

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

***TURNOVER* TECIDUAL, DESEMPENHO E RENDIMENTO DE  
CARÇA EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A  
DIFERENTES NÍVEIS DE LISINA DIGESTÍVEL**

MARIANA KIYOMI MARUNO

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Zootecnia como  
parte das exigências para obtenção  
do título de Doutor.

BOTUCATU – SP  
AGOSTO, 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

***TURNOVER TECIDUAL, DESEMPENHO E RENDIMENTO DE  
CARÇA EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A  
DIFERENTES NÍVEIS DE LISINA DIGESTÍVEL***

MARIANA KIYOMI MARUNO  
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia como  
parte das exigências para obtenção  
do título de Doutor.

BOTUCATU – SP  
AGOSTO, 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

M389t Maruno, Mariana Kiyomi, 1986-  
Turnover tecidual, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de lisina digestível / Mariana Kiyomi Maruno. - Botucatu : [s.n.], 2016

x, 90 f.: il., color., grafs., tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2016

Orientador : Antonio Celso Pezzato

Inclui bibliografia

1. Aminoácidos. 2. Carbono 13. 3. Isótopos estáveis. 4. Metabolismo. 5. Lisina na nutrição animal. I. Pezzato Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

*Faça o que for necessário para ser feliz.  
Mas não se esqueça de que a felicidade é um sentimento simples,  
você pode encontrá-la e deixá-la ir embora  
por não perceber sua simplicidade.*

*(Martha Medeiros)*

***Dedico***

*À minha vovó Yolanda Rossetto Crivellari por todo carinho e amor recebido.*

***Ofereço***

*Aos meus pais Raimundo Kazuya Maruno e Marilene Crivellari Maruno, pela força, dedicação, encorajamento, amizade e amor. O apoio recebido foi fundamental para a concretização desse projeto.*

## *Agradecimentos*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ UNESP – Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do Auxílio Pesquisa (2014/07099-5), fundamental para a realização deste trabalho.*

*Ao Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato pela orientação, dedicação, confiança, paciência e atenção. O aprendizado proporcionado por este projeto, jamais será esquecido.*

*Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti (in memoriam), exemplo de professor e pesquisador, o conhecimento adquirido durante a convivência será lembrado por toda minha vida.*

*Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori por todo ensinamento proporcionado no período em que estive no Laboratório de Nutrição de Aves.*

*Ao Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa pela colaboração durante a realização do projeto.*

*À Prof. Dr. Maria Márcia Pereira Sartori, pela contribuição nas análises estatísticas.*

*Ao Prof. Dr. Roberto de Oliveira Roça, pelo suporte laboratorial na preparação de amostras.*

*Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Ellen Cassemiro Guilhen, pelos auxílios prestados.*

*Ao funcionário do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Luis Carlos Fernandes pela prestação de serviços.*

*Aos funcionários da Fábrica de Ração e da Supervisão de Fazendas de Ensino, pela colaboração da execução desta pesquisa.*

*Aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Evandro Tadeu Silva, Cibele Regina de Souza-Kruliski, Nádia Carvalho e Mariana Sasso Andreasi, pelo auxílio na realização das análises isotópicas.*

*À equipe do Laboratório de Nutrição de Aves: Amanda Lapa, Everton Muro, Tatiane Sousa, Juliana Rezende, Mayara Santana, Mônica Megumi, Natani Cruz, Paola*

*Gentile, Juliana Denadai e Mayara Pivetta. A contribuição, dedicação e ajuda proporcionada foram fundamentais para a realização do projeto. Ao pós-graduando Luan Sousa pela ajuda durante os ensaios experimentais.*

*Aos estagiários Alex Ito, Lucas Lopes, Rafael Bernardo, Ricardo Sousa e Ana Paula Moreira pela colaboração e momentos de descontração proporcionados.*

*Ao estagiário Armando Carlos Contin Neto pela amizade e ajuda. A dedicação a este projeto foi fundamental para a sua realização.*

*Às amigas e companheiras de pós-graduação Nathália Causso, Carolina Santos, Daniella Berto e Ana Cristina Stradiotti pela amizade, dedicação e pelos momentos de diversão proporcionados durante toda a pós-graduação. O carinho de vocês foi fundamental nos momentos de maior dificuldade.*

*Aos meus tios Eduardo Montoro Júnior e Marli Montoro, Aimar Omero Sansão e Marilda Sansão e, Santino Guerino Zaize Júnior e Márcia Zaize, pelo incentivo e carinho recebidos durante todo curso.*

*Aos primos Vanessa Cristina Zaize Felizi e Luiz Gustavo Zaize por estarem sempre presentes em minha vida. Aos demais primos por me apoiarem sempre.*

*A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto.*

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	01
Considerações iniciais.....	02
Introdução.....	02
Revisão de literatura .....	03
1.Aplicação da metodologia dos isótopos estáveis na avicultura .....	03
1.1 Frangos de corte .....	04
1.2 Aves de postura .....	04
1.3 Codornas .....	04
2.Turnover proteico .....	05
3.Lisina .....	07
3.1. Lisina: produção, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte.....	08
3.1.1. Desempenho e rendimento de carcaça: fases pré-inicial e inicial.....	08
3.1.2. Desempenho e rendimento de carcaça: fases crescimento e final .....	11
4.Justificativa e objetivos .....	13
5.Referências bibliográficas .....	15
<b>Capítulo II</b> .....	21
Resumo .....	22
Abstract .....	23
Introdução.....	24
Material e métodos .....	25
Resultados e discussão .....	33
Conclusão .....	47
Referências bibliográficas .....	53
<b>Capítulo III</b> .....	56
Resumo .....	57
Abstract .....	58
Introdução.....	59
Material e métodos .....	60
Resultados e discussão .....	68
Conclusão .....	80
Referências bibliográficas .....	86
<b>Capítulo IV</b> .....	89
Implicações .....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Curva de diluição isotópica de carbono do fígado, músculo do peito, músculo da coxa e tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 0 a 20 dias de idade ..... 50
- Figura 2.** Curva de crescimento exponencial do fígado, músculo da coxa e tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 0 a 20 dias de idade. 51
- Figura 3.** Curva de crescimento exponencial do músculo do peito de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 0 a 20 dias de idade..... 52

### CAPÍTULO III

- Figura 1.** Curva de diluição isotópica de carbono do fígado, músculo do peito, músculo da coxa e tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 56 dias de idade ..... 83
- Figura 2.** Curva de crescimento exponencial do músculo do peito e do músculo da coxa de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 56 dias de idade ..... 84
- Figura 3.** Curva de crescimento exponencial do fígado e da tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 56 dias de idade..... 85

