

Suplementação de DL-metionina sobre a expressão de mRNA UCP em frangos de cortes¹

Ana Paula Del Vesco², Eliane Gasparino², Adhemar Rodrigues de Oliveira Neto³, Débora Marques Voltolini², Maria Amélia Menck Soares⁴, Robson Marcelo Rossi⁵

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor, financiada pela Capes

²Departamento de Zootecnia- Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5.790, Maringá, Paraná, Brasil. apaulavesco@gmail.com

³Departamento de Zootecnia- Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs s/n - Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

⁴Departamento de Genética- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica no km 7 da BR-465, Rio de Janeiro, Brasil

⁵Departamento de Estatística- Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5.790, Maringá, Paraná, Brasil.

Resumo: O presente trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar a expressão de mRNA da UCP (proteína desacopladora) no músculo e fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo dois níveis de suplementação de DL-metionina. Foram utilizados frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, distribuídos em três tratamentos. Ao final do período experimental, as aves foram abatidas por deslocamento cervical, e o fígado e o músculo do peito foram coletados para extração do RNA total. O cDNA foi amplificado usando primers específicos para os genes analisados na qRT-PCR. Foi observado maior expressão de mRNA UCP no fígado dos animais que receberam dieta sem suplementação de metionina. Este tratamento também foi o que proporcionou pior eficiência alimentar. Sendo assim, pode se concluir que a melhor eficiência alimentar nas aves que receberam suplementação de metionina, pode estar relacionada ao efeito que a suplementação deste aminoácido tem sobre a expressão de mRNA UCP.

Palavras-chave: ATP, DL-metionina, expressão gênica

DL-Methionine Supplementation on mRNA expression of UCP in broilers

Abstract: The objective of this paper was to evaluate the mRNA expression of UCP (uncoupling protein) in muscle and liver of broilers fed diets containing two levels of DL-methionine supplementation. Broilers from 22-42 days old were divided in to three groups. At the end of the experiment, chicks were killed by cervical dislocation, and liver and breast muscle were collected for total RNA extraction. The cDNA was amplified using specific primers for the genes analyzed in qRT-PCR. We observed an increased expression of mRNA UCP in the liver of animals fed the diet without supplemental methionine. This treatment also promoted the worst feed efficiency. Thus, it can be concluded that the best feed efficiency in broilers supplemented with methionine may be related to the effect that supplementation of this amino acid has on the mRNA expression of UCP.

Keywords: ATP, DL-methionine, gene expression

Introdução

A taxa de crescimento está atrelada à eficiência alimentar, bem como a deposição de massa muscular. A eficiência de um animal em converter alimentos em massa muscular está relacionada com a eficiência na produção de energia. Estudos mostram que aves com menor produção de energia em função de menor eficiência mitocondrial em produzir ATP a partir de substratos, apresentam pior eficiência alimentar ou conversão alimentar (Bottje & Carstens, 2009).

Visto que a metionina está associada à melhor desempenho das aves (Viana et al., 2009), é necessário que sejam realizadas pesquisas para melhor se compreender como a suplementação deste aminoácido pode influenciar a expressão de genes atuantes na produção de energia nas mitocôndrias. Assim, o presente trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar a expressão de mRNA da UCP no músculo e fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo dois níveis de suplementação de metionina.

IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal



João Pessoa – PB, 20 a 22 de Junho de 2012

Material e Métodos

Frangos de corte machos de 22 dias de idade foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (Tabela 1), com cinco repetições e 30 aves por box, totalizando 350 aves. As rações experimentais foram formuladas a base de milho, sorgo, farelo de soja e farinha de carne e vísceras, segundo recomendação de Rostagno et al. (2005). Em todo período experimental, os animais tiveram livre acesso à água e ração.

Tabela 1- Tratamentos experimentais

Tratamento	Fonte	Níveis de suplementação (%)	Quantidade de metionina na ração (%)
1	-	-	0,52
2	DL-metionina	0,11	0,59
3	DL-metionina	0,33	0,75

Ao final do período experimental (42 dias de idade), seis animais de cada tratamento foram eutanaseados por deslocamento cervical e os tecidos do fígado e peito (*Pectoralis superficialis*) foram coletados e armazenados em RNA Holder® (*BioAgency Biotecnologia*, Brasil) à -20°C. O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (*Invitrogen, Carlsbad CA, USA*) de acordo com as normas do fabricante. A concentração total de RNA foi mensurada usando espectrofotômetro e a integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio 10% e visualizado em luz ultravioleta. Para confecção do cDNA, foi utilizado o kit SuperScript™ III First-Strand Syntesis Super Mix (*Invitrogen Corporation*, Brasil), de acordo com as normas do fabricante. As análises de PCR em tempo real foram realizadas no aparelho StepOnePlus v.2.2 (*Applied Biosystems, Carlsbad, CA, EUA*), utilizando o corante fluorescente SYBR GREEN (*SYBR® GREEN PCR Máster Mix (Applied Biosystems, USA)*). Os primers para amplificação da UCP utilizados nas reações foram desenhados de acordo com Ojano-Dirain et al. (2007). O gene da β -actina foi utilizado como controle endógeno. Os primers para β -actina foram desenhados de acordo com a sequência depositada no GeneBank (no. Acesso L08165) utilizando-se o site www.idtdna.com. Todas as análises foram realizadas em um volume de 25 μ L e em duplicatas.

O método $2^{-\Delta CT}$ foi utilizado para as análises de quantificação relativa. A análise estatística foi realizada por meio de Inferência Bayesiana. Foi considerado que a resistência (Y_i) segue distribuição de Normal. Para cada μ_i e σ_i^2 foram consideradas *a priori* distribuições não-informativas. Foram realizadas comparações múltiplas entre as distribuições *a posteriori* das médias. A obtenção das distribuições marginais *a posteriori* para todos os parâmetros foi por meio do pacote BRugs do programa R (*R Development Core Team*, 2011). A convergência das cadeias foi verificada por meio do pacote CODA do programa R.

Resultados e Discussão

Não houve efeito significativo da suplementação de metionina sobre a expressão do mRNA UCP no fígado. Entretanto, no músculo, os animais alimentados com dieta basal apresentaram maior expressão de mRNA UCP. Animais que receberam menor nível de suplementação de metionina, quando comparados ao segundo nível, também apresentar maior valor numérico para a expressão do gene, 0,16 UA vs 0,07 UA.

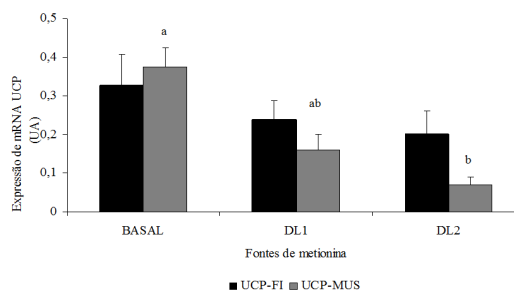


Figura 1- Expressão de mRNA UCP no fígado e músculo de frangos de corte alimentados com suplementação de DL-metionina. Os resultados são apresentados como médias *a posteriori* e seus desvios padrões representados pelas barras verticais. Letras diferentes representam diferenças estatísticas pelo intervalo de 95% de credibilidade.

A suplementação de metionina é um dos fatores nutricionais melhoradores do desempenho animal, como ganho de peso e eficiência alimentar (Viana et al., 2009). Neste trabalho foi observado que a suplementação de metionina levou à redução significativa na expressão de mRNA UCP no músculo das aves (figura 1). Os resultados de expressão acompanharam os resultados de eficiência alimentar (Figura 2), menor nível de adição de metionina, proporcionou menor eficiência alimentar, sugerindo que a UCP pode interferir no desempenho produtivo das aves, aumentando a dissipação de energia via oxidação mitocondrial.

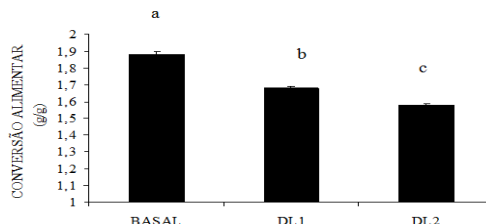


Figura 2- Conversão alimentar dos frangos de corte. Os resultados são apresentados como médias *a posteriori* e seus desvios padrões representados pelas barras verticais. Letras diferentes representam diferenças estatísticas pelo intervalo de 95% de credibilidade.

Conclusões

A suplementação de metionina proporcionou melhor eficiência alimentar nas aves, como era esperado, sendo o segundo nível de suplementação, o responsável por animais mais eficientes. Este resultado pode estar associado ao efeito que a suplementação deste aminoácido tem sobre a expressão de mRNA UCP.

Literatura citada

- BOTTJE, W.G.; CARSTENS, G.E. Association of mitochondrial function and feed efficiency in poultry and livestock species. **Journal of Animal Science**, v.87, p.E48-E63, 2009.
- OJANO-DIRAIN, C.; TOYOMIZU, M.; WING, T. et al. Gene expression in breast muscle and duodenum from low and high feed efficient broilers. **Poultry Science**, v.86, p.372-381, 2007.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 186p, 2005.
- VIANA, M.T.S.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Methionine sources and levels in broilers chick diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1751-1756, 2009.