

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Associação de nucleotídeos de base única em genes ligados ao transporte iônico e regulação de apetite com ganho de peso, conversão alimentar e ingestão de matéria seca de bovinos Nelore¹

Gabriella Vespe de Moura², Miguel Henrique de Almeida Santana³, Rodrigo da Costa Gomes⁴, Gilberto Ozawa², Heidge Fukumasu⁵, José Bento Sterman Ferraz⁵

¹Trabalho financiado pela FAPESP

²Graduação em Medicina Veterinária - FZEA/USP, Pirassununga. email: gabriella.moura@usp.br e gil_ozawa@usp.br

³Pós-Graduação em Qualidade e Produtividade Animal – FZEA/USP, Pirassununga. Bolsista FAPESP e-mail: mhasantana@usp.br, pamela.alexandre@usp.br

⁴Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Campo Grande. e-mail rodrigo.gomes@embrapa.br

⁵Departamento de Medicina Veterinária e Zootecnia – FZEA/USP, Pirassununga. e-mail: fukumasu@usp.br e jbferraz@usp.br

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar os polimorfismos, associações e efeito de substituição alélica em genes ligados ao controle de apetite (NPY666 e PDE3B) e transporte de íons (ITPR1 e TRPM3) no ganho de peso diário (GMD), conversão alimentar (CA) e ingestão de matéria seca (IMS) de bovinos da raça Nelore. Foram confinados 251 animais e eles tiveram sua IMS e GMD avaliados, com essas duas medidas a CA desses animais foi calculada como a razão da IMS pelo GMD. Essas variáveis foram associadas com 4 polimorfismos de base única (SNPs) e os efeitos de substituição alélica foram estimados por meio do PROC MIXED do SAS 9.3. Não foi encontrada associação para os SNPs dos genes TRPM3 e NPY, porém houve um efeito significativo (P 0,05) na associação e no efeito de substituição alélica no SNP do gene PDE3B com IMS. Adicionalmente, uma tendência (P 0,20) no efeito de substituição do alelo C pelo alelo T nas medidas de IMS e GMD no SNP do gene ITPR1. O gene PDE3B deve ser melhor estudado pois parece estar relacionado com a ingestão e eficiência alimentar.

Palavras-chave: bovinos, consumo, eficiência alimentar, marcadores moleculares, SNPs

Association of single nucleotide base in genes linked to ion transport and regulation of appetite with weight gain, feed conversion and dry matter intake of Nelore cattle

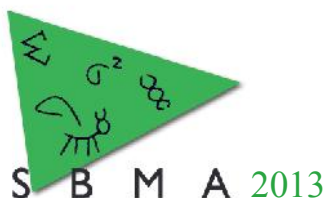
Abstract: The aim of this study was to evaluate polymorphisms, associations and allele substitution effect on genes linked to appetite control (NPY666 and PDE3B) and ion transport (ITPR1 and TRPM3) of average daily gain (ADG), feed conversion ratio (FCR) and dry matter intake (DMI) of Nelore cattle. Two hundred fifty-one animals were confined and they had their DMI and ADG evaluated, with these two traits the FCR of these animals was calculated as the ratio of IMS by GMD. These variables were associated with four single polymorphisms nucleotide (SNPs) and allele substitution effects were estimated using PROC MIXED of SAS 9.3. No association was found for SNPs of genes TRPM3 and NPY, but there was a significant effect (P 0.05) in association and allele substitution effect in SNP in gene PDE3B with DMI. Additionally, a trend (P 0.20) in the effect of substitution of the C allele to T allele on DMI and ADG in gene ITPR1. The gene PDE3B should be better studied because it appears to be related to the intake and feed efficiency.

Keywords: beef cattle, feed efficiency, intake, molecular markers, SNPs

Introdução

O consumo voluntário de alimentos é o fator que regula principalmente o crescimento e o ganho de peso dos animais, portando atua também sobre a eficiência alimentar de cada animal. Dessa forma, a alta correlação entre a produção de carne e a ingestão total de alimentos demonstra o quanto é importante que se estude os fatores capazes de influenciá-la.

