

VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

Genes candidatos SOD3, AKR1B10, GPC3 e SDC1 influenciam o conteúdo de nitrogênio e fósforo na excreta de frangos de corte

Arun Kirshna Sasikala-Appukuttan¹, José Braccini Neto², Frank Siewerdt^{1,3}

¹ Department of Animal and Avian Sciences, University of Maryland, College Park, MD, EUA.

² Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

³ Autor para correspondência. E-mail: siewerdt@umd.edu.

Resumo: Análises de associação foram conduzidas entre polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) de quatro genes candidatos (SOD3, AKR1B10, GPC3 e SDC1) e o conteúdo percentual de nitrogênio (PNE) e de fósforo (PPE), em base seca, na excreta de frangos de corte de duas linhagens. Efeito de dominância completa do alelo C sobre o alelo T foi observado no SNP1 do SOD3 em PNE na linhagem A. O SNP2 influenciou PPE na linhagem A enquanto que o SNP3 teve efeito sobre PPE nas duas linhagens, mas cada um dos alelos foi identificado como sendo o favorável em uma das linhagens. O SNP1 do gene AKR1B10 expressou efeito de dominância nas duas linhagens para PNE, com o alelo A sendo favorável sobre o alelo T. Para GPC3, o SNP1 apresentou efeito aditivo sobre PNE na linhagem B, onde o alelo A foi associado com os valores mais baixos de PNE. A única significância encontrada para o gene SDC1 foi a do SNP1 na linhagem B; dominância do alelo C sobre o alelo G resultou em valores mais baixos de PPE. Os resultados sugerem a possibilidade do uso de seleção assistida, com informação de alguns dos SNP estudados, como estratégia para acelerar o progresso genético para redução de PNE e PPE.

Palavras-chave: ação gênica, polimorfismos de nucleotídeo único, seleção assistida

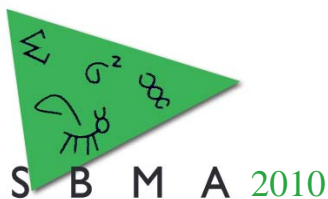
Candidate genes SOD3, AKR1B10, GPC3, and SDC1 influence the nitrogen and phosphorus content of broiler excreta

Abstract: Association analysis was conducted between single nucleotide polymorphisms (SNP) from four candidate genes (SOD3, AKR1B10, GPC3, and SDC1) and the content, expressed in dry matter basis, of nitrogen (PNE) and phosphorus (PPE) on the excreta of broilers from two genetic lines. SNP1 from SOD3 affected PNE (complete dominance of allele C over allele T) and SNP2 affected PPE in line A. SNP3 had an effect on PPE in both lines albeit in contradictory ways since in each line a different allele was found to be favorable. AKR1B10 SNP1 exhibited dominance on PNE in both lines with allele A being favorable over allele T. SNP1 from GPC3 affected PNE in line B only, with additive gene action and allele A being associated to reduced PNE values. SNP1 from SDC1 in line B was the only case of significance found for this candidate gene; dominance of allele C over allele G was associated to lower values of PPE. The results indicate that marker-assisted selection using information on some of these SNP can be successfully employed to accelerate genetic progress for reducing PNE and PPE.

Keywords: gene action, marker-assisted selection, single nucleotide polymorphisms

Introdução

A redução do conteúdo de nutrientes na excreta de frangos é uma oportunidade para melhorar tanto a eficiência econômica da empresa avícola quanto a sustentabilidade ambiental. Nitrogênio (N) e fósforo (P) são dois nutrientes encontrados na excreta de frango de corte como resultado de processos incompletos de digestão e absorção de alimentos. Em áreas com concentração de produção de aves o uso de excreta como fertilizante é limitado porque a disponibilidade de nutrientes excede a capacidade de absorção do solo. Algumas estratégias comumente usadas para reduzir a concentração de N e P na excreta são a formulação de precisão de dietas e a adição de fitase às dietas (Angel et al., 2005). A existência de variabilidade genética para nutrientes em dejetos foi documentada em suínos (Crocker & Robison, 2002) e em poedeiras (Zhang et al, 2005) mas não há relato na literatura desta informação para frangos. Em etapa preliminar desta linha de pesquisa, Siewerdt & Sasikala-Appukuttan (2008) obtiveram estimativas baixas de herdabilidades do conteúdo de N e P na excreta de frangos em uma das linhagens. A identificação de marcadores genéticos associados a caracteres de importância comercial pode servir



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

como recurso adicional em programas de melhoramento genético, permitindo considerar o uso de seleção assistida como uma estratégia viável. O exame de genes candidato tem como mérito focar a atenção do progresso genético em poucos marcadores com efeito conhecido enquanto permite progresso continuado nos poligenes, especialmente em caracteres de baixa herdabilidade (Muir, 2007). Investigou-se a associação entre polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) localizados nos genes candidatos SOD3, AKR1B10, GPC3 e SCD1 (Liu, 2009) e o conteúdo de N e P na excreta de frangos.

