

Haplótipos no gene *IGF1* associados com medidas morfométricas em ovinos Santa Inês

Najela Maia Chaves¹, Alessandro de Lima Machado¹, Ariana Nascimento Meira², Luiz Lehmann Coutinho², Gerson Barreto Mourão², Hymerson Costa Azevedo³, Evandro Neves Muniz³, Victor Breno Pedrosa⁴, Luís Fernando Batista Pinto^{1*}

¹Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador – BA, Brasil.

²Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, Piracicaba – SP, Brasil.

³Embrapa Tabuleiros Costeiros – Aracaju – SE, Brasil.

⁴Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa – PR, Brasil.

*Autor correspondente: luisfbp@ufba.br

Resumo: O gene do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (*IGF1*) tem importante papel no crescimento e metabolismo energético. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *IGF1* e características morfológicas em ovinos Santa Inês. Comprimentos de diferentes regiões do corpo foram mensurados em 192 cordeiros aos 240 dias de idade. Um fragmento de 4550 pb, localizado entre o 1º e 2º exons do gene *IGF1*, foi amplificado e sequenciado. Haplótipos foram identificados e uma análise de substituição de haplótipos via regressão foi então implementada. O fragmento aqui amplificado apresentou dois blocos de desequilíbrio de ligação. O bloco-1 apresentou quatro haplótipos com frequência $\geq 1\%$, enquanto no bloco-2 foram encontrados três haplótipos. A substituição do haplótipo *TCC* pelo *TCT* no bloco-1 teve efeitos significativos ($P < 0,011$), com associações para as alturas na garupa ($4,09 \pm 1,21$ cm) e cernelha ($3,52 \pm 1,20$ cm), o comprimento do corpo ($3,94 \pm 1,19$ cm), o perímetro torácico ($3,88 \pm 1,30$ cm), a largura do tórax ($1,13 \pm 0,36$ cm) e o perímetro da coxa ($3,40 \pm 1,08$ cm). Portanto, existem haplótipos no gene *IGF1* associados a características morfométricas em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: crescimento, insulina, marcadores, seleção

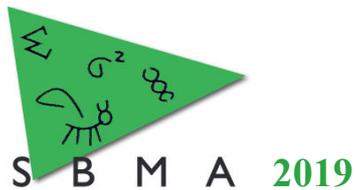
Haplotypes in the *IGF1* gene associated with morphological traits in Santa Ines sheep

Abstract: the insulin-like growth factor-1 (*IGF1*) gene plays a key role in growth and energy metabolism. Thus, this study aimed to test the association between haplotypes in the *IGF1* gene and morphological traits in Santa Ines sheep. Lengths of different body regions were measured in 192 lambs at 240 days of age. A 4550 bp fragment, between the 1st and 2nd exons, was amplified and sequenced. Haplotypes were identified and a haplotype replacement analysis was performed by regression approach. The fragment showed two linkage disequilibrium blocks. The block-1 had four haplotypes with frequency $\geq 1\%$, while in the block-2 three haplotypes were found. The replacement of the *TCC* by *TCT* in the block-1 had significant effect ($P < 0.011$), with association for rump (4.09 ± 1.21 cm) and withers (3.52 ± 1.20 cm) heights, body length (3.94 ± 1.19 cm), thoracic girth (3.88 ± 1.30 cm), chest width (1.13 ± 0.36 cm), and thigh perimeter (3.40 ± 1.08 cm). Therefore, haplotypes in the *IGF1* gene are associated with morphometric traits in Santa Ines sheep, which may be useful in breeding schemes.

Keywords: growth, insulin, markers, selection

Introdução

Na produção de ovinos de corte é importante observar a morfologia dos animais para identificar uma conformação que seja adequada ao sistema de produção, proporcionando maiores ganhos de peso e melhores carcaças. Uma forma de avaliar morfologia é mensurar variáveis morfométricas como alturas, larguras, comprimentos e perímetros de diferentes segmentos do corpo, as quais podem ajudar a selecionar os animais com melhor aptidão para ganho de peso. No entanto, avaliar essas medidas em grande escala é difícil e uma alternativa é usar informações de variantes moleculares. Polimorfismos no gene *IGF1* foram associados a morfometria em diferentes raças de ovinos (Rajiet *al.*, 2017; Trukhachevet



al., 2016), devido aos efeitos de seu transcrito (IGF-1) sob o crescimento animal e metabolismo energético. Assim, este estudo teve como objetivo identificar haplótipos no gene *IGF1* associados a medidas morfométricas em ovinos Santa Inês.