## ÍNDICE DE TABELAS

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase pré-inicial (1-7 dias de idade) .....	26
<b>Tabela 2.</b> Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase inicial (8 - 20 dias de idade) .....	37
<b>Tabela 3.</b> Sinal isotópico das rações pré-inicial e inicial expressos em $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao padrão <i>Pee Dee Belemnte</i> (PDB) e seu respectivo desvio-padrão .....	30
<b>Tabela 4.</b> Desempenho de frangos de corte, de 1 a 7 dias e de 1 a 21 dias de idade, recebendo dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível .....	34
<b>Tabela 5.</b> Médias de pesos absolutos (g) e rendimentos (%) de carcaça, peito, coxa, sobrecoxa, gordura abdominal e fígado de frangos de corte aos 21 dias, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível .....	35
<b>Tabela 6.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do fígado de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade .....	40
<b>Tabela 7.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do músculo do peito de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade .....	41
<b>Tabela 8.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do músculo da coxa de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade .....	42
<b>Tabela 9.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) da tíbia de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade .....	43

### Capítulo III

<b>Tabela 1.</b> Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase crescimento (22-35 dias de idade) .....	61
<b>Tabela 2.</b> Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase final (36-56 dias de idade) .....	62
<b>Tabela 3.</b> Sinal isotópico das rações de crescimento e final expressos em $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao padrão <i>Pee Dee Belemnte</i> (PDB) e seu respectivo desvio-padrão .....	64
<b>Tabela 4.</b> Desempenho de frangos de corte, de 22 a 35 dias e de 35 a 42 dias de idade, recebendo dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível .....	69

<b>Tabela 5.</b> Médias de pesos absolutos (g) e rendimentos (%) de carcaça, peito, coxa, sobrecoxa, gordura abdominal e fígado de frangos de corte aos 42 dias, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível .....	70
<b>Tabela 6.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do fígado de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade .....	73
<b>Tabela 7.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do músculo do peito de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade .....	74
<b>Tabela 8.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) do músculo da coxa de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade .....	75
<b>Tabela 9.</b> Equações resultantes da análise de $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de <i>turnover</i> (k), taxa de crescimento (C), taxa metabólica (M) e suas respectivas participações na taxa de <i>turnover</i> (%) da tíbia de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade .....	76

# CAPÍTULO I

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### Introdução

Atualmente, a produção nacional de frangos de corte possui grande notabilidade perante a produção mundial. Recentemente, o Brasil vem se destacando como o segundo produtor e o maior exportador de carne de frango. Em 2015, a produção foi estimada em 13,14 milhões de toneladas, com a exportação de 4,304 milhões de toneladas. O mercado interno também é bastante significativo, pois o consumo per capita em 2015 foi ao redor de 43,25 kg/hab., absorvendo assim, cerca de 67,3% da carne de frango produzida (ABPA, 2016).

Considerando a grande importância da produção de frangos de corte para a economia nacional, há um constante cuidado dos produtores em ajustar os níveis nutricionais das dietas fornecidas para os animais, objetivando o alcance do máximo desempenho.

As exigências nutricionais em aminoácidos para frangos de corte sofrem influência de diversos fatores, dentre eles, linhagem, idade da ave, temperatura ambiente, sexo, nível de energia e presença de fibra na dieta (CAMPESTRINI *et al.* 2010). Ao formular dietas para frangos de corte, preconiza-se atender as exigências em aminoácidos com o objetivo de promover melhor rendimento de carcaça, principalmente de peito, que apresenta maior valor comercial.

A lisina é utilizada para síntese e deposição de tecido muscular (TESSERAUD *et al.*, 1996). Tendo o conhecimento da influência da lisina no desempenho de frangos de corte, sugere-se seu estudo através da metodologia de isótopos estáveis por meio da análise do *turnover* tecidual. Dessa forma, poderão ser adquiridas informações a respeito de crescimento e metabolismo em decorrência do consumo deste aminoácido.

Recentemente, tem-se empregado a metodologia dos isótopos estáveis como marcadores nas dietas das aves, tanto em estudos que envolvem a rastreabilidade da inclusão de ingredientes de origem animal nas dietas fornecidas aos animais, como em ensaios de *turnover* tecidual (PELÍCIA *et al.*, 2011; PIMENTA *et al.*, 2014). O emprego de dietas com valores isotópicos distintos tem proporcionado estudos de *turnover* tecidual por meio da análise da variação natural do  $^{13}\text{C}$ , dessa forma, torna-se desnecessário o uso de compostos marcados ou radioativos.

## Revisão de literatura

### 1. Aplicação da metodologia dos isótopos estáveis na avicultura

Os isótopos estáveis são elementos químicos que não emitem radiação e ocupam a mesma posição na tabela periódica. Os diferentes números de nêutrons e, conseqüente número de massa, é o que caracteriza os diversos isótopos do mesmo elemento. Essa diferença é o que permite quantificar os isótopos de um determinado elemento, através da espectrometria de massas de razão isotópicas (CLARK; FRITZ, 1997).

Os elementos mais encontrados em estudos relacionados à avicultura são o carbono e o nitrogênio. O carbono possui um elemento leve dominante, carbono-12 ( $^{12}\text{C}$ ) e um isótopo pesado, o carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), com abundância natural de 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente. Em relação ao nitrogênio, o elemento leve é o nitrogênio-14 ( $^{14}\text{N}$ ) e o elemento pesado, nitrogênio-15 ( $^{15}\text{N}$ ), com as respectivas abundâncias naturais de 99,63 e de 0,37 átomos % (CRISS, 1999).

Os isótopos estáveis naturais têm sido utilizados como indicadores dietéticos por possibilitarem a avaliação do alimento ingerido e assimilado pelo organismo. Isto é possível, devido à diferenciação dos isótopos ocorrerem somente no núcleo, sendo a eletrosfera comum a todos, dessa forma, os isótopos mascaram os processos seletivos das membranas biológicas, apresentando então, a mesma probabilidade de entrar em um meio biológico (DUCATTI, 2004). Apesar de cada tecido do animal apresentar assinatura isotópica, fator de fracionamento, taxa de troca isotópica e *turnover* distintos, o animal é aquilo que consome isotopicamente  $\pm 2,0\%$  para  $^{13}\text{C}$  e  $\pm 3,0\%$  para  $^{15}\text{N}$  (HOBSON; CLARK, 1992a; 1992b).