Material e Métodos

Pintos do sexo masculino de duas linhagens puras comerciais foram criados da eclosão aos 18 dias de idade em lote único em piso de maravalha. As aves foram transferidas para gaiolas individuais até os 42 dias de idade, recebendo ração e água à vontade. A excreta produzida nas últimas 24 horas do experimento e uma amostra de 4 ml de sangue foram coletadas em 196 aves na linhagem A e em 247 na linhagem B. O conteúdo de N e P foi expresso como porcentagem sobre a matéria seca da excreta (PNE e PPE, respectivamente). Os protocolos para extração de DNA e a metodologia empregada na genotipagem foram descritas detalhadamente por Liu (2009). A discriminação entre genótipos foi feita por meio da absorção de sinais fluorescentes com uso do equipamento ABI Prism Sequence 7900HT e leitura em tempo real da reação em cadeia da polimerase. Análises de associação entre SNP e fenótipos para PNE e PPE foram conduzidas com base nos genes candidatos identificados por Liu (2009): SOD3 (superóxido dismutase extracelular), AKR1B10 (membro B10 da família 1 de aldo-ceto redutases), GPC3 (glicoproteína 3) e sindecano 1 (SDC1). Para cada gene candidato foram identificados dois SNP exceto SOD3, para o qual três SNP foram investigados. A numeração dos SNP segue o padrão usado por Liu (2009). O tipo de ação gênica foi determinado para cada SNP com uso de contrastes ortogonais.

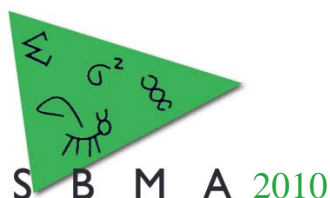
Resultados e Discussão

Significâncias dos efeitos de aditividade e de dominância associados aos SNP sobre PNE e PPE estão apresentadas na Tabela 1. Na linhagem A o SNP1 de SOD3 apresentou efeito sobre PNE. Houve dominância completa do alelo C sobre o alelo T. As médias \pm erros padrão para os genótipos foram estimadas em 5,25 % \pm 0,08 (CC), 5,13 % \pm 0,14 (CT) e 6,39 % \pm 0,41 (TT). No SNP2 o alelo favorável foi o alelo G, de forma aditiva; cada cópia do alelo A substituída pelo alelo G resultou em redução de 0,054 % em PPE. O SNP3 apresentou efeito significativo sobre PPE nas duas linhagens. Na linhagem A a ação gênica foi aditiva, com o alelo C sendo favorável em relação ao alelo T à taxa de 0,075% de PPE para cada cópia adicional de C. Na linhagem B o SNP3 deste gene candidato teve efeito sobre PPE em sentido contrário ao encontrado na linhagem A: o alelo favorável foi T, com redução de PPE em 0,055%.

O SNP1 do gene candidato AKR1B10 apresentou efeito de dominância para PNE nas duas linhagens. O genótipo heterozigoto (AT) foi o mais eficiente dos três na linhagem A, resultando no menor conteúdo de N na excreta, num caso de sobredominância com redução de 0,35% quando comparado ao conteúdo médio de PNE dos homozigotos. Na linhagem B a ação gênica foi de dominância completa do alelo A sobre o alelo T. Este foi o maior efeito encontrado neste estudo, com um efeito médio de 1,07% no conteúdo de PNE para cada cópia adicional do alelo A. O SNP2 não teve efeito sobre PNE; nenhum dos SNP do gene candidato AKR1B10 teve efeito significativo sobre PPE.

Com respeito ao gene candidato GPC3, apenas o SNP1 apresentou efeito sobre PNE na linhagem B. Neste caso o efeito encontrado foi aditivo com o alelo A sendo responsável por redução de PNE em 0,29% para cada cópia adicionada em substituição ao alelo C. Nenhum dos SNP de GPC3 teve efeito significativo sobre PPE na linhagem B e estes SNP não influenciaram PNE ou PPE na linhagem A. Apenas um efeito foi encontrado no gene candidato SDC1. No SNP1 para PPE na linhagem B houve dominância completa do alelo C sobre o alelo G. As médias (\pm erros padrão) estimadas para PPE para os três genótipos foram: 2,057 % \pm 0,014 (CC), 2,027 % \pm 0,021 (GC) e 2,184 % \pm 0,065 (GG).

Os genes candidatos escolhidos para este estudo são responsáveis por codificar enzimas com participação direta ou indireta em processos de crescimento de tecidos. Por exemplo, GPC3 regula negativamente a ação da somatostatina II e inibe a proliferação celular. Onde encontrou-se associações favoráveis entre SNP e PNE, é possível que a redução no conteúdo de N na excreta seja resultado de maior acúmulo de tecido muscular nas aves, um caso de pleiotropia.



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

Tabela 1. Probabilidades de erro tipo I para testes de hipótese de aditividade e dominância.

Linhagem	SNP ^b	PNE ^a		PPE ^a	
		Aditividade	Dominância	Aditividade	Dominância
A	SOD3 SNP1	0,0078	0,0068	0,9865	0,7430
	SOD3 SNP2	0,7579	0,5383	0,0465	0,8392
	SOD3 SNP3	0,2711	0,7218	0,0237	0,2191
	AKR1B10 SNP1	0,6906	0,0258	0,5260	0,9354
	AKR1B10 SNP2	0,6582	0,1288	0,7247	0,3829
	GPC3 SNP1	0,3954	0,9145	0,1244	0,4889
	GPC3 SNP2	0,1110	0,2362	0,7880	0,7774
	SDC1 SNP1	0,1126	0,1261	0,2383	0,8050
	SDC1 SNP3	0,5376	0,8812	0,1875	0,6317
	B	SOD3 SNP1	0,0694	0,1953	0,9920
SOD3 SNP2		0,0778	0,7517	0,8904	0,6671
SOD3 SNP3		0,4809	0,8643	0,0159	0,0682
AKR1B10 SNP1		0,0050	0,0192	0,8063	0,8109
AKR1B10 SNP2		0,9372	0,7586	0,1706	0,3112
GPC3 SNP1		0,0114	0,2574	0,6927	0,5007
GPC3 SNP2		0,3866	0,2742	0,2390	0,3037
SDC1 SNP1		0,2035	0,8903	0,0570	0,0334
SDC1 SNP3		0,8777	0,1663	0,9860	0,8542

^a PNE: porcentagem de nitrogênio na excreta; PPE: porcentagem de fósforo na excreta.

^b SNP: polimorfismos de nucleotídeo único associados aos genes candidatos.

Conclusões

SNP associados a quatro genes candidato que apresentaram efeito significativo sobre PNE e PPE foram identificados. Estes marcadores podem ser incluídos como critério adicional em decisões sobre estratégias de seleção.

Agradecimentos

Este projeto foi financiado pela University of Maryland e por Heritage Breeders, LLC, subsidiária de Perdue Farms, Inc. Os autores agradecem as contribuições dadas por C. Roselina Angel (University of Maryland), David L. Pollock (Heritage Breeders, LLC) e George R. Wiggans (USDA/ARS – Beltsville).

Literatura citada

- ANGEL, C.R.; POWERS, W.J.; APPLGATE, T.J. et al. Influence of phytase on water-soluble phosphorus in poultry and swine manure. **Journal of Environmental Quality**, v.34, p.563-571, 2005.
- CROCKER, A.W.; ROBISON, O.W. Genetic and nutritional effects on swine excreta. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2809-2816, 2002.
- LIU, X. **Association of single nucleotide polymorphisms with phenotypic production traits in broiler chickens**. Masters of Science Thesis (Master in Animal Science) - University of Maryland, College Park, MD. 2009.
- MUIR, W.M. Comparison of genomic and traditional BLUP-estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p.342-355, 2007.
- SIEWERDT, F.; SASIKALA-APPUKUTTAN, A.K. Genetic variation in fecal nitrogen and phosphorus levels in broilers: opportunity for improving both birds and the environment. In: Proceedings of the National Breeders Roundtable, 57., 2008, St. Louis, MO. **Proceedings...** St. Louis: National Breeders Roundtable, [2008]. CD Proceedings, p.1-15.
- ZHANG, W.; AGGREY, S.E.; PESTI, G.M. et al. Genetics of phytate phosphorus bioavailability: Heritability and genetic correlations with growth and feed utilization traits in a randombred chicken population. **Poultry Science**, v.82, p.1075-1079, 2003.