A ingestão alimentar está sob controle fisiológico e a variabilidade genética desta dentro das populações é determinante na eficiência alimentar e no ganho de peso (Robinson & Oddy, 2004). O controle fisiológico e genético podem estar associados com variações no genoma dos bovinos. O presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de alterações alélicas, efeito de substituição e associação de marcadores moleculares do tipo SNP em genes relacionados com controle de apetite (NPY666 e PDE3B) e transporte iônico (ITPR1 e TRPM3) sobre a ingestão de matéria seca, ganho de peso, conversão alimentar em bovinos da raça Nelore.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Material e Métodos

Dentre os 251 animais machos da raça Nelore analisados nesse trabalho, 103 eram novilhos castrados e 148 tourinhos. Esses animais foram submetidos ao confinamento (155 em baias individuais e 96 em Calan Gates) para avaliação de sua ingestão de matéria seca diária (IMS) durante o período de 70 dias. Os bovinos estudados tinham em média 21 ± 2 meses de idade e 380 ± 19 kg de peso ao início do experimento e a cada 21 dias foram pesados. O cálculo do ganho de peso diário (GMD) foi feito por meio de regressão linear dos pesos vivos pelos dias de pesagem. A conversão alimentar (CA) foi calculada como a razão da IMS pelo GMD.

Foi realizado, em uma das pesagens, a coleta de sangue dos animais por punção jugular em tubos a vácuo contendo K2 EDTA como anticoagulante, esse material foi utilizado para extração de DNA genômico por precipitação de NaCl. Os genótipos foram caracterizados e determinados para os polimorfismos por meio de PCR em tempo real utilizando o equipamento ABI Prism® 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems®, Foster City, CA, EUA). Utilizou-se o sistema de detecção TaqMan™ por meio de leitura de fluorescência das sondas, a proporção de indivíduos heterozigotos e homozigotos para um de seus genótipos foi estimada.

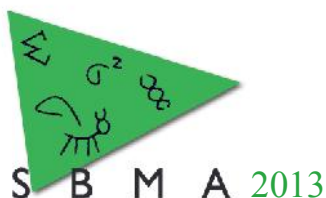
Nesse trabalho foram analisadas alterações alélicas de 4 SNPs em 4 genes que foram escolhidos de uma base internacional de dados genômicos do site *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), foram eleitos os SNPs nos genes NPY (rs110418893) e PDE3B (rs29009964) relacionado ao apetite e os genes ITPR1 (rs29020542) e TRPM3 (rs29024915) ligados ao transporte de íons. As análises de associação foi feita através do procedimento MIXED, do pacote estatístico SAS 9.3, considerando um modelo misto linear incluindo a condição sexual (inteiro ou castrado) e genótipo como efeitos fixos, e o resíduo e reprodutor como efeitos aleatórios para o teste de associação. Já para os efeitos de substituição alélica os mesmos modelos foram usados porém o efeito fixo de genótipo foi usado como efeito fixo contínuo com base nos alelos favoráveis (0, 1 e 2) presentes no genótipo.

Resultados e Discussão

Nas Tabelas 1 e 2 são mostrados os SNPs ligados a modulação de apetite e transporte iônico, respectivamente, juntamente com a associação dos SNPs com as medidas de ingestão de matéria seca, ganho médio diário e conversão alimentar e também o efeito de substituição alélica dos mesmos.

Tabela 1. Efeito de substituição alélica e associação de SNPs ligados ao controle de apetite na ingestão, ganho de peso e conversão alimentar

| Variável | Genótipo | | | P | Efeito de Substituição | P |
|-----------------|--------------------|------------------------|-----------|------|------------------------|------|
| | PDE3B T/T (209) | rs29009964 T/A (38) | A/A (2) | | | |
| IMS (kg MS/dia) | 9,72 | 9,13 | 10,07 | 0,04 | T → A | 0,03 |
| GMD (kg/dia) | 1,57 | 1,55 | 1,70 | 0,76 | | 0,97 |
| CA | 6,57 | 6,25 | 6,43 | 0,28 | | 0,14 |
| | NPY rs110418893 | | | | | |
| | A/A (3) | A/G (1) | G/G (242) | | A → G | |
| IMS (kg MS/dia) | 9,43 | 8,07 | 9,61 | 0,49 | | 0,56 |
| GMD (kg/dia) | 1,65 | 1,47 | 1,55 | 0,85 | | 0,71 |
| CA | 6,20 | 6,22 | 6,52 | 0,90 | | 0,66 |



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Tabela 2. Efeito de substituição alélica e associação de SNPs ligados ao transporte iônico na ingestão, ganho de peso e conversão alimentar

| Variável | Genótipo | | | P | Efeito de Substituição | P |
|-----------------|-----------|------------|-----------|------|------------------------|------|
| | ITPR1 | rs29020542 | | | | |
| | C/C (106) | C/T (100) | T/T (19) | | C → T | |
| IMS (kg MS/dia) | 9,53 | 9,62 | 10,13 | 0,22 | 0,21 | 0,15 |
| GMD (kg/dia) | 1,54 | 1,57 | 1,65 | 0,31 | 0,04 | 0,15 |
| CA | 6,59 | 6,51 | 6,49 | 0,86 | -0,07 | 0,60 |
| | TRPM3 | rs29024915 | | | C → T | |
| | C/C (18) | C/T (64) | T/T (158) | | C → T | |
| IMS (kg MS/dia) | 9,85 | 9,57 | 9,72 | 0,65 | 0,01 | 0,92 |
| GMD (kg/dia) | 1,55 | 1,57 | 1,56 | 0,95 | 0,00 | 0,90 |
| CA | 6,56 | 6,42 | 6,65 | 0,40 | 0,11 | 0,34 |

Os 4 SNPs avaliados foram polimórficos em bovinos da raça Nelore, isso nem sempre acontece quando SNPs polimórficos em animais taurinos (*Bos primigenius taurus*) depositados em conjuntos de dados genômicos são estudados em animais zebuínos (*Bos primigenius indicus*). As frequências genotípicas dos SNPs localizados nos dois genes reguladores de apetite são baixas em alguns genótipos da população estudada, porém nenhum genótipo inexistente foi encontrado.

O teste de associação e de efeito de substituição alélica não demonstraram efeito dos SNPs em genes responsáveis pelo transporte iônico no GMD, IMS ou CA, apesar que uma tendência (P 0,20) pode ser observada no efeito de substituição alélica da IMS e do GMD no SNP do ITPR1, na qual a substituição do alelo C pelo alelo T ocasiona um aumento da IMS e do GMD. O SNP localizado no gene NPY também não apresentou associação ou efeito de substituição alélica significativos (P>0,05), contrariando estudos de animais taurinos para esse mesmo SNP encontraram associação com ingestão e eficiência alimentar (Barendse et al., 2007, Sherman et al., 2008).

Já para o SNP localizado no gene PDE3B, foram observados associação e efeito de substituição alélica significativos (P 0,05) para a ingestão de matéria seca. O gene PDE3B apresenta uma importante atividade em adipócitos e pode ser rapidamente ativado pela insulina. Uma função primária do PDE3B nos adipócitos é mediar a ação anti-lipolítica da insulina através da redução de AMPc pela produção da enzima fosfodiesterase. Adicionalmente, o PDE3B media os efeitos da insulina sobre a secreção de leptina e adiponectina que estão relacionados também com o controle de ingestão (Cong et al., 2007). Essa relação pode explicar esse efeito do SNP no gene PDE3B na ingestão de matéria seca.

Conclusões

A avaliação de SNPs que estão relacionados com a ingestão, ganho de peso e eficiência alimentar deve ser realizada em maior escala tanto em número de SNPs avaliados, como em bovinos testados. O entendimento desses processos podem fornecer informações de genes que podem ter relação com essas importantes características em bovinos da raça Nelore, como a influência do gene PDE3B na ingestão alimentar.

Literatura citada

- BARENDSE, W. et al. A validate whole-genome association study of efficient food conversion in cattle. **Genetics**, v.176, p.1893-1905, 2007.
- CONG L., et al. Regulation of adiponectin and leptin secretion and expression by insulin through a PI3K-PDE3B dependent mechanism in rat primary adipocytes. **Biochemistry Journal**, v.403, p.519 – 525, 2007.
- ROBINSON, D.L.; ODDY, V.H. Genetic parameters for feed efficiency, fatness, muscle area and feeding behaviour of feedlot finished beef cattle. **Livestock Production Science**, v.90, p.255–270, 2004.
- SHERMAN E.L. et al. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their association with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.86, p.1-16, 2008.