

Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

Nº 10|2019 | ANO 111 | Edição 1293 | R\$ 26,00

Embalagem: tecnologia e design que vende

Inovações tecnológicas ajudam a preservar as características sensoriais das carnes, aspecto importante na decisão de compra pelo consumidor



ADITIVOS EM CARNES
Lígia Schreiner, gerente da Anvisa, debate os principais pontos da RDC 272/2019

ESTUDOS DA EMBRAPA
Informações genômicas ajudam a reduzir problemas metabólicos em frangos de corte

INFORMAÇÕES GENÔMICAS PODEM AJUDAR A REDUZIR PROBLEMAS METABÓLICOS EM FRANGOS DE CORTE

Atualmente, mais de 50 características estão sendo consideradas no processo de seleção para frangos de corte, refletindo a preocupação das empresas de genética com vários grupos de características, importantes para a sustentabilidade dos frangos de corte modernos

Por | Jane de O. Peixoto¹, Adriana M. G. Ibelli¹, Mônica C. Ledur¹

A carne de frango é uma das principais fontes de proteína animal de alta qualidade para seres humanos, sendo uma das carnes mais saudáveis e consumidas no mundo. A posição de destaque na produção mundial de carne de frango foi alcançada devido aos grandes avanços em genética, nutrição, saúde, manejo, ambiência e criação das aves (Havenstein *et al.*, 2003). Grande parte deste progresso observado na produção avícola é atribuída ao melhoramento genético praticado nos rebanhos núcleo, permitindo o desenvolvimento de frangos de corte capazes de crescer rapidamente com alta eficiência alimentar (Havenstein *et al.*, 2003). A taxa de crescimento dos frangos aumentou mais de 400% no período de 1957 a 2005 e, ao mesmo tempo, houve uma redução simultânea de 50% na taxa de conversão alimentar. Como consequência, os frangos modernos sofreram grandes mudanças genéticas e fenotípicas (Zuidhof *et al.* 2014). Esta mudança fenotípica foi tão extraordinária que os leigos atribuem este crescimento rápido ao uso de hormônios, o que é um dos principais mitos da avicultura. O rápido crescimento decorre da seleção genética praticada, da estimativa das exigências de aminoácidos digestíveis, do balanceamento das dietas no nível dos micronutrientes e das melhorias realizadas nas demais áreas mencionadas acima. O progresso genético nas características economicamente importantes foi acompanhado, no entanto, por alguns efeitos indesejáveis, como deposição de gordura na carcaça, distúrbios metabólicos como ascite, morte súbita e problemas esqueléticos, fertilidade reduzida e função imune alterada (Rauw *et al.*, 1998). Alguns desses desequilíbrios fisiológicos

têm sido associados à redução do bem-estar e representam perdas econômicas significativas na avicultura. É importante ressaltar que além de garantir a competitividade da indústria avícola, o uso de frangos altamente eficientes agrega um importante componente de sustentabilidade para a cadeia avícola. A seleção para melhor conversão alimentar diminuiu a emissão de gases de efeito estufa e outros resíduos na produção de carne de aves e contribuiu para reduzir o impacto ambiental da produção de frangos quando comparada a outros animais de produção. Por exemplo, a pegada hídrica, um indicador de sustentabilidade ambiental, é considerada menor para frangos do que para outros sistemas de produção de carne (Gerbens-Leenes *et al.*, 2013).

As exigências da sociedade para a criação dos animais em sistemas de produção com menor impacto ambiental e melhor bem-estar animal levaram as empresas a ajustar seus objetivos para atender a essas demandas. Entretanto, o aparecimento de problemas metabólicos, que afetam principalmente os sistemas cardiovascular e musculoesquelético, frequentemente, resulta em ascite, morte súbita, miopatias e claudicação ou dificuldade para caminhar. A incidência de problemas ósseos, por exemplo, é considerada uma das principais preocupações da indústria avícola, devido às perdas econômicas significativas e por comprometer o bem-estar das aves (Julian, 2005). Em decorrência dos problemas mencionados, as empresas de genética de aves têm feito esforços contínuos para estabelecer novas abordagens para os desafios relacionados aos distúrbios metabólicos. Atualmente, os objetivos da seleção incluem melhorar as



características relacionadas à robustez, levando à obtenção de animais fisiologicamente mais equilibrados. Dessa forma, a demanda por parte dos consumidores, para que haja um balanço entre produção e bem-estar animal, vem sendo atendida concomitantemente aos ganhos obtidos em características de impacto econômico, como a eficiência alimentar. Atualmente, mais de 50 caracteres (diretos e indiretos) estão sendo considerados no processo de seleção de frangos de corte, refletindo a preocupação com vários grupos de características, importantes para a sustentabilidade dos frangos de corte modernos (Siegel *et al.*, 2019). Na década de 1960, no início dos programas de melhoramento de frangos, o peso vivo era o único critério de seleção.

Apesar de todos os esforços feitos até o momento, os problemas metabólicos ainda são uma questão importante na produção de aves. Portanto, neste artigo serão abordados, com foco no uso da genômica, visando melhorar a estrutura esquelética e muscular dos frangos de corte modernos, os dois principais problemas metabólicos que causam grandes perdas para a avicultura industrial: os locomotores e as miopatias.

PROBLEMAS DE INTEGRIDADE ÓSSEA EM FRANGOS

A incidência de problemas locomotores em frangos de corte aumentou nas últimas décadas, uma vez que as taxas de crescimento rápidas podem afetar o equilíbrio entre crescimento,

tamanho e estrutura óssea. Desde 1930, inúmeras causas de deformidades esqueléticas em frangos de corte são identificadas, como as relacionadas aos nutrientes (toxidez, deficiência e desequilíbrio), genética, micotoxinas e práticas de manejo que afetam diretamente o crescimento e desenvolvimento esquelético (Cook, 2000). Os principais problemas locomotores em frangos de corte são Discondroplasia Tibial (DT), Rotação da Perna (Valgus-Varus), Epifisiólise e Necrose da Cabeça do Fêmur (NCF), também conhecida como Condronecrose Bacteriana com Osteomielite (do inglês, *Bacterial Chondronecrosis with Osteomyelitis* - BCO), espondilite enterocócica, osteoporose, fraturas de fêmur, asas e ossos da pelve.

Problemas de pernas resultam em altas taxas de mortalidade e redução na eficiência e crescimento. Além disso, distúrbios graves das pernas podem comprometer o bem-estar dos frangos de corte devido à dor e incapacidade de caminhar, levando à redução da ingestão de ração e água, violando quatro das cinco liberdades que os animais de criação devem usufruir, de acordo com o *Farm Animal Welfare Council*. Algumas deformidades esqueléticas também afetam as atividades nos abatedouros, como na operação de equipamentos automáticos de evisceração e desossa, influenciando a velocidade das linhas de processamento, aumentando a necessidade de reparos manuais e causando perdas nos abatedouros.

A Discondroplasia Tibial foi o principal problema de pernas na indústria durante algumas décadas. A DT é caracterizada

pela formação de uma massa anormal de cartilagem, não vascularizada, pouco mineralizada, ocupando a extremidade proximal dos ossos longos. Esse distúrbio provoca claudicação, e aves com essas deformidades são mais propensas a fraturas. Ao longo das últimas décadas, intensa seleção tem sido aplicada para reduzir os níveis de DT por meio da avaliação em aves vivas utilizando um aparelho de raio-X denominado de Lixiscópio (Kapell *et al.*, 2012). Assim, a prevalência de DT nas linhagens de frangos de corte foi reduzida em aproximadamente 30%.

Atualmente, a epifisiólise do fêmur, que é a separação da placa de crescimento da cartilagem articular, é uma condição muito frequente em frangos de corte (Figura 01). Este pode ser considerado um problema esquelético metabólico em frangos de crescimento rápido, que aumenta a vulnerabilidade à separação da epífise femural e têm sido implicada em problemas subsequentes, como infecção bacteriana e osteomielite, condições relacionadas à BCO (Julian, 2005). É difícil estimar a incidência real da epifisiólise em frangos de corte, pois em geral ela é subclínica, sendo seus efeitos subestimados na produção. Esta condição também pode afetar outros ossos, como tibia, úmero e rádio.

A BCO ou NCF é o distúrbio das pernas mais importante na atualidade, sendo diagnosticado mundialmente como a principal causa de claudicação em frangos comerciais e pode ocorrer em outros ossos do organismo das aves. A maioria dos casos de BCO tem sido detectada em frangos com bom

desempenho por volta dos 35 dias de idade. Eventualmente, os surtos de BCO podem afetar cerca de 15% de um lote, sendo uma importante causa de mortalidade em frangos de crescimento rápido (Wideman *et al.*, 2013). Mesmo em frangos sem claudicação e sem sintomas clínicos aparentes, essa lesão também pode estar presente. Um ponto crítico para o diagnóstico deste problema é que os sinais clínicos não são detectáveis nos estágios iniciais, sendo observados apenas durante o abate ou necropsia. Portanto, a descoberta de biomarcadores não invasivos pode ajudar na seleção genética de frangos de corte contra a predisposição à necrose da cabeça do fêmur (Packialakshmi *et al.*, 2015).

MIOPATIAS PEITORAIS EM FRANGOS DE CORTE

As miopatias peitorais estão entre os principais desafios atuais da indústria avícola de corte, pois afetam negativamente a qualidade sensorial e tecnológica da carne. Estas lesões vêm sendo detectadas cada vez com maior frequência ao exame *post mortem* na linha de abate e, dependendo da sua gravidade, podem levar à condenação das carcaças (USDA, 2018). Dentre as desordens musculares que afetam os músculos do peito, as de maior ocorrência são: miopatia peitoral profunda, degeneração peitoral, *White Striping* (WS) e a peito madeira ou *Wooden Breast* (WB). As duas últimas são as mais frequentes, de modo que se estima que mais de 90% dos frangos de corte nos EUA sejam afetados pelas miopatias WS e WB, causando perdas econômicas anuais de US\$ 200 milhões a US\$ 1 bilhão naquele país, (Kuttappan *et al.*, 2016). No Brasil, poucas são as informações disponíveis sobre os prejuízos causados por WS e WB na comercialização de carne de frango. Ferreira *et al.* (2014) avaliaram o abate de cerca de 25 mil frangos em um abatedouro do Sul do Brasil e verificaram que cerca de 7,38% das aves apresentaram grau moderado e 2,48% grau severo de WS, totalizando 9,84% (2.512 frangos) com algum grau de WS. Além disso, estimou-se uma média de 11% de incidência para WB, o que traria mais de US\$ 30 milhões de prejuízos anuais (Madruça *et al.*, 2019). A ocorrência de WS afeta principalmente a aparência visual do produto

Figura 01. Frango de corte com epifisiólise do fêmur



cárneo, sendo que 50% dos consumidores não comprariam os filés com qualquer grau de WS (Kuttappan *et al.*, 2012). Devido à recusa dos consumidores por produtos com WS e também devido ao comprometimento da qualidade da carne de aves afetadas com miopatias, como perda de água e alto teor de gordura em relação à proteína, as carnes afetadas recebem destinos menos nobres, causando perdas ao setor. Entretanto, estas condições não estão associadas com agentes infecciosos, não sendo considerados problemas de saúde pública. As lesões são internas, sendo observadas somente após o abate, não sendo possível, até o momento, fazer o diagnóstico de aves vivas afetadas no lote.

Recentemente, também tem se verificado que a redução na ocorrência de miopatias, independentemente de quais estratégias nutricionais ou linhagens genéticas sejam utilizadas, pode ser pouco efetiva, a menos que se controle a taxa de crescimento dos frangos (Gratta *et al.*, 2019). Vários autores têm observado que linhagens selecionadas para alto rendimento de peito são mais afetadas por miopatias que linhagens padrão de frangos de corte (Petracci *et al.*, 2012; Trocino *et al.*, 2015).

COMO REDUZIR PROBLEMAS METABÓLICOS SEM COMPROMETER O DESEMPENHO DOS FRANGOS?

A seleção genética é a melhor resposta para essa pergunta. Tomando-se como exemplo os problemas de perna, uma vez que várias maneiras de diagnosticar tais problemas estão sendo desenvolvidas e aplicadas para melhorar a qualidade esquelética, a primeira ação implementada na seleção para melhorar a qualidade das pernas foi descartar todos os indivíduos com defeitos esqueléticos (perna, quilha, coluna vertebral etc.). Além disso, a avaliação da capacidade de locomoção por escores visuais, como o *gait score* é importante no processo de seleção. Uma inovação altamente relevante para a melhoria esquelética foi o uso do lixiscópio que permitiu uma redução drástica da incidência de discondroplasia tibial. Mais recentemente, o lixiscópio vem sendo substituído pela tomografia, que permite identificar e eliminar indivíduos com DT com muito mais precisão, possibilitando a detecção de distúrbios subclínicos das pernas (Souza, 2019).

Uma grande dificuldade em trabalhar com essas características em programas de melhoramento genético é o fato de muitos sintomas resultantes dessas anormalidades não serem clinicamente visíveis. Além disso, as estimativas de herdabilidade para características como DT, deformidades dos ossos longos e dedos tortos variam de baixas a medianas em diferentes linhagens puras (Kapell *et al.*, 2012). Esses parâmetros indi-

cam que fatores ambientais, como nutrição e manejo, afetam esse conjunto de variáveis ósseas. Além disso, sabe-se que existe correlação genética desfavorável entre a saúde das pernas e o peso corporal e as características de crescimento. Mesmo com estas dificuldades, objetivos de melhoramento ponderados podem melhorar simultaneamente o peso vivo e a saúde das pernas (Siégl *et al.*, 2019). Atualmente, a seleção genômica é considerada uma das melhores estratégias para melhorar características complexas, especialmente aquelas de difícil mensuração, como características relacionadas à integridade óssea.

A sustentabilidade da indústria avícola nos próximos anos depende de se encontrar o equilíbrio entre a demanda por carne para alimentar uma população crescente usando agricultura intensiva e maior eficiência, reduzindo os impactos ambientais. No entanto, sabe-se que essa equação é um desafio para as empresas de aves. Estudos demonstraram que a produtividade e o bem-estar dos animais podem ser melhorados ao mesmo tempo através da seleção genética (Cheng e Muir, 2005). O uso de ferramentas genômicas em conjunto com novos métodos quantitativos oferece soluções potenciais para melhorar a adaptação de frangos de corte a novos ambientes de produção. Além disso, a demanda pelo desenvolvimento de novas ferramentas para o diagnóstico preciso e rápido tem aumentado e novas metodologias genômicas globais, como o sequenciamento do RNA (RNA-Seq) e metagenômica, podem ajudar a melhorar o conhecimento sobre a etiologia das doenças ósseas e também a dissecar a arquitetura genética de características de integridade óssea.

A mensuração de novos fenótipos tem permitido avanços nas características econômicas e de bem-estar. O progresso no uso de tecnologias para coletar, armazenar e analisar dados foi extraordinário nos últimos anos, permitindo a estimativa de valores genéticos e a conquista de novos fenótipos de produção, comportamento e bem-estar. As principais empresas de genética vêm utilizando tecnologias não invasivas para avaliação do indivíduo, como as estações alimentares eletrônicas e a Tomografia Computadorizada (TC). A TC possui diversas aplicações na rotina da estimativa dos valores genéticos e pode melhorar significativamente a avaliação fenotípica da carcaça, incluindo a qualidade da perna e do peito. Alta correlação genética (0,93) entre a medida direta de rendimento de peito e a predita pela TC já foi observada no programa genético da Hubbard (Riboulet *et al.*, 2019). Com isso, ao prever a quantidade de diferentes tecidos, como músculo, gordura, ossos e órgãos, será possível utilizar novos fenótipos para avaliação



in vivo dos animais. No entanto, o uso dessa tecnologia exige grande investimento em análise e armazenamento de imagens, com a necessidade de servidores computacionais de alto desempenho e recursos humanos especializados.

METODOLOGIAS APLICADAS PARA INVESTIGAR A ESTRUTURA ESQUELÉTICA E MUSCULAR

Novas metodologias genômicas têm ajudado a melhorar a seleção contra os principais problemas metabólicos que afetam a produção, como miopatias e desordens ósseas. A galinha foi a primeira espécie de animal doméstico a ter seu genoma sequenciado e a partir dos dados de sequenciamento foi possível identificar milhões de marcadores do tipo SNPs (troca de uma única base do DNA) e desenvolver painéis de SNPs para genotipagem. Assim, por meio da parceria entre empresas de genética e institutos de pesquisa foram desenvolvidos painéis com aproximadamente 60 mil (*Illumina*) e, posteriormente, 600 mil SNPs (*Affymetrix*), abrindo uma nova era no uso de marcadores moleculares na seleção de aves, tanto para corte como para postura.

Nesta década, o uso da Seleção Genômica (GS) vem sendo implementado e os métodos de análise aprimorados (Wolc *et al.*, 2016, Bailey *et al.*, 2018). As principais empresas de genética avícola: Aviagen, Cobb-Vantress e Hubbard estão usando a GS. A Aviagen foi pioneira no uso da seleção genômica em seu programa de melhoramento desde 2012, sendo que em 2017 os ganhos genéticos com essa metodologia chegaram aos frangos comerciais. A GS está permitindo uma rápida melhoria nas características caras ou difíceis de medir e também nas de baixa herdabilidade, como canibalismo, robustez, mortalidade, escore de perna, resistência óssea e resistência a doenças. Portanto, a aplicação da seleção genômica é uma alternativa real para reduzir os problemas das pernas e melhorar a qualidade do esqueleto em aves. Para esse grupo de características, as informações genômicas podem aumentar a precisão dos valores genéticos em cerca de 30%. Além disso, a GS permite incrementar a acurácia da predição de valores genéticos mesmo para características bem conhecidas, como peso corporal (Wang *et al.*, 2013).

As informações genômicas também têm sido usadas para estudos de associação global do genoma (GWAS) com o objetivo de identificar genes que controlam características relacionadas à integridade óssea e possíveis marcadores que possam ser usados como complemento na avaliação genética tradicional (Guo *et al.*, 2017). A inclusão desses

marcadores na avaliação genética tem o potencial de acelerar o progresso genético para essas características, sem reduzir os ganhos já obtidos nas características de produção e também reduzir o impacto da avicultura no bem-estar dos frangos. A abordagem inicial para se conhecer a arquitetura genética das características de qualidade óssea foi o mapeamento de QTL (*loci* que controlam características quantitativas) usando marcadores microssatélites no final dos anos 90 e início dos anos 2000. Assim, várias regiões genômicas associadas a características esqueléticas, como resistência óssea, densidade e conteúdo mineral, teor de cinzas e conformação, foram encontradas em diferentes cromossomos nas linhas de frangos, reforçando o componente genético envolvido na ossificação.

Na busca por conhecer a etiologia desses distúrbios, a maioria dos estudos compreendem análises histopatológicas, alterações na nutrição e detecção de microrganismos patogênicos. As novas metodologias de genômica funcional envolvendo transcriptoma, genes candidatos e abordagens epigenéticas podem ser de grande importância para dissecar a etiologia dessas condições. Nossa equipe realizou um estudo comparando o transcriptoma da cabeça do fêmur de frangos normais e afetados com epifisiólise, aos 35 dias de idade, utilizando a técnica de RNA-Seq. Um conjunto de genes que atuam potencialmente no desencadeamento da epifisiólise foi identificado, proporcionando melhor compreensão dos mecanismos que regulam o desenvolvimento ósseo em frangos de crescimento rápido. Observou-se que a regulação negativa dos genes da Matriz Extracelular (MEC) em frangos afetados poderia influenciar a integridade da MEC, levando à epifisiólise em frangos com 35 dias de idade (Peixoto *et al.*, 2019 - enviado para publicação). A identificação de genes e rotas metabólicas envolvidas com a epifisiólise, juntamente com a rede de interações gênicas, pode fornecer novos conhecimentos que permitirão reduzir esses problemas complexos da produção por meio de ajustes na genética e em outras áreas como manejo, nutrição, saúde e ambiência. O entendimento das alterações no transcriptoma da placa de crescimento pode apoiar estratégias de seleção para melhorar a robustez das aves, a fim de obter frangos mais resilientes.

Além disso, a Regulação Negativa dos Genes da Osteonectina (*SPARC*), relacionado ao fator de transcrição Runt 2 (*RUNX2*) e do fator de crescimento de fibroblastos (*FGF1*), que têm papel importante na vascularização e formação óssea, podem estar associados ao desenvolvimento da NCF



em frangos de corte (Paludo *et al.*, 2017). Genes envolvidos na osteogênese, formação de tecido conjuntivo e produção de colágeno também foram menos expressos em frangos afetados pela necrose da cabeça do fêmur (Petry *et al.*, 2018). Além disso, Oliveira *et al.* (2019, submetido à publicação) sugeriu que a falta de ossificação adequada pode ser a principal causa de BCO em frangos de corte e que a infecção bacteriana parece ser uma condição secundária.

Estudos vêm sendo conduzidos por meio de análise metagenômica, indicando que a presença de grupos bacterianos está associada ao desenvolvimento de BCO em galinhas (Jiang *et al.*, 2015). Recentemente, mecanismos epigenéticos (mecanismos herdáveis ou não, mas que não estão contidos nas bases do DNA) e suas funções na variabilidade fenotípica têm sido estudados em espécies animais como bovinos, suínos e também galinhas. Estudos considerando os mecanismos epigenéticos de características de integridade óssea em frangos de corte são escassos. No entanto, foi demonstrado que o desenvolvimento ósseo de frangos pode ser afetado por fatores externos, como a temperatura de incubação dos ovos (Oznurlu *et al.*, 2016), sugerindo que mecanismos epigenéticos possam estar envolvidos com a ossificação em galinhas.

As novas metodologias genômicas também têm permitido avanços no conhecimento dos mecanismos genéticos associados às principais miopatias em frangos de corte. As miopatias WS e WB têm sido associadas à intensa seleção genética para crescimento rápido, maior ganho de peso e rendimentos de carcaça e do peito. Assim, é imprescindível conhecer os genes, marcadores e bioprocessos relacionados à ocorrência dessas miopatias, em busca de alternativas para reduzir perdas da produção causadas por esses problemas. Nossa equipe, na Embrapa Suínos e Aves, tem trabalhado com WS e já verificou alguns genes e vias metabólicas associadas com grau severo desta miopatia em frangos de corte (Marchesi *et al.*, 2018). Entretanto, são necessários estudos em idades mais jovens e estágios iniciais desta condição para o melhor entendimento das alterações funcionais que podem desencadear tanto WS quanto WB. Por isso, novas pesquisas serão realizadas por nossa equipe utilizando

frangos nas idades de 21 e 35 dias para o estudo das miopatia WS e WB. Estas são idades-chave no aparecimento de lesões histológicas que caracterizam os estágios iniciais destas duas condições (Papah *et al.*, 2018). Além disso, o uso de metodologias genômicas de análise do transcriptoma, de microRNAs e do metagenoma, permitirão que genes e vias metabólicas que desencadeiam essas miopatias sejam identificados, criando novas possibilidades para auxiliar na solução desses problemas multifatoriais da avicultura.

CONCLUSÃO

Os avanços nas metodologias genômicas serão imprescindíveis para dissecar o controle genético de vários distúrbios metabólicos em aves domésticas. A integração de resultados de GWAS, RNA-Seq, metagenômica, epigenética e outras ômicas permitirá identificar genes e vias metabólicas envolvidas em distúrbios ósseos, integridade esquelética e miopatias. Esse conhecimento contribuirá para busca de abordagens alternativas visando reduzir esses problemas metabólicos complexos na produção de aves, por possíveis ajustes em áreas como manejo, nutrição, saúde, ambiência e genética.

A inclusão de novos fenótipos e o desenvolvimento de novas abordagens genômicas na avaliação genética de frangos de corte permitirá a obtenção de ganhos concomitantes em eficiência produtiva, qualidade de carne do peito e qualidade óssea. Dessa forma, as demandas da sociedade por robustez e sustentabilidade provavelmente serão alcançadas em poucos anos, usando essas novas metodologias genômicas e fenótipos mais refinados para produzir frangos de corte cada vez mais equilibrados fisiologicamente. ¹⁰

¹Embrapa Suínos e Aves

As Referências Bibliográficas deste artigo estão disponíveis no site de Avicultura Industrial por meio do link:

www.aviculturaindustrial.com.br/metabolico1293