Nos últimos anos, diversos estudos foram realizados objetivando a rastreabilidade da inclusão de farinhas de origem animal nas dietas fornecidas as aves através da análise em conjunto de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  (ARAUJO et al., 2012; CRUZ et al., 2012). Também foram conduzidos ensaios para mensuração do *turnover* tecidual dos animais, por meio do emprego de dietas com valores isotópicos distintos, no caso, plantas do ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  (CRUZ et al., 2005; DENADAI et al., 2006), ou também com a utilização de compostos marcados, como a L-[ $^{13}\text{C}_1$ ]metionina (STRADIOTTI, 2013).

### **1.1. Frangos de corte**

A aplicação da metodologia dos isótopos estáveis em ensaios com frangos de corte permitiu o estudo da contribuição de ingredientes proteicos e energéticos, utilizados na alimentação das aves, na formação do músculo do peito e fígado (CRUZ et al., 2004), *turnover* dos tecidos conforme a dieta recebida (CRUZ et al., 2005; RHODES et al., 2010) e o *turnover* de mucosa intestinal em aves desafiadas por coccidiose (PELÍCIA et al., 2011).

Estudaram-se a rastreabilidade de ingredientes de origem animal, como farinha de carne e ossos bovinas e farinha de vísceras, nas dietas fornecidas as aves (CARRIJO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2010; ARAUJO et al., 2011; CRUZ et al., 2012). Também foi analisada a rastreabilidade de ingredientes de origem animal, juntamente com a inclusão de ingredientes alternativos, como levedura de cana e farelo de trigo (GOTTMANN et al., 2008).

### **1.2. Aves de postura**

Os estudos com aves de postura envolveram análise do *turnover* de fígado, ovos e sangue, em aves alimentadas com dietas à base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub> (CARRIJO et al., 2000; DENADAI et al., 2006).

Através da análise em conjunto de <sup>13</sup>C e <sup>15</sup>N em ovos, estudou-se a rastreabilidade de ingredientes de origem animal nas dietas das aves, como farinha de carne e ossos bovinas, farinha de vísceras de aves e farinha de penas (CARRIJO et al., 2000; DENADAI et al., 2008). A influência de ingredientes, como farelo de trigo, farelo de algodão, quirera de arroz, glúten, levedura de cana de açúcar e levedura de cerveja, na análise da rastreabilidade de ingredientes de origem animal nas rações, também foi estudada (DENADAI et al., 2009; MADEIRA et al., 2015).

### **1.3. Codornas**

Os estudos com codornas, tanto de corte quanto de postura, analisaram a rastreabilidade de ingredientes de origem animal (farinha de carne e ossos bovinas, farinha de vísceras de aves e farinha de penas) na alimentação das aves (MÓRI et al., 2007; MÓRI et al., 2008, SENARGIOTTO et al., 2013; PIMENTA et al., 2015).

## 2. *Turnover proteico*

Foram conduzidos diversos estudos para a mensuração de *turnover* proteico dos tecidos animais, a qual se refere à renovação proteica corporal sendo composta, por processos de síntese e degradação (JONES; ABERLE; JUDGE, 1986). Estes ensaios foram realizados tanto para dimensionar a influência dos nutrientes provenientes das dietas quanto para avaliar o efeito de causas externas, como por exemplo, temperatura ambiente (TESSERAUD et al., 2011).

Um dos trabalhos pioneiros nessa área foi conduzido por Schoenheimer (1942). Este autor observou que o nitrogênio proveniente da dieta incorpora prontamente nos tecidos corporais tornando-se indistinguível das substâncias similares já presentes, dessa forma, demonstrou que o metabolismo de proteínas é dinâmico e contínuo.

As proteínas dos músculos esqueléticos, como toda proteína do corpo, estão em estado dinâmico, sendo sintetizadas e degradadas constantemente. É observado acréscimo de proteína quando o total de síntese excede o total de sua degradação. Fatores como idade, estado nutricional, efeito hormonal, seleção genética para ganho de massa muscular e taxa de crescimento, influenciam diretamente a taxa de *turnover* proteico (JONES; ABERLE; JUDGE, 1986). Para os frangos de corte, tem-se estudado o *turnover* do músculo *pectoralis major*, pois é um músculo de alto valor comercial, melhorado geneticamente para aumento da deposição de proteína, além de ser a principal fonte de aminoácidos quando a ave encontra-se em quadro de deficiência nutricional (TESSERAUD et al., 2011).

Muramatsu; Okumura (1985) ao administrarem solução de L-[4-<sup>3</sup>H] fenilalanina (1mL/100g de peso corporal) para análise do *turnover* de proteínas corporais em frangos de corte e em diferentes idades, observaram que conforme as aves ficam mais velhas há aumento da taxa fracional de degradação.

Tesseraud et al. (2001) estudaram o *turnover* do músculo peitoral de frangos de corte alimentados com dieta contendo 0,75 ou 1,01% de lisina total, através da infusão de 2,03MBq/100g de peso corporal de L-[4-<sup>3</sup>H] fenilalanina, entre 19 e 21 dias de idade. Os autores observaram que o menor nível de lisina proporcionou aumento da taxa fracional de síntese e da taxa fracional de quebra. A redução da deposição de proteína foi decorrente da taxa fracional de quebra mensurada, ser o dobro que a taxa fracional de síntese.

Pym et al. (2004) analisaram níveis de proteína bruta (12 e 22%) na dieta em frangos de corte, de 21 a 29 dias de idade, e seus efeitos no *turnover* da carcaça utilizando a metodologia da Nt-metil-histidina. Os autores verificaram que as aves que tiveram acesso à dieta com alto teor de proteína bruta tiveram aumento na taxa fracional de deposição de proteína e que as dietas com baixa proteína proporcionaram elevação na taxa que quebra proteica. Houve afirmação de que a redução do *turnover* proteico em animais que receberam dietas com baixa proteína é em decorrência da necessidade da conservação de energia.

Urdaneta-Rincon; Lesson (2004) avaliaram o *turnover* do músculo do peito de frangos de corte aos 21 dias de idade ao fornecerem dietas com diferentes inclusões de proteína bruta (17, 21, 25 e 29%) e de lisina total (0,86; 1,22; 1,34 e 1,29%). A análise do *turnover* foi feito pela infusão intravenosa de 1mL/100g de peso corporal de L-[anel-<sup>2</sup>H<sub>5</sub>]fenilalanina. Os autores verificaram que dieta contendo 21,0% de PB e 1,22% de lisina total proporcionou maior taxa fracional e absoluta de síntese proteica, maior taxa absoluta de crescimento e maior taxa fracional de quebra. Os autores também constataram que a deposição de proteína no músculo do peito atingiu o platô de crescimento, quando a ração continha 1,22% de lisina, independentemente do nível de proteína bruta presente.