Material e Métodos

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (Protocolo No. 02/2010). Foram avaliados 192 cordeiros da raça Santa Inês, com aproximadamente 240 dias de idade. Destes, 106 pertenciam à fazenda experimental Pedro Arle da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros e os demais à fazenda experimental da Universidade Federal da Bahia. Com o animal em estação-forçada foram mensuradas as alturas na cernelha e na garupa, os comprimentos do corpo e da garupa; as larguras do peito e da garupa, a profundidade do corpo e os perímetros torácico e da coxa, utilizando-se uma fita métrica e um hipômetro. Valores estatísticos descritivos estão na Tabela 1.

Para amplificação da região alvo do gene *IGF1* foram utilizados os primers 5'-GTGCTGCTTTTGTGATTTCTTG-3' (forward) e 3'-GATAGAAGAGATGCGAGGAGGA-5' (reverse), tendo obtido um fragmento de 4550 pb, localizado entre o 1º e o 2º exons. As condições de PCR e detalhamento dos procedimentos de sequenciamento podem ser obtidos em Meira *et al.* (2019). Nesta região foram identificadas 18 variantes, todas com menor frequência alélica >1%, mas três não foram encontradas em equilíbrio Hardy-Weinberg ($P < 0,01$). Assim, 15 variantes foram utilizadas para identificação de haplótipos, utilizando-se o software Haploview (Barrett *et al.*, 2005). As análises de associação foram realizadas com a sub-rotina haplo.glm do pacote haplo.stat versão 1.7.7, segundo Lake *et al.* (2003). O nível de significância ($P = 0,0111$) foi determinado pela correção de Bonferroni a 5%.

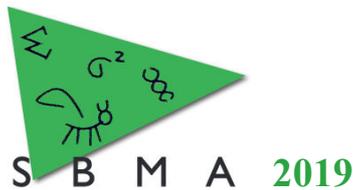
Tabela 1. Tamanho amostral (N), média e desvio-padrão (DP) das variáveis analisadas

Características	N	Média	DP
Altura de cernelha (cm)	184	66,25	5,69
Altura de garupa (cm)	184	67,00	5,64
Comprimento de corpo (cm)	184	58,00	8,94
Comprimento de garupa (cm)	99	14,00	2,45
Largura do peito (cm)	184	17,80	2,11
Largura de garupa (cm)	180	15,50	3,36
Perímetro da coxa (cm)	184	40,00	8,23
Perímetro torácico (cm)	184	74,00	4,76
Profundidade do corpo (cm)	180	25,35	2,13

Resultados e Discussão

No *IGF1* foram encontrados dois blocos em desequilíbrio de ligação (Tabela 2). O Bloco-1 com os SNPs *g.171108499T>G*, *g.171108609C>A* e *g.171110428C>T*, enquanto o Bloco-2 com os SNPs *g.171110600G>A*, *g.171110688C>T* e *g.171110860G>T*. A substituição do haplótipo *TCC* pelo *TCT* no bloco 1 teve efeitos significativos ($P < 0,011$), com associações (Tabela 3) para as alturas na garupa ($4,09 \pm 1,21$ cm) e cernelha ($3,52 \pm 1,20$ cm), o comprimento do corpo ($3,94 \pm 1,19$ cm), o perímetro torácico ($3,88 \pm 1,30$ cm), a largura do tórax ($1,13 \pm 0,36$ cm) e o perímetro da coxa ($3,40 \pm 1,08$ cm). A substituição de *TCC* por *GAT* também teve efeito significativo sobre ($5,16 \pm 1,97$), enquanto a substituição *TCC* por *GCT* foi significativa para largura do tórax ($1,14 \pm 0,44$).

As associações aqui encontradas para variáveis morfométricas reforçam prévios resultados reportados em outras raças de ovinos, pois polimorfismos no gene *IGF1* foram associados com altura na cernelha em ovelhas da raça Yankasa (Rajiet *al.*, 2017). Enquanto, Trukhachevet *al.* (2016) reportaram efeitos para altura, largura e comprimento de garupa, e perímetro torácico na raça Merino da Rússia. O mecanismo pelo qual o gene *IGF1* tem efeito sobre medidas morfométricas foi bastante discutido em prévios estudos, especialmente com humanos. O fator de crescimento semelhante a insulina



Tipo-1 é o principal mediador dos efeitos do *GHem* vários tecidos (Burgos & Cant, 2010). Portanto, pode causar variações nesses tecidos que levam a diferenças de tamanho corporal entre os animais.

Tabela 2. Haplótipos no gene *IGF1* com frequências $\geq 1\%$

Bloco-1		Bloco-2	
Haplótipo	Frequência	Haplótipo	Frequência
TCC	0,479	GCG	0,856
TCT	0,257	ATT	0,109
GCT	0,149	ATG	0,032
GAT	0,112		

Tabela 3. Coeficientes de regressão (β) e erros-padrão (SE) estimados na análise de associação por haplótipos no gene *IGF1* em ovinos Santa Inês

Característica	Substituição de Haplótipos	β	SE	Probabilidade
Altura na garupa	<i>TCC>GAT</i>	5,1563	1,9695	0,010*
Altura na garupa	<i>TCC>GCT</i>	3,1585	1,5026	0,037
Altura na garupa	<i>TCC>TCT</i>	4,0859	1,2121	0,001*
Altura na cernelha	<i>TCC>GAT</i>	4,0960	1,9502	0,037
Altura na cernelha	<i>TCC>GCT</i>	2,9829	1,4880	0,047
Altura na cernelha	<i>TCC>TCT</i>	3,5227	1,2002	0,004*
Comprimento do corpo	<i>TCC>TCT</i>	3,9393	1,1920	0,001*
Perímetro torácico	<i>TCC>TCT</i>	3,8814	1,3036	0,003*
Largura do Tórax	<i>TCC>GCT</i>	1,1406	0,4437	0,011*
Largura do Tórax	<i>TCC>TCT</i>	1,1302	0,3577	0,002*
Perímetro da coxa	<i>TCC>TCT</i>	3,3994	1,0808	0,002*

*Efeito significativo após correção de Bonferroni a 5%;

Conclusão

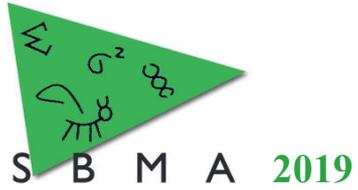
Haplótipos no gene *IGF1* estão associados a características morfométricas em ovinos Santa Inês, informação que pode ser útil para programas de melhoramento genético.

Agradecimentos

À Embrapa Tabuleiros Costeiros pela infraestrutura e animais utilizados; Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio ao financeiro ao projeto (455611/2014-9). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Literatura citada

- Burgos S.A.&Cant J. P. 2010. IGF-I stimulates protein synthesis by enhanced signaling through mTORC1 in bovine mammary epithelial cells. **Domestic Animal Endocrinology**, 38, 211–221.
- Lake S.L., Lyon H., Tantisira K., Silverman E.K., Weiss S.T., Laird N.M.&Schaid D.J. 2003. Estimation and tests of haplotype-environment interaction when linkage phase is ambiguous. **Human Heredity**, 55, 56–65.
- Meira A. N., Montenegro H., Coutinho L.L., Mourão G.B., Azevedo H.C., Muniz E.N., Machado A.L., Sousa-JR L.P., Pedrosa V.B. & Pinto L.F.B. 2019. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and IGF type-1 (*IGF1*) genes associated with carcass traits in Santa Ines sheep. **Animal**, 13, 460-468.
- Raji A.O., Mohammed A., Igwebuike J.U.& Alphonsus C. 2017. Association of IGF 1 gene polymorphisms with some morphometric traits of Nigerian indigenous sheep breeds. **Nigerian Journal of Biotechnology**, 34, 97-104.
- Trukhachev V., Skripkin V., Kvochko A., Kulichenko A., Kovalev D., Pisarenko S., Volynkina A., Selionova M., Aybazon M., Shumaenko S., Omarov A., Mamontova T., Yatsyk O.&Krivoruchko A.



XIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Salvador, BA –17 e 18 de junho de 2019

2016. Polymorphisms of the IGF1 gene in Russian sheep breeds and their influence on some meat production parameters. **Slovenian Veterinary Research**, 53, 2.