

Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

Nº 07|2020 | ANO 111 | Edição 1301 | R\$ 26,00

Gessulic
AGRIBUSINESS
REFERÊNCIA E INOVAÇÃO



ISSN 1516-3105

Antimicrobianos: Produtos com base natural se mostram alternativas principais



Probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais
têm se apresentado como as soluções mais eficazes

EXPRESSÃO DIFERENCIAL DO GENE *GAL1* ENTRE FRANGOS DE CORTE NORMAIS E AFETADOS COM CONDRONECROSE BACTERIANA COM OSTEOMELITE

A Condronecrose Bacteriana com Osteomielite (BCO) é uma anomalia óssea caracterizada pela falta de vascularização no osso, degeneração necrótica e infecção microbiana, causando problemas locomotores e acarretando perdas econômicas significativas

Por | Mateus Tremea¹, Ludmila Mudri Hul², Igor Ricardo Savoldi³, Débora Ester⁴, Marina Eduarda Auler⁵, Adriana Mércia Guaratini Ibelli^{2,6}, Jane de Oliveira Peixoto^{2,6} e Mônica Corrêa Ledur^{3,6}

A avicultura brasileira ocupa o primeiro lugar na exportação e o segundo lugar na produção de carne de frango mundial, ficando atrás somente dos Estados Unidos (ABPA, 2018). De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (2018), 33,1% da produção de carne de frango é destinada para a exportação, enquanto cerca de 66,9% se mantém no mercado interno. O rápido avanço das técnicas de melhoramento genético e seleção para características de interesse econômico trouxe benefícios ao setor avícola. Em contrapartida, algumas consequências do rápido crescimento corporal, como o aumento dos problemas locomotores, ocasionaram perdas econômicas significativas neste setor. As deformidades

ósseas se tornam cada vez mais frequentes, visto que o rápido aumento da musculatura na carcaça não é acompanhado pelo tecido ósseo. Como consequência, os frangos chegam ao abatedouro comprometidos com lesões e muitas vezes acabam sendo parcialmente descartados (SILVA *et al.*, 2001).

A Condronecrose Bacteriana com Osteomielite (BCO) é uma anomalia óssea caracterizada por degeneração necrótica e infecção bacteriana, que é iniciada pela falta de vascularização no osso, causando morte celular desordenada e desenvolvendo um processo patológico (Caponi, 2009). Animais que possuem esta condição apresentam problemas sérios de locomoção, com elevada incidência de claudicações. Ademais, estas aves possuem dificuldade de se alimentar e beber água, sendo que a lesão é piorada com o decorrer da idade e do ganho de peso do animal (Gonzales e Mendonça Junior, 2006). Diversas bactérias oportunistas já foram isoladas das lesões de BCO, como *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli* e *Enterococcus spp*. (Jiang *et al.*, 2015).

As defensinas são peptídeos antimicrobianos de moléculas relativamente pequenas, com menos de 100 aminoácidos, sendo ativadas contra muitas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos e vírus envelopados (Interpro, 2019). O gene da beta-defensina aviária 1 (AvBD1), também conhecido como galicina 1 (*GAL1*), está localizado no cromossomo 3 da galinha (*Gallus gallus*) (NCBI, 2019). Este gene possui funções moleculares de ligação aos receptores da quimiocina e



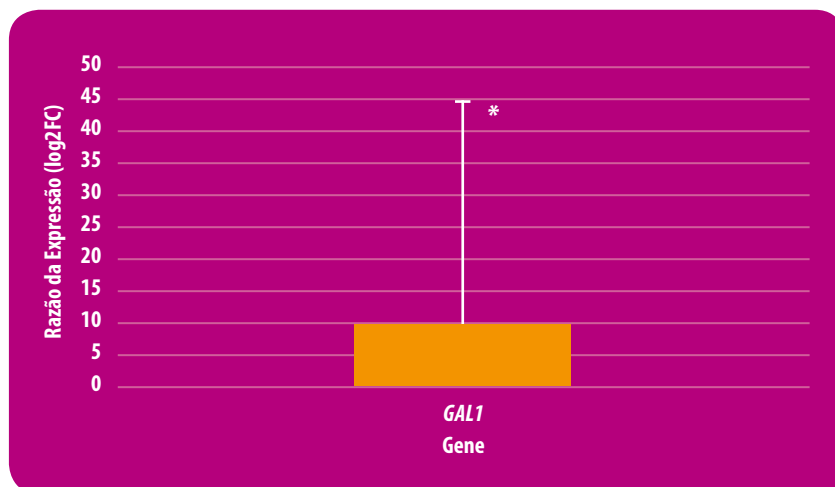
atividade quimioatrativa, além de atuar em processos biológicos em reações desencadeadas em resposta à presença de corpos estranhos ou ocorrência de lesões, que resultam em danos ao organismo atacado e até mesmo em prevenção e recuperação de infecções (OrthoDB, 2019). Sabendo da importância dos problemas locomotores para a avicultura de corte e que a etiologia da BCO não está totalmente elucidada, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a expressão do gene *GAL1* na cartilagem do fêmur de frangos de corte normais e afetados com BCO aos 35 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. Para a realização do experimento, dez frangos de corte machos da linhagem comercial Cobb® normais e dez afetados com BCO aos 35 dias de idade foram selecionados. Foram coletadas amostras da cartilagem articular femoral que foram congeladas em nitrogênio líquido. A extração de RNA foi realizada usando o reagente Trizol, seguido de *clean-up* utilizando *RNeasy mini kit* (Qiagen), conforme recomendações do fabricante. A concentração do RNA foi obtida em equipamento de espectrofotômetro (Biodrop) e a integridade das amostras foi avaliada em gel de agarose de 1,5%. Em seguida, foi efetuada a síntese de cDNA utilizando o kit *SuperScript III First-Strand Synthesis* (Invitrogen) e então, as amostras foram submetidas a quantificação relativa utilizando a técnica de PCR quantitativa (qPCR). Um par de *primers* foi desenhado no programa Primer-BLAST a partir da sequência do *GAL1* no NCBI, sendo eles: F: 5'-CAGGATCCTCCCA GGCTCTA-3' e R: 5'-GATGAGAGTGAGGGAAGGGC-3'. A qPCR foi realizada com o equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems), com as reações contendo: 7,5 µL de de GoTaq qPCR Master Mix (2X, Promega), 0,133 µM de cada *primer* e 1 µL de cDNA na diluição 1:10, totalizando um volume final de 15 µL por reação. As reações foram realizadas em duplicatas para obtenção do *Ct* (*cycle threshold*). Para a normalização, os genes referência *RPL5* e *RPLP1* foram selecionados. A quantificação



Figura 01. Razão de expressão do gene GAL1 em cartilagem do fêmur de frangos de corte afetados com Condroncrose Bacteriana com Osteomielite em relação aos normais (* $p < 0,05$)



relativa foi realizada com o programa *Relative Expression Software Tool* 2009 (REST), específico para análise de expressão gênica diferencial. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível observar a amplificação do gene *GAL1* na cartilagem de frangos de corte, com média de amplificação no ciclo 25 da qPCR, sendo que a amplitude foi do ciclo 22 a 29. Após a normalização com os genes referência, observou-se que o *GAL1* foi nove vezes mais expresso no grupo de animais afetados pela BCO quando comparado com o grupo normal ($p < 0,005$, Figura 01). De acordo com Cheng *et al.* (2015), o gene *GAL1*, pertencente à família das β -defensinas aviárias, forma um conjunto de 13 genes com atuação antibacteriana. Em estudos com enterite necrótica, Hong *et al.* (2012) observaram um aumento da expressão do gene *GAL1* no intestino, baço e fígado de aves infectadas por *E. maxima*, evidenciando a ação do gene contra infecções bacterianas. Zhang *et al.* (2010) testaram diferentes níveis de vitamina D3 na dieta das aves e observaram que a suplementação de 3.200 UI/kg da vitamina na dieta basal poderia promover o aumento da expressão de *GAL1* na Bursa de Fabricius, órgão de resposta imune que é essencial para melhorar a capacidade inata de resistência a doenças em frangos. Além disso, em humanos, a vitamina D desempenha papel importante na manutenção da homeostase do cálcio e possui par-

ticipação na regulação da resposta imune inata e adaptativa (Adams e Hewison 2008). Desta forma, no presente estudo, a maior expressão do gene *GAL1* pode estar envolvida com a BCO, conferindo uma maior ação das β -defensinas aviárias em animais afetados com este problema.

CONCLUSÃO

O gene *GAL1* apresentou expressão nove vezes maior em frangos de

corte afetados com BCO em relação aos frangos normais aos 35 dias de idade, indicando que a maior expressão desse gene pode estar associada ao aumento da resposta imune ocasionada pela progressão da BCO e possível infecção do osso e cartilagem por bactérias oportunistas ou patogênicas. ^{AI}

¹Universidade Federal de Santa Maria - campus Palmeira das Missões - RS. Autor correspondente:

mateustremea@outlook.com

²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná- UNICENTRO, campus Guarapuava - PR

³Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC

⁴Faculdade de Concórdia FACC, Concórdia - SC

⁵Universidade do Contestado, Concórdia - SC

⁶Embrapa Suínos e Aves, Concórdia - SC

Agradecimentos: ao programa de bolsas PIBIC, ao CNPq e a Embrapa Suínos e Aves pela possibilidade da realização do experimento.



As Referências Bibliográficas deste artigo podem ser obtidas no site de Avicultura Industrial por meio do link:

www.aviculturaindustrial.com.br/bco1301



PRÊMIO
QUEM É QUEM
2021

MAIORES E MELHORES COOPERATIVAS DE AVES E SUÍNOS

13 • ABRIL

MEDIANEIRA • PARANÁ • BRASIL

HORÁRIO: 18H

Em sua quinta edição, o **Prêmio Quem é Quem** será realizado na abertura da **AveSui América Latina 2021**.
Idealizado pelas revistas **Avicultura Industrial** e **Suinocultura Industrial**, com apoio patronal da
Organização das Cooperativas Brasileiras (OCB), a premiação será dividida em onze categorias:

 **AMBIENTAL**

 **BIOMASSA & BIOENERGIA**

 **DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL**

 **ECONÔMICO-FINANCEIRO**

 **GESTÃO OPERACIONAL**

 **INOVAÇÃO**

 **MELHOR COOPERADO**

 **MULHER COOPERADA**

 **SOCIAL**

 **TÉCNICO/ASSISTÊNCIA TÉCNICA**

 **VAREJO**