Dessa forma fica evidente que o *turnover* de proteína corporal é influenciado diretamente pelos nutrientes disponibilizados através das dietas fornecidas as aves, podendo alterar tanto a taxa anabólica quanto a catabólica (TESSERAUD et al., 2011).

Recentemente, tem-se empregado a metodologia dos isótopos estáveis em estudos de *turnover* tecidual (DENADAI et al., 2006; PELÍCIA et al., 2011; PIMENTA et al., 2015). Para isso, é utilizada a análise da abundância natural dos compostos ou até mesmo a administração de compostos marcados com um ou mais isótopos estáveis. A utilização da técnica dos isótopos estáveis implica em não administrar traçadores radioativos, como presente na maioria dos trabalhos existentes nessa área, contribuindo dessa forma, para a segurança de todo estudo.

### 3. Lisina

A classificação dos aminoácidos se dá conforme a propriedade do grupo radical (R). A lisina é classificada como grupo R carregado positivamente, aminoácido básico e com capacidade de receber prótons. É um aminoácido exclusivamente cetogênico, pois nenhum dos grupos amino sofre transaminação como primeira etapa do seu catabolismo, sendo convertida diretamente em acetoacetil Co-A sem a formação intermediária de piruvato (LEHNINGER et al., 2002; CHAMP; HARVEY; FERRIER, 2009)

A lisina é utilizada, quase que exclusivamente, para síntese de proteína e deposição de tecido muscular (PACK, 1995). Como as aves não possuem vias metabólicas para sua síntese, devido a este fato, a exigência do animal deve ser suprida por meio do seu fornecimento nas rações (HAESE et al., 2012).

O aminoácido lisina está envolvido na síntese de citocinas e proliferação de linfócitos, sendo fundamental para o ótimo funcionamento do sistema imune em resposta a infecção. O fornecimento inadequado de lisina reduz a resposta de anticorpos e da imunidade mediada por células (NARS; KHEIRI, 2012).

A lisina participa diretamente com da atividade da enzima E3 (ubiquitina-ligase) e influencia a expressão gênica da atrogina-1, ambas participantes da via proteolítica ubiquitina-proteossomo (TESSEARUD et al., 2011). Esta via promove a degradação seletiva de proteínas, e a função da lisina é ativar a enzima E3. A ubiquitina sinaliza a proteína que deverá ser degradada e o proteossomo realiza a sua fragmentação em aminoácidos, entretanto essa degradação requer trifosfato de adenosina (ATP), ou seja, necessita de energia (CHAMP; HARVEY; FERRIER, 2009; LEHNINGER et al., 2002). A expressão gênica da atrogina-1 atua em tecido muscular lesionado, evitando a sua atrofia e proliferação de tecido conjuntivo (TESSEARUD et al., 2011).

Também atua na regulação da proteína miostatina, que é responsável pelo crescimento proteico. A deficiência de lisina ocasiona aumento na abundância do mRNA da miostatina no músculo do peito de frangos de corte, limitando o crescimento muscular com consequente diminuição do seu tamanho e peso (YANG et al., 2008).

### **3.1. Lisina: produção, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte**

A principal referência nacional de exigências nutricionais para aves, Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011), estimaram a exigência de lisina com base em ensaios de dose e resposta com aves de diferentes idades. Para determinação das exigências dos demais aminoácidos, considerou-se o conceito de proteína ideal, mantendo a relação aminoácido/lisina. O método de dose e resposta consiste na suplementação do aminoácido em questão em diferentes níveis e em contrapartida há mudança no balanço dos demais aminoácidos devido ao aumento sucessivo do aminoácido a ser estudado, o que poderia afetar a resposta do animal.

Outra forma de determinação de exigência de aminoácido seria a metodologia de diluição sequencial. Consiste em uma dieta de alta proteína e relativamente deficiente no aminoácido a ser testado, diluída com uma dieta isoenergética, livre de proteínas. Esta técnica resulta em dietas com níveis intermediários do aminoácido testado, proporcionando assim relações constantes entre aminoácidos em todos os tratamentos avaliados. A utilização dessa metodologia implica em rações com diferentes conteúdos de proteína bruta, o que poderia influenciar a resposta do animal (SIQUEIRA et al., 2013).

Considerando o delineamento adotado no estudo em questão e os objetivos a serem analisados, a revisão a respeito da influência da lisina no desempenho e rendimento de carcaça, voltou-se para o emprego da metodologia de dose e resposta, para frangos machos, considerando análise de lisina digestível.

#### **3.1.1. Desempenho e rendimento de carcaça: fases pré-inicial e inicial.**

Barbosa et al. (2002) ao avaliarem níveis de lisina e aminoácidos sulfurados, observaram para melhor ganho de peso, conversão alimentar e maior consumo de ração, as dietas deveriam conter 1,09% de lisina digestível e 0,84% de aminoácidos sulfurados. E ao estudarem composição química da carne do peito, verificaram que a dieta que continha 1,30% lisina e 1,0% de aminoácidos sulfurados proporcionou maior teor de proteína bruta.

Ao considerar o tempo entre a eclosão e alojamento de pintinhos (12, 24, 36 ou 48 horas), Franco et al. (2006) constataram que dieta contendo 1,143% de lisina digestível garantiu maior peso corporal e desenvolvimento de mucosa intestinal aos 21 e

42 dias de idade, independente do intervalo adotado. Quando avaliado rendimento de carcaça, Franco et al. (2012) não observaram interação do intervalo de alojamento e níveis de lisina em nenhum parâmetro avaliado. Não houve diferença na relação proteína: DNA das fibras musculares do peito diante dos níveis utilizados, porém foi verificado maior peso de peito desossado e rendimento de filé aos 21 e 43 dias de idade, quando a ração continha 1,143% de lisina.

Bastianelli et al. (2007) constaram que a deficiência de lisina na dieta de frangos, de um a dez dias de idade, ocasionou redução do peso corporal e do consumo de ração, piora da conversão alimentar, diminuição do trato gastrointestinal e do rendimento do peito.

Toledo et al. (2007), não observaram diferença na composição química de carcaça, em frangos alimentados com diferentes níveis de lisina, de um a onze dias de idade, porém foi observado piora no desempenho quando as aves foram alimentadas com dietas contendo excesso de lisina. Diferentemente de Namazu et al. (2008) que ao avaliarem parâmetros de desempenho para aves, de um a onze dias de idade, determinaram como nível ótimo 1,19% de inclusão na dieta. Também verificaram resposta linear favorável à retenção de nitrogênio à medida que aumentou o consumo de lisina digestível, o que caracterizou como sendo mais eficiente o uso de nitrogênio.

Goulart et al. (2008) analisaram níveis de lisina para as fases pré-inicial (um a sete dias) e inicial (oito a vinte e um dias de idade). Considerando ganho de peso e consumo de ração, foi estimado para as fases pré-inicial, respectivamente, 1,286 e 1,239% e, para a fase inicial, 1,057 e 1,035% de lisina digestível.

Campestrini et al. (2010) estudaram o efeito do nível de lisina (1,021; 1,276; 1,531; 1,786 e 2,024%) e do balanço eletrolítico (190 e 255 mEq/kg) no desempenho dos frangos, de um a vinte e um dias de idade. Considerando peso corporal e consumo de ração, os autores recomendam nível de lisina de 1,515% para dietas contendo 190 mEq/kg. Para rações com 255 mEq/kg, o melhor ganho de peso foi obtido com 1,801% de lisina. E independente do balanço eletrolítico utilizado, a conversão alimentar apresentou resposta linear decrescente com o aumento dos níveis do aminoácido utilizado.

Everet et al. (2010) ao analisarem o desempenho frangos de 14 a 28 dias, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina e treonina digestível, não

constatarem diferença significativa, sendo recomendado então, 1,12% de lisina e 0,69% de treonina digestível para esse período.

Takeara et al. (2010) ao avaliarem níveis de lisina para frangos de 12 a 22 dias de idade, através de parâmetros de desempenho e composição química de carcaça, constatarem diferença significativa apenas para o consumo de ração e teor de proteína bruta na carcaça, sendo estimado em 1,10 e 1,16% respectivamente.

Mehi et al. (2010) ao estudarem níveis de lisina, no período que compreendeu de 15 a 28 dias de idade, através de parâmetros de desempenho, estimaram nível de 0,95% considerando ganho de peso, e 1,08% de lisina digestível ao considerarem conversão alimentar.

Toledo et al. (2011) analisaram níveis de lisina para frangos criados em diferentes ambientes, considerados limpos e sujos. Observou-se aumento linear para ganho de peso e conversão alimentar nas aves criadas em aviário limpo e efeito quadrático para as criadas em local sujo. Para a fase pré-inicial, de um a onze dias, estimou-se 1,26 e 1,30% de lisina, para aves criadas em ambiente sujos e limpos, respectivamente. E para a fase inicial, de 12 a 21 dias de idade, 1,24% para os frangos em aviário limpo e 1,16% de lisina para os criados em local sujo.

Alam; Yoshizawa; Sugahara (2012) analisaram o consumo alimentar e a concentração de dopamina em frangos que tiveram acesso a dieta livre de lisina e de aves que tiveram solução de lisina administrada via intravenosa (0,07g ou 0,1g de lisina em solução) aos 16 dias de idade. As aves que consumiram a dieta livre de lisina tiveram redução no consumo, três horas após o início do ensaio e redução da dopamina, após duas horas. As aves que consumiram dieta livre de lisina, mas receberam a dose intravenosa, independente da dosagem, mantiveram a concentração de dopamina e o consumo de ração dentro da normalidade.

Em outra avaliação, realizada por esses mesmos autores (ALAM; YOSHIZAWA; SUGAHARA, 2014), utilizaram a mesma metodologia em frangos aos 21 dias de idade, e observaram que as aves que tiveram acesso à dieta livre de lisina, tiveram redução do consumo de ração após três horas de ensaio e a concentração plasmática de lisina foi reduzida, após uma hora. As aves que receberam solução de lisina intravenosa e acesso a dieta livre desse aminoácido, não apresentaram redução do consumo e a concentração plasmática também se manteve dentro da normalidade. Esses

resultados sugerem que o consumo alimentar é particularmente atribuído à concentração plasmática de lisina em frangos de corte.

Wang et al. (2014) ofereceram a frangos, dietas com diferentes níveis de lisina, no período que compreendeu de um a dezoito dias de idade. Os níveis mais baixos de lisina ocasionaram menores rendimentos de carcaças, maiores deposições de gordura abdominal, menores rendimentos de peito e maiores rendimentos de coxa. Em relação ao desempenho, considerando a conversão alimentar, os autores recomendam dietas com 1,1% para a fase inicial e 0,9% de lisina para o crescimento. Quando analisado o rendimento de peito, recomendou-se 1,2 e 1,0% de lisina digestível, para a fase inicial e crescimento, respectivamente.

### **3.1.2. Desempenho e rendimento de carcaça: fases de crescimento e final.**

Siqueira et al. (2007) ao avaliarem níveis de lisina (0,934; 1,009; 1,084 e 1,159%) e temperatura ambiente (18,5 e 27°C) para frangos de 22 a 42 dias, não observaram interação da temperatura e das dietas para as variáveis de desempenho e rendimento de carcaça estudadas. Os resultados evidenciaram que a temperatura no qual os frangos são criados não influencia a resposta a níveis de lisina. Considerando apenas a conversão alimentar, os autores recomendaram nível de 1,085% de lisina para a fase de crescimento, independente do ambiente em que as aves são criadas.

Campestini et al. (2008) não verificaram influência do balanço eletrolítico de rações contendo diferentes inclusões de lisina, para frangos machos de 22 a 40 dias de idade. Ao considerarem peso corporal, consumo de ração e conversão alimentar, estimaram como nível ótimo de lisina, respectivamente, 1,088; 1,089 e 1,138%, porém não foi constatada diferença significativa para rendimento de carcaça.

Goulart et al. (2008) avaliaram níveis de lisina para a fase de crescimento (22 a 42 dias de idade). Baseado em ganho de peso, consumo de ração, peso absoluto de peito, coxa, sobrecoxa e fígado, recomendaram-se respectivamente, 0,998; 0,987; 1,008; 0,991; 1,009 e 1,028% de lisina.

Rodrigues et al. (2008a; 2008b) ao estudarem níveis de proteína bruta e de lisina, para frangos de 22 a 42 dias de idade, através do desempenho e qualidade de carne, verificaram que rações com 17% de proteína bruta deverá conter 1,00% de lisina. Quando utilizado dieta com 19% de proteína bruta, recomendaram-se 1,34% de lisina.

