeiro padrão oficial da raça Dálmata.

Esse padrão define que a pelagem deve ter como cor básica o branco puro, com variedades com pintas pretas e variedades fígado, que apresentam pintas marrons. Nesta raça, é classificada como falta desqualificante cães com pintas laranja ou limão (CROATIAN KENNEL CLUB, 2016), por isso há uma importância em se conhecer os mecanismos genéticos que determinam a cor da pelagem na raça.

É sabido que vários loci (local onde encontramos um determinado gene) estão envolvidos na determinação da pelagem dos cães, dentre eles, no Dálmata, os principais são o locus B e o locus E, porque esses loci têm influência um sobre o outro na determinação da cor da pelagem, causando uma interação de genes não alélicos conhecida como epistasia. Na epistasia, o efeito de um gene modifica o efeito do outro gene, mudando assim o fenótipo do animal (OTTO, 2012).

O locus B contém o gene proteína 1 relacionada a tirosinase (TYRP1), localizado no 11º par de cromossomos (NCBI, 2019), que é responsável pela concentração de eumelanina que determina a pigmentação na cor preta ou fígado (TURNOVA *et al.*, 2017). O cão homocigoto dominante ou heterocigoto apresentará pigmentação preta, e o cão homocigoto recessivo apresentará pigmentação marrom. O gene TYRP1 fornece instruções para a produção da tirosinase nos melanócitos, este gene está envolvido na produção de melanina, e, embora suas funções exatas não sejam claras, estudos sugerem que esta enzima pode ajudar a estabilizar a tirosinase, que é a enzima responsável pelo primeiro passo na produção da melanina (GENETICS, 2019).

O locus E contém o gene receptor de melano cortina 1 (MC1R), localizado no 5º par de cromossomos (NCBI, 2019), é responsável pela concentração de feomelanina, que confere a pigmentação amarelada/avermelhada. O seu gene dominante remove a feomelanina, deixando a pigmentação da eumelanina uniforme no animal, já seu gene recessivo, em homocigose, restringe as áreas de eumelanina a regiões específicas como íris, lábios, nariz, unhas e coxins, fazendo com que, no pelo, o animal apresente a cor alaranjada (OTTO, 2012). O MC1R se localiza na superfície dos melanócitos, quando o hormônio melano-cortina 1 se liga a seu receptor, a produção de tirosinase aumenta. Níveis altos de tirosinase resultam na produção de eumelanina, já níveis baixos, na produção de feomelanina. Assim, as células que produzem feomelanina são aquelas que têm o receptor MC1R com defeito (OTTO, 2012), que é o caso do locus “E”.

Quando tal fato acontece, o Dálmata é considerado limão ou laranja, e essa

nomenclatura varia dependendo da cor de eumelanina manifestada nessas áreas, se vai ser preto ou marrom, respectivamente. Nesse caso, eles são considerados fora do padrão, diferentemente de outras raças, como Labrador, Pointer e Setter inglês, por exemplo, onde essas variações são aceitas.

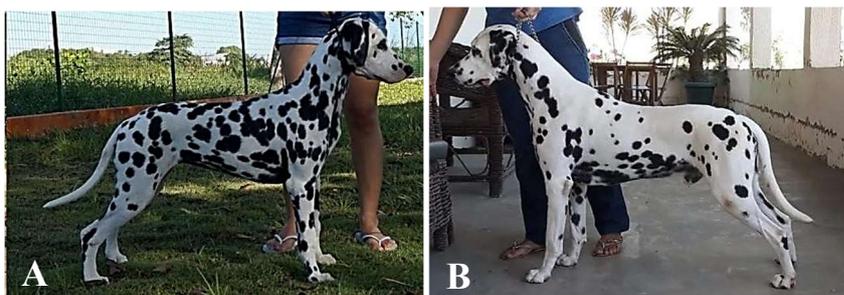
Na epistasia, temos um par de genes (gene E) que inibe o efeito de outro, chamado epistático, e um par de genes (gene B) que será inibido, chamado de gene hipostático. Durante a formação dos gametas, esses genes são herdados independentemente um do outro (KLUG *et al*, 2010), e, como o resultado dessa interação, só aparece fenotipicamente quando o gene epistático encontra-se em homozigose recessiva, muitos cães fenotipicamente dentro do padrão racial podem ser portadores do alelo recessivo, então, não podemos garantir que um Dálmata preto ou marrom não carregue o alelo “e” só pela cor que ele apresenta.

Com o avanço da cinofilia mundial, ficou cada vez mais importante o melhoramento genético em cães de raça, para se obter sempre um filhote geneticamente superior aos seus pais, por isso o conhecimento desses genes é uma importante ferramenta para que os criadores consigam manter o padrão racial. Entretanto, como foi visto, apenas a observação do fenótipo não é um método garantido de definição do genótipo do animal, sendo muito importante a realização de exames genéticos no plantel, para saber se os cães carregam o alelo que traria uma cor fora do padrão da raça. Para a identificação da epistasia algumas técnicas laboratoriais podem ser empregadas, como: reação em cadeia da polimerase (PCR), análise de fragmentos, eletroforese capilar, seqüenciamento de DNA, ELISA recombinante, dentre outros. (ANIMAL GENETICS, 2019).

Assim, o objetivo deste trabalho foi demonstrar a importância da avaliação do teste genético para o gene epistático (gene E), e seu auxílio no planejamento de acasalamento nos canis de Dálmatas.

### ATENDIMENTO AO PACIENTE

Em 18 de julho de 2018, nasceu no canil Dalsfort, localizado em Fortaleza, uma ninhada de 12 filhotes de Dálmatas. O acasalamento foi feito entre dois cães de pintas pretas fenotipicamente dentro do padrão racial, o macho de 3 anos de idade, e a fêmea de 4 anos de idade (Fig. 01). Todos os filhotes nasceram saudáveis, e se desenvolveram de forma normal. Os filhotes nascem todos brancos, as pintas só surgem com aproximadamente duas semanas de vida, e nessa época foi observado que dez filhotes apresentaram pintas pretas e, um tempo depois, os outros dois apresentaram pintas na cor laranja, caracterizando o Dálmata limão, pois as áreas de eumelanina eram pretas.



**Figura 01:** Pais da ninhada. A) Fêmea. B) Macho. (Fonte: Canil Dalsfort, A: 2015; B: 2018).

A fêmea havia feito o teste genético, portanto era sabido que ela tinha gene  $E/e$ , ou seja, carrega o alelo responsável pela cor do pelo laranja, e poderia passar um ou outro alelo para qualquer filho. Porém, o genótipo do macho não era conhecido. Então, para confirmação do mecanismo de epistasia, foi realizado o teste genético no pai da ninhada, e em dois filhotes escolhidos ao acaso, sendo um macho de pintas pretas e uma fêmea de pintas laranjas, ambos com 5 meses de vida.

Antes de realizar a coleta, os cães tiveram que ficar em jejum hídrico e alimentar por uma hora para não contaminar a amostra. Após isso, foi realizada a coleta com um swab, fazendo movimentos entre a bochecha e a gengiva de cada cão por 10 a 15 segundos (Fig. 02).



**Figura 02:** Coleta de amostra de saliva para teste genético. (Fonte: Próprio autor, 2018).

Logo após este procedimento, o swab com a amostra foi colocado de volta em sua própria embalagem, e deixado para secar em temperatura ambiente por aproximadamente 15 minutos. Após o período de secagem, o envelope foi grampeado e anexado à ficha de requisição de teste de cada cão. Não existe a necessidade de congelamento ou resfriamento das amostras. Para realização do teste genético através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), as amostras foram enviadas em duplicatas para o laboratório Animals Genetics Inc, localizado na Inglaterra.

Vale ressaltar que o laboratório não fornece detalhes sobre o procedimento realizado, nem quais os parâmetros e marcadores utilizados. Porém geralmente a técnica é usada para obter várias cópias de uma sequência específica de DNA, essa reação ocorre em três fases: desnaturação, anelamento e extensão; a temperatura na qual cada um dos passos ocorre é diferente. Após esse processo, é feito uma eletroforese em gel de agarose, e, a partir disso poderá ser observado o genótipo do animal.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste genético do padreador foi constatado o genótipo heterozigoto (Ee) para o gene MC1R. Isso significa que ele possui alelo recessivo “e”, promovendo a possibilidade de ter crias limão, caso doe este alelo, junto com a mãe. Cada filhote recebe um alelo da mãe e o outro do pai, como os dois são heterozigotos para o gene E, os filhotes podem receber “E” ou “e” de cada um deles, e então os filhotes dessa ninhada podem ser homozigotos dominante (EE), heterozigotos (Ee) ou homozigotos recessivos (ee). Dos filhotes escolhidos para a realização do teste, o de pintas pretas apresentou homozigose dominante (EE), e a de pintas laranja apresentou homozigose recessiva (ee) (Tab. 01).

**Tabela 01:** Resultado do teste genético para o gene epistático (gene E) do padreador e dos filhotes.

Nome do cão	Raça	Locus E
<b>Padreador</b>	Dálmata	<b>E/e</b>
<b>Macho pintas pretas</b>	Dálmata	<b>E/E</b>
<b>Fêmea pintas laranjas</b>	Dálmata	<b>e/e</b>

Fonte: Próprio Autor (2019).

Quando esse padreador foi acasalado com a matriz, que apresentava o mesmo genótipo, foi estimado uma probabilidade de 75% de nascimento de filhotes branco com preto (B<sub>-</sub>EE ou B<sub>-</sub>Ee) para 25 % de filhotes laranja (B<sub>-</sub>ee) como podemos observar no quadro abaixo (Tab. 02).

**Tabela 02:** Estimativas dos genótipos da progênie resultada do acasalamento entre Whitecap Limited Edition (BbEe) e Dalsfort Shield Maiden (BBEe), raça Dálmata do canil Dalsfort.

Pai \ Mãe	BE	Be	bE	be
BE	BBEE (preto)	BBEe (preto)	BbEE (preto)	BbEe (preto)
Be	BBEe (preto)	BBee (laranja)	BbEe (preto)	Bbee (laranja)
bE	BBEE (preto)	BBEe (preto)	BbEE (preto)	BbEe (preto)
be	BBEe (preto)	BBee (laranja)	BbEe (preto)	Bbee (laranja)

Fonte: elaborado pelo autor (2019).

Após a gestação, a fêmea pariu 12 crias (Fig. 3A). Quando as pintas começaram a surgir, foi observado que em dez dos doze (10/12) filhotes as pintas pretas já estavam aparecendo, mas dois (2/12) deles ainda estavam brancos (Fig. 3B, C e D).

Porém, todos tinham nariz, íris e lábios pigmentados na cor preta, então a suspeita foi que os dois filhotes apresentariam pintas na cor laranja, caracterizando o que chamamos de Dálmata limão. Nesse estudo, a proporção de fenótipos observados na ninhada foi de 83 % de filhotes branco com preto (B<sub>-</sub>EE ou B<sub>-</sub>Ee) e 17% de filhotes laranja (B<sub>-</sub>ee), bem

próximo da estimativa determinada pelo quadro de punnett.



**Figura 03:** A) Ninhada com 3 dias de vida. B) Ninhada com 2 semanas, onde 10 filhotes já apresentam pintas pretas e dois ainda estavam brancos. C) Filhote cor limão, ainda sem pintas, mas apresentando pigmentação no nariz. D) Filhote com pintas pretas. (Fonte: Canil Dalsfort, 2018).

Com 20 dias de vida, as pintas na cor laranja começaram a aparecer (Fig. 4A), e aos 40 dias de vida elas já eram bem definidas e pigmentadas (Fig. 4B). Como os pais e os outros filhotes apresentam pintas pretas, foi constatado que nesses dois filhotes aconteceu a interação genética chamada de epistasia.



**Figura 04:** A) Filhotes com 24 dias de vida. B) Filhotes com 42 dias de vida, já apresentam pintas bem definidas. (Fonte: Canil Dalsfort, 2018).

Os fenótipos frequentemente são afetados por mais de um gene, ou seja, vários genes influem em uma característica particular, isso é chamado interação gênica. Na epistasia, o efeito de um gene, ou um par de genes, dissimula ou modifica o efeito de outro gene ou de outro par gênico. A presença de um alelo recessivo em homozigose pode impedir ou suprimir a expressão de outros alelos em outro loci (KLUG *et al.*, 2010). A epistasia pode operar em qualquer cruzamento que envolva dois ou mais genes, e pode ser reconhecida pela redução do número de fenótipos esperados (BURNS e BOTTINO, 2014). Neste estudo, foi observada uma redução do número de fenótipos esperados, pois o esperado era uma ninhada toda dentro do padrão racial, porém dois filhotes apresentaram fenótipos indesejados, corroborando com o descrito pelos autores Klug (2010) e Burns e Bottino (2014).

A distribuição independente de genes trata quando duas ou mais heranças monogênicas são analisadas simultaneamente, e em nenhuma outra área esses princípios foram mais importantes do que no cruzamento de animais, pois o que se quer em uma linhagem, é conseguir um genótipo verdadeiramente superior (GRIFFITHS *et al.*, 2013), ou seja, o que se deseja é obter filhotes que não sejam portadores de alelos que podem trazer uma cor indesejada. Como durante a formação dos gametas, os pares de genes se dividem independentemente um do outro, a probabilidade do animal receber o alelo “B” ou “b”, não é influenciada pela probabilidade dele receber “E” ou “e”.

No teste do filhote laranja, foi visto que ela apresenta o gene “E” em homozigose recessiva (e/e), o que leva a filhote não apresentar as características do gene “B”, fazendo com que ela apresente a cor preta apenas em áreas restritas. Este padrão de cor de pelagem não é aceito para raça Dálmata, segundo a Federação Cinológica Internacional. A cor do pelo é branco puro com variedade de pintas pretas ou variedade de pintas marrons (fígado), a presença de uma terceira cor não é permitida, manchas cor limão ou laranja não são permitidas e devem ser desqualificadas (SAVEZ, 2016).

Já o filhote de pintas pretas apresenta homozigose dominante (EE) para o gene “E”, apresentando as características marcantes do gene “B”, e não carrega o alelo recessivo do gene “E”. Então mesmo que ele acasale com uma fêmea heterozigota para o gene “E”, todos os seus filhotes apresentarão a pigmentação determinada pelo gene “B” como pode ser visualizado na Tab. 03.

**Tabela 04:** Estimativa de genótipos relacionado ao locus „E“, caso o filhote Dalsfort Jamie Fraser (EE) acasale com uma fêmea heterozigota para o alelo E.

<b>Pai</b>	<b>E</b>	<b>E</b>
<b>Mãe</b>	<b>E</b>	<b>E</b>
<b>E</b>	EE	EE
<b>e</b>	Ee	Ee

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Genotipicamente, 50% dos filhotes serão livres do alelo “e” e os outros 50% serão portadores, porém todos apresentando a cor determinada pelo locus ‘B’, que são cores aceitas pelo padrão racial. Se levarmos em consideração que o filhote macho de pintas pretas tem características estruturais e temperamento dentro do padrão racial e já conquistou título

de 3º melhor do show inicial na 114ª exposição panamericana, realizada pelo Kennel Clube do Estado do Ceará (Fig. 05), com essa carga genética ele será um possível padreador de maior valor genético e cinófilo, visto que todos seus descendentes apresentarão cores dentro do padrão racial. Diferentemente do seu pai, que apesar de ser fenotipicamente dentro do padrão, produziu crias de cores indesejadas.



**Figura 05:** Dalsfort Jamie Fraser conquistou o título de 3º melhor do show da sua classe em sua primeira exposição de beleza e estrutura na 114ª exposição panamericana, realizada pelo Kennel Clube do Estado do Ceará. (Fonte: Cedida pelo proprietário, 2018)

## CONCLUSÃO

Diante disso, pode-se concluir que o teste genético se faz uma importante ferramenta na hora de escolher a matriz e padreador de uma ninhada, para que nasçam cães fenotipicamente dentro do padrão e o mais genotipicamente correto possível, já que com a seleção dos padreadores, a porcentagem de cães homozigotos dominante para o gene “E” tende a aumentar, pois seriam acasalados apenas cães EE x EE ou EE x Ee, para que não tenham filhotes fora do padrão racial.

## REFERÊNCIAS

- BURNS, G.W.; BOTTINO, P.J. Genética. 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 381p.
- CROATIAN KENNEL CLUB. Dalmatinski pas. Disponível em: <<http://www.fci.be/Nomenclature/Education/153g06-PRE-en.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2019.
- FEDERATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE. Dalmatian. Disponível em: <<http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/153g06-en.pdf>>. Acesso em: 28 de maio 2019.
- GENETICS HOME REFERENCE. Tyrosinase related protein 1. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TYRP1#sourcesforpage>>. Acesso em: 28 maio 2019.
- GRIFFITHS, A.J.F.; LEWONTIN, R.C.; CARROL, S.B.; WESSLER, S.R. Introdução à genética. 10ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 710p.

INFORMATION, National Center for Biotechnology. MC1R *Canis lupus familiaris*. Disponível: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=nucleotide&acc=NM\\_001014282.2](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=nucleotide&acc=NM_001014282.2). Acesso em: 03 jul. 2019.

INFORMATION, National Center for Biotechnology. Tyrosinase related protein1 [*Canis lupus familiaris* (dog)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Canis+lupus+familiaris+TYRP1>>. Acesso em: 03 jul. 2019.

KLUG, W.S.; CUMMINGS, M.R.; SPENCER, C.A.; PALLADINO, M.A. Conceitos de genética. 9ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 863p.

OTTO, P.G. Genética básica para veterinária. 5ª ed., São Paulo: Roca, 2012. 322p.

RAY, K.; SENGUPTA, M.; GHOSH, S. TYRP1 (tyrosinase-related protein 1). Atlas of Genetics and Cytogenetics Oncology and Haematology, v.21, n.1, p.1-2, 2017.

SILVA DIAS, R.J. Epistasia para a produção de grãos e caracteres da planta em milho. 2011. 99p. (Tese de Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2011.

TURNNOVA, E.H.; MAJCHRAKOVA, Z.; BIELIKOVA, M.; SOLTYS, K.; TURNA, J.; DUDAS, A. A novel mutation in the TYRP1 gene associated with brown coat colour in the Australian Shepherd Dog Breed. *Animal Genetics*, v.48, n.5, p.626-627, 2017.