

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

Beatriz Bastos Senes<sup>1</sup>, Alessandro de Lima Machado<sup>1</sup>, Ariana Nascimento Meira<sup>2</sup>, Luiz Lehmann Coutinho<sup>2</sup>, Gerson Barreto Mourão<sup>2</sup>, Hymerson Costa Azevedo<sup>3</sup>, Evandro Neves Muniz<sup>3</sup>, Victor Breno Pedrosa<sup>4</sup>, Luís Fernando Batista Pinto<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador – BA, Brasil.

<sup>2</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros – Aracajú – SE, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, Piracicaba – SP, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa – PR, Brasil.

\*Autor correspondente: [luisfbp@ufba.br](mailto:luisfbp@ufba.br)

**Resumo:** A leptina está envolvida em processos metabólicos que podem influenciar o crescimento e seu gene pode conter importantes variantes para programas de melhoramento genético na pecuária. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *LEP* e características morfológicas em ovinos Santa Inês. Comprimentos e perímetros de diferentes regiões do corpo foram mensurados em 192 cordeiros aos 240 dias de idade. Um fragmento de 2045 pb, localizado entre o 2º e 3º exons do gene *LEP*, foi amplificado e sequenciado. Haplótipos foram identificados e uma análise de substituição de haplótipos via regressão foi então implementada. O fragmento aqui amplificado apresentou um bloco de desequilíbrio de ligação contendo 12 haplótipos com frequência  $\geq 1\%$ . A substituição do haplótipo *ACGGATCGATGAGCAG* pelo *GCAAATCGATGAGCGG* foi associada com perímetro torácico, causando uma redução de -5,29 cm para cada cópia que é substituída. Já a substituição do haplótipo *ACGGATCGATGAGCAG* pelo *GCAAATTGATGAGCGG* foi associada com aumento de comprimento do corpo (2,48 cm) e redução de profundidade do corpo (-2,51 cm). Existem haplótipos no gene *LEP* associados a características morfométricas em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em programas de melhoramento genético.

**Palavras-chave:** crescimento, leptina, marcadores, seleção

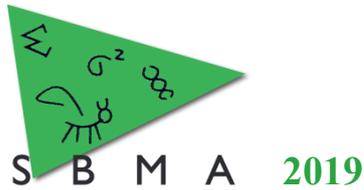
### Haplotypes in *LEP* gene associated with morphological traits in Santa Ines sheep

**Abstract:** Leptin is involved in biological processes that can influence the growth, and its gene may contain important variants for breeding schemes in livestock. Thus, this study aimed to test the association between haplotypes in the *LEP* gene and morphological traits in Santa Ines sheep. Lengths and perimeters of different body regions were measured in 192 lambs at 240 days of age. A fragment of 2045 bp, located between the 2nd and 3rd exons of *LEP* gene, was amplified and sequenced. In this region a linkage disequilibrium block containing 12 haplotypes with frequency  $\geq 1\%$  was found. The replacement of the haplotype *ACGGATCGATGAGCAG* by *GCAAATCGATGAGCGG* was associated with thoracic perimeter, causing a reduction of -5.29 cm for each copy that is replaced. Additionally, the replacement of *ACGGATCGATGAGCAG* by *GCAAATTGATGAGCGG* was associated with increased of body length (2.48 cm) and reduction of body depth (-2.51 cm). There are haplotypes in the *LEP* genes associated with morphometric traits in Santa Ines sheep, which may be useful in selection breeding schemes.

**Keywords:** growth, leptin, markers, selection

### Introdução

Variáveis como altura, comprimento do corpo e perímetro torácico são conhecidas por terem forte relação com o peso vivo do animal. Logo, alterações nestas medidas, desde que bem direcionadas, pode implicar em melhoria de conformação para obtenção de maiores ganhos de peso e, especialmente, para obtenção de carcaças com maiores rendimentos. Variantes em genes candidatos podem ser úteis ao processo de seleção para medidas essas medidas morfométricas e o gene da Leptina (*LEP*) é um bom candidato para este fim. A leptina atua em vários processos biológicos, destacando-se a regulação de hormônios relacionados com o crescimento, como o *GH* e *IGF1*, além de atuar no controle da ingestão de alimentos e metabolismo de gordura (Auwerx e Staels, 1998; Barsh *et al.*, 2000). Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar associação entre haplótipos no gene *LEP* com 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 (AC) e na garupa (AG), os comprimentos do corpo (CC) e da garupa (CG); as larguras do peito (LP) e da garupa (LG), a profundidade do corpo (PCo) e os perímetros torácico (PT) e da coxa (PC), utilizando-se uma fita métrica e um hipômetro. Valores estatísticos descritivos estão na Tabela 1.

Para amplificação da região alvo do gene *LEP* foram utilizados os primers 5'-GGACCCCTGTATCGATTCCT-3' (forward) e 3'-CAAACCTCAGGAGAGGGTGGGA-5' (reverse), tendo obtido um fragmento de 2045 pb, localizado entre o 2º e o 3º exons. As condições de PCR e detalhamento dos procedimentos de sequenciamento podem ser obtidos em Meira *et al.* (2018). Nesta região foram identificadas 21 variantes, todas com menor frequência alélica >1%, mas duas não foram encontradas em equilíbrio Hardy-Weinberg. Assim, 19 variantes foram utilizadas para identificação de haplótipos no gene, 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 ( $P = 0,022$ ) 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

Foi encontrado um único bloco de ligação, que é formado por 16 variantes. Este bloco apresentou 12 haplótipos com frequência  $\geq 1\%$  (Tabela 2). Os seis haplótipos com frequência maior que 4% foram usados nas análises de associação. A substituição do haplótipo *ACGGATCGATGAGCAG* pelo *GCAAATCGATGAGCGG* foi associada ( $P < 0,022$ ) com perímetro torácico, causando uma redução de -5,2915 cm para cada cópia que é substituída. Já a substituição do *ACGGATCGATGAGCAG* pelo *GCAAATTGATGAGCGG* foi associada com aumento de comprimento corporal (2,4830 cm) e redução de profundidade do corpo (-2,5103 cm). Os resultados do presente estudo reforçam os achados de Sadeghi *et al.* (2014), os quais reportaram associações entre polimorfismos no exon 3 do gene da *LEP* e medidas morfométricas em ovinos da raça Makooei.

As associações encontradas entre polimorfismos no gene *LEP* e características morfométricas já eram esperadas, pelo fato deste gene contribuir em diversos processos metabólicos. A leptina modula a secreção do hormônio do crescimento e, conseqüentemente, regula a secreção hepática de IGF1 (Tuersunjiang *et al.*, 2016). Logo, variantes no gene *LEP* podem afetar a ação de componentes essenciais para o crescimento dos animais. Além dessas ações metabólicas a leptina tem papel em processos biológicos que estão relacionados à regulação negativa do apetite, comportamento alimentar adulto, absorção intestinal e crescimento ósseo, explicando as associações aqui observadas.

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

Haplótipo	Frequência	Haplótipo	Frequência
ACGGATCGATGAGCAG	0,406	GTGAGCCCGTGCATGA	0,029
GCAAATCGATTAGCGG	0,199	ACAGATCGATGAGCAG	0,016
GTGAGCCCGCGCATGA	0,134	GCAGATCGATTAGCGG	0,010
GCAAATCGATGAGCGG	0,045	GCAAATCGATTAGCAG	0,010
GTGAGCCCACGCATGA	0,045	GTGAGCCCATGCATGA	0,010
GCAAATTGATGAGCGG	0,044	GTGAACCCGTGCATGA	0,010

**Tabela 3.** Coeficientes de regressão ( $\beta$ ) e erros-padrão (EP) estimados na análise de associação por haplótipos no gene *LEP* em ovinos Santa Inês

Característica	Substituição de haplótipos	$\beta$	EP	Probabilidade
Perímetro torácico	H1> GCAAATCGATGAGCGG	-5,2915	1,9733	0,0080
Profundidade do corpo	H1>GCAAATTGATGAGCGG	-2,5103	0,5621	<0,0001
Comprimento do corpo	H1>GCAAATTGATGAGCGG	2,4830	0,9563	0,0100

H1 = ACGGATCGATGAGCAG.

### Conclusão

Existem haplótipos no gene *LEP* associados a características morfométricas em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em processos de seleção para melhoria de morfologia desses animais a fim de identificar um padrão morfológico que seja mais adequado ao objetivo de maximizar taxas de crescimento e rendimentos de carcaça.

### 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

- Auwerx, J. & Staels, B. 1998. Leptin. **The Lancet**, 351, 737-742.
- Barsh, G.S., Farooqi, I.S. & O'rahilly, S. 2000. Genetics of body-weight regulation. **Nature**, 404, 644-651.
- 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., Moreira G.C.M., Coutinho L.L., Mourão G.B., Azevedo H.C., Muniz E.N., Machado A.L., Sousa L.P., Pedrosa V.B. & Pinto L.F.B. 2018. Carcass and commercial cut yield of Santa Ines sheep affected by polymorphisms of the *LEP* gene. **Small Ruminant Research**, 166, 121-128.
- Sadeghi S., Hajhosseinlo A. & Bohlouli M. 2014. Haplotype association of ovine leptin gene on breeding value of body measurements in Makooei sheep breed. **Biotechnology in Animal Husbandry**, 30, 233-242.
- Tuersunjiang N., Odhiambo J.F., Shasa D.R., Smith A.M., Nathanielsz P.W. & Ford S.P. 2016. Maternal obesity programs reduced leptin signaling in the pituitary and altered GH/IGF1 axis function leading to increased adiposity in adult sheep offspring. **Plos One**, 12, e0181795.