Trindade Neto et al. (2009) analisaram níveis de lisina para frangos de 37 a 49 dias de idade, com base no desempenho, rendimento e composição química de carcaça. Dentre as características de desempenho, a conversão alimentar foi o único parâmetro influenciado significativamente, sendo estimada em 1,10%. Não houve diferença para rendimento de carcaça, com exceção da gordura abdominal, sendo menor para as aves alimentadas com 1,01% e, para a composição química de carcaça, estimou-se como sendo o nível ótimo, 0,988% de lisina digestível.

Viola et al. (2009) avaliaram suplementações de lisina em rações para frangos, de 19 a 40 dias de idade. Com base nos resultados obtidos de desempenho e rendimento de carcaça, os autores constataram que as aves apresentaram melhor resposta, com dieta contendo 1,22% de lisina digestível.

Everet et al. (2010) ao estudarem desempenho de frangos, de 29 a 48 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina e treonina digestível, observaram diferenças para ganho de peso, sendo recomendado, ração com 1,05% de lisina e 0,64% de treonina.

Dozier et al. (2010) estimaram níveis de lisina digestível para frangos machos, com base no desempenho e rendimento de carcaça para o período de 28 a 42 dias de idade. Considerado ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de carcaça e rendimento de peito, recomendou-se, 0,965; 1,012; 0,963 e 0,987% de lisina digestível.

Siqueira et al. (2011) estimaram nível ótimo de lisina digestível com abordagem econômica, utilizando a conversão alimentar como parâmetro. Para o período de crescimento (22 a 35 dias) foi determinado nível de 1,1%, e para a terminação (36 a 42 dias de idade) recomendou-se 0,98% de lisina digestível.

Trindade Neto et al. (2011) analisaram diferentes níveis de lisina para frangos de 23 a 36 dias de idade com base no desempenho e composição corporal. Considerando ganho de peso, peso de carcaça e relação proteína: lipídeo, foram recomendados 1,09; 1,07 e 1,10% de lisina digestível.

Os resultados obtidos na literatura demonstram grande variação na forma com que a exigência de lisina é estimada para frangos de corte. As recomendações divergem muito, considerando a idade da ave, sexo, ambiência, parâmetros de desempenho e rendimento de carcaça. Os programas de melhoramento genéticos comerciais, normalmente levam quatro anos para transferir os ganhos genéticos obtidos nas

linhagens puras para os híbridos. Considerando a rapidez com que há mudança de material genético disponível no mercado, faz com que existam estudos constantes para adequações das exigências nutricionais para frangos de corte com objetivo do alcance do máximo desempenho.

#### 4. Justificativa e objetivos

A utilização da técnica dos isótopos estáveis como marcadores nas dietas de frangos de corte, por meio do fornecimento de rações com sinais isotópicos distintos, tem possibilitado a mensuração da taxa de *turnover* tecidual dos animais. A aplicação desta ferramenta tem auxiliado na compreensão dos processos que envolvem nutrição e metabolismo. Estudos baseados na análise da variação natural do carbono-13 resultam na ausência do uso de compostos marcados, como L-[<sup>13</sup>C<sub>1</sub>] lisina:2HCl e L-[<sup>15</sup>N<sub>2</sub>] lisina:2HCl, ocasionando redução de custo na condução dos experimentos.

Sabe-se que o fornecimento de dietas com desbalanço em aminoácidos para frangos de corte ocasionam comprometimento no desempenho e no rendimento de carcaça (PACK, 1995). Pois a lisina é o aminoácido que possui grande influência no crescimento e deposição de tecido muscular nas aves (TESSERAUD et al., 2011).

Desse modo, o capítulo II, intitulado “**Turnover tecidual, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de lisina digestível de 1 a 20 dias de idade**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na **Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science**, publicada pela Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. Este estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta em estudos de exigências nutricionais em frangos de corte de 1 a 20 dias de idade alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

O capítulo III, intitulado “**Turnover tecidual, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de lisina digestível de 22 a 42 dias de idade**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na **Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science**, publicada pela Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. Este estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta

informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta em estudos de exigências nutricionais em frangos de corte de 22 a 42 dias de idade alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

### Referências bibliográficas

ALAM, M. R.; YOSHIZAWA, F.; SUGAHARA, K. Oral administration of lysine restores food intake and ventromedial hypothalamic dopamine in chicken on lysine free diet. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.53, n.5, p. 651-657, 2012.

ALAM, M. R.; YOSHIZAWA, F.; SUGAHARA, K. Voluntary food intake variation in chicks on lysine-free diet is attributed to the plasma lysine concentration. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.55, n.5, p. 605-609, 2014.

ARAUJO, P. C.; SARTORI, J. R.; CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PELICIA, V. C. Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves por isótopos estáveis em penas de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n.5, p.538-545, 2011.

Associação Brasileira de Proteína Animal, Relatório anual 2016 < disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/informes-especiais> > acesso em 26 de junho de 2016>.

BARBOSA, M. J.; JUNQUEIRA, O. M.; ANDREOTTI, M. O.; CANCHERINI, L. C. Níveis de lisina mais metionina para frangos de corte na fase inicial. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.4, p.1007-1013, 2002.

BASTIANELLI, D.; QUENTIN, M.; BOUVAREL, I.; RELANDEAU, C.; LESCOAT, P.; PICARD, M.; TESSERAUD, S. Early lysine deficiency in young broiler chicks. **Animal**, Cambridge, v.1, p.587-594, 2007.

CAMPESTRINI, E., BARBOSA, M. J. B.; NUNES, R. V.; BRUNO, L. D. G.; SILVA, W. T. M.; APPELT, M. D. Níveis de lisina com dois balanços eletrolíticos para frangos de corte na fase de crescimento (22 a 40 dias). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, n.37, n.8, p.1405-1411, 2008.

CAMPESTRINI, E., BARBOSA, M. J. B.; NUNES, R. V.; GASPARINO, E.; SILVA, W. T. M.; KHÜL, R. Níveis de lisina digestível com dois balanços eletrolíticos para pintos e corte na fase inicial, de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.39, n.1, p.151, 157, 2010.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica de isótopo estável de carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.3, p.209-218, 2000.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; TRINCA, L.; SILVA, E. T. Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, n.1, p.63-68, 2006.

CHAMP, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 528p.

CLARK, I.; FRITZ, P. **Environmental isotopes in hydrogeology**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997.328 p.

CRISS, R. E. **Principles of stable isotopes distribution**. New York: New York Oxford University Press, 1999, 254p.

CRUZ, V. C.; PEZZTO, A. C.; DUCATTI, C.; PINHEIRO, D. F.; SARTORI, J. R.; GONÇALVES, J. C. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.1376-1381, 2004.

CRUZ, V. C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A. C.; PINHEIRO, D. F.; SARTORI, J. R.; GONÇALVES, J. C.; CARRIJO, A. S. Influence of diet on assimilation and *turnover* of  $^{13}\text{C}$  in the tissue of broiler chickens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.46, n.3, p.382-389, 2005.

CRUZ, V. C.; ARAUJO, P. C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; DENADAI, J. C.; POLYCARPO, G. V.; ZANETTI, L. H.; DUCATTI, C. Poultry offal meal in chicken: traceability using the techniques of carbon (13C/12C) and nitrogen ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) stable isotope. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, p.478-486, 2012.

DENADAI, J. C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A. C.; CARRIJO, A. S.; CALDARA, F. R.; OLIVEIRA, R. P. Studies on carbon-13 *turnover* in eggs and blood of commercial layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, n.4, p.251-256, 2006.

DENADAI, J. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; MÓRI, C.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. A. O.; BORDINHON, A. M. The traceability of animal meals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.10, n.3, p.189-204, 2008.

DENADAI, J. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; MÓRI, C.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. A. O. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos em poedeiras alimentadas com ingredientes alternativos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.44, n.1, p.1-7, 2009.

DOZIER, W. A.; CORZO, A.; KIDD, M. T.; TILLMAN, P. E.; McMURTRY, J. P.; BRANTON, S. L. Digestible lysine requirements of male broilers from 28 to 42 days of age. **Poultry Science**, Champaign, v.89, p.2173-2182, 2010.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. [apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004, 184 p.

EVERET, D. L.; CORZO, A.; DOZIER, W. A.; TILLMAN, P. B.; KIDD, M. T. Lysine and threonine responses in Ross TP16 male broilers. **Journal of Applied Poultry Research**. v. 19, p. 321-326, 2010.

FRANCO, J.R.G.; MURAKAMI, A. E.; DUARTE, C. R. A.; FERNANDES, J. I. M.; GARCIA, E. R. M.; MOEIRA, I. Intervalo para alojamento e níveis de lisina em dietas baseadas no conceito de proteína ideal, sobre o desenvolvimento muscular e rendimento de carcaça em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.9, p.1655-1661, 2012.

FRANCO, J.R.G.; MURAKAMI, A. E.; NATALI, M. R. M.; GARCIA, E. R. M.; FURLAN, A. C. Influence of delayed placement and dietary lysine levels on small intestine morphometrics and performance of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, n.4, p.233-241, 2006.

GOTTMANN, R.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; MÓRI, C.; MITUO, M. O. A.; SARTORI, J. C. Rastreabilidade de subprodutos e origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1641-1647, 2008.

GOULART, C. C.; COSTA, F. G. P.; LIMA NETO, R. C. L.; SOUZA, J. G.; SILVA, J. H. V.; GIVISIEZ, P. E. N. Exigência de lisina digestível para frangos de corte machos de 1 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.37, n.5, p.876-882, 2008.

HAESE, D.; KILL, J. L.; HADDADE, I. R.; SARAIVA, A.; VITORIA, E. L.; PUPPO, D. D.; SOUZA, E. O. Exigência de lisina e planos de nutrição para frangos de corte machos mantendo as relações de metionina mais cistina e treonina na proteína ideal. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v.42, n.3, p.538-544, 2012.

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes I: *turnover* of  $^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, Washington, v.94, p.181-188, 1992a.

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, Washington, Los Angeles, v.94, p.189-197, 1992b

JONES, S. J.; ABERLE, E. D.; JUDGE, M. D. Skeletal muscle protein *turnover* in broiler and layer chicks. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, p.1576-1583, 1986.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 975p., 2002.

MADEIRA, L. A.; DENADAI, J. C.; DUCATI, C.; PEZZATO, A. C.; ARAUJO, P. C.; SARTORI, M. M. P.; PIZZOLANTE, C. C.; SARTORI, J. R. Assessment of low amounts of meat and bone meal in the diet of laying hens by using stable isotope. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.2, p.1155-1168, 2015.

MEHI, M.; NASSIRI-MOGH ADDAM, M.; KERMANSHAHI, H.; DANESH-MESGARAN, M. Digestible lysine requirements of straight run broiler chickens from fifteen to twenty-eight days of age. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.9, n.17, p.2321-2324, 2010.

MÓRI, C.; GARCIA, E. A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; PELICIA, K.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. O. A.; BORDINHON, A. M. Traceability of animal by product in quail (*Coturnix coturnix japonica*) tissues using carbon ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) and nitrogen ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) stable isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, n.4, p.263-269, 2007.

MÓRI, C.; GARCIA, E. A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. O. A. Poultry offal meal traceability in meat quail tissues using technique of stable carbon ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) and nitrogen ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.10, n.1, p.54-52, 2008.

MURAMATSU, T.; OKUMUR, J. I. Whole-body protein *turnover* in chicks at early stages of growth. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.115, p.483-490, 1985.

NAMAZU, L. B.; KOBASHIGAWA, E.; ALBUQUERQUER, R.; SCHAMMASS, E. A.; TAKEARA, P.; TRINDADE-NETO, M. A. Lisina digestível e zinco quelato para frangos de corte machos: desempenho e retenção de nitrogênio na fase pré-inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.37, n.9, 1634-1640, 2008.

NARS, J.; KHEIRI, F. Effects of lysine levels of diets formulated based on total or digestible amino acids on broiler carcass composition. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.14, n.4, p.233-240, 2012.

OLIVEIRA, R. P.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A. C.; DENADAI, J. C.; CRUZ, V. C.; SARTORI, J. R.; CARRIJO, A. S.; CALDARA, F. R. Traceability of poultry offal meal in broiler feeding using isotopic analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) of different tissues. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.12, n.1, p.13-20, 2010.

PACK, M. Proteína ideal para frangos de corte: conceitos e posição atual. In: **Conferência apinco de ciências e tecnologia avícolas**, 1995, Curitiba. **Anais...** Curitiba: APINCO, 1995. p. 95-110.

PELÍCIA, V. C.; ZAVARIZE, K. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PEZZATO, A. C.; ARAUJO, P. C.; MITUO, M. A. O.; MADEIRA, L. A.; SARTORI, J. R. Nucleotídeos nas dietas de frangos de corte e seus efeitos sobre a taxa de *turnover* da mucosa intestinal, antes e após lesões causadas por coccidiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.9, p.1652-1659, 2011.

PIMENTA, G. E. M.; DENADAI, J. C.; SARTORI, M. M. P.; PEZZATO, A. C.; SARTORI, J. R.; GARCIA, E. A.; ISHIZUKA, A. N. D.; FASANARO, R.; PASQUALI, G. A. M.; SILVA, E. T.; DUCATTI, C. *Turnover* de carbono em sangue e plasma nas fases de crescimento e postura, de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.66, n.6, p.1847-1854, 2014.

PYM, R. A. E.; LECLERQ, B.; TOMAS, F. M.; TESSERAUD, S. Protein *turnover* utilization and *turnover* in lines chickens selected for different aspects of body composition. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.45, n.6, p.775-786, 2004.

RHODES, C. N.; LOFTHOUSE, I. H.; HIRD, S.; ROSE, P.; REECE, P.; CHRISTY, J.; MacARTHUR, R.; BRERETON, P. A. The use of stable carbon isotope to authenticate claims that poultry able been corn-fed. **Food Chemistry**, v.118, p. 927-932, 2010.

RODRIGUES, K. F.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; FIALHO, E. T.; BETERCHINI, A. G.; NAGATA, A. K. Desempenho e rendimento de cachaça de frangos de corte no período de 22 a 42 dias de idade alimentados com dietas contendo diferentes relações de lisina digestível e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.37, n.4, p.645-652, 2008a.

RODRIGUES, K. F.; RODRIGUES, P. B.; BRESSAN, M. C.; NAGATA, A. K.; SILVA, J. H. V.; SILVA, E. T. Qualidade de carne de peito de frangos de corte

recebendo rações com diferentes relações de lisina digestível. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.37, n.6, p.1023-1028, 2008b.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3 ed. Viçosa, UFV, p.252, 2011.

SCHOENHEIMER, R. **The dynamic state of body constituents**. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1942.

SENARGIOTTO, E. R.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; STRADIOTTI, A. C.; MARUNO, M. K.; ARAUJO, P. C.; CARVALHO, F. B.; PEZZATO, A. C. The use of carbon and nitrogen stable isotope for detection of poultry offal meal in meat type quail feeds. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.15, n.1, p.65-70, 2013.

SIQUEIRA, J. C.; OLIVEIRA, R. M. F.; DONZELE, J. L.; CECON, P. R.; BALBINO, E. M.; OLIVEIRA, W. P. Níveis de lisina digestível da ração em temperatura ambiente para frangos de corte em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.36, n.6, p.2954-2062, 2007.

SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K.; DORINGAM, J.C.P.; MENDONÇA, G. G.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; DOURADO, L. R. B. NASCIMENTO, D. C. N. Níveis de lisina em rações para frangos de corte estimados com base em abordagem econômica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.40, n.10, p.2178-2185, 2011.

SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; EZEQUIEL, J. M. B.; BARBOSA, N. A. A.; FERNANDES, J. B. K. Diet formulation techniques and lysine requirements of 1 to 22 days old broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.15, n2, p.123-134, 2013.

STRADIOTTI, A. C. Técnica dos isótopos estáveis na incorporação de  $^{13}\text{C}$  proveniente da L-metionina nos tecidos de frangos de corte em fases de crescimento. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p.95, 2013.

TAKEARA, P.; TOLEDO, A. L.; GANDRA, F. R. S.; ALBUQUERQUE, R. Lisina digestível para frangos de corte machos entre 12 e 22 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.6; p.1455-1451, 2010.

TESSERAUD, S.; PERESSON, R.; LOPES, J.; CHAGNEAU, A. M. Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein turnover in growing chickens. **British Journal of Nutrition**, London, v.75, p.853-865, 1996.

TESSERAUD, S.; TEMIN, S.; LE BIHAN-DUVAL, E.; CHAGNEAU, A. M. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of Pectoralis major muscle protein turnover in broiler selected on breast development. **Journal of Animal Science**, Champaign, n.79, p.927-933, 2001.

TESSERAUD, S.; EVERAERT, N.; BOUSSAID-OM EZZINE, S.; COLLIN, A.; MÉTAYER-COUSTARD, S.; BERRI, C. Manipulating tissue metabolism by amino acids. **World's Poultry Science Journal**, Champaing, vol.67, n.2, p.243-251, 2011.

TOLEDO, A. L.; TAKEARA, P.; BITTENCOURT, L. C.; KOBASHIGAWA, E.; ALBUQUERQUE, R.; TRINDADE NETO, M. A. Níveis dietéticos de lisina digestível para frangos e corte machos no período de 1 a 11 dias de idade: desempenho e composição corporal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.36, n.4, p.1090-1096, 2007.

TOLEDO, R. S.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DIONIZIO, M. A.; CARVALHO, D. C. O.; NOGUEIRA, E. T. Lysine nutritional requirements of broiler reared in clean and dirty environments during the pre-starter phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.40, n.10, p.2205-2210, 2011.

TRINDADE NETO, M. A.; TAKEARA, P.; TOLEDO, A. L.; KOBASHIGAWA, E.; ALBUQUERQUE, R.; ARAUJO, L. F. Níveis de lisina digestível para frangos de corte machos no período de 37 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.38, n.3, p.508-514, 2009.

TRINDADE NETO, M. A.; TOLEDO, A. L.; TAKEARA, P.; KOBASHIGAWA, E.; DONATO, D. C. Z.; ALBUQUERQUE, R. Dietary levels of lysine for male broilers from 23-36 days of age: performance and body composition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.40, n.3, p 609-615, 2011.

URDANETA-RINCON, M.; LESSON, S. Muscle (*Pectoralis major*) protein turnover in young broiler chickens fed graded levels of lysine and crude protein. **Poultry Science**, Champaing, v.83, p.1897-1903, 2004.

VIOLA, T. H.; LESSLER, A.M.; RIBEIRO, A. M. L.; VIOLA, E. S.; TREVIZAN, L.; GONÇALVES, T. A. Desempenho e frações corporais, na suplementação crescente de lisina, dos 19 aos 40 dias de idade em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2; p.515-521, 2009.

WANG, H.; ZHANG, C.; MI, Y.; KIDD, M. T. Copper and lysine amino acid density responses in commercial broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.23, p.470-477, 2014.

YANG, Y. X.; GUO, J.; JIN, S.; YOON, S. Y.; CHOI, J. Y.; PIAO, X. S.; WANG, M. H.; OHH, S. J.; KIM, B. W.; CHAR, B. J. Effect of metabolizable energy and lysine restrictions on growth performance, blood profiles, and expression of myostatin and leptin genes in broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, p.71-83, 2008.

# CAPÍTULO II

**TURNOVER TECIDUAL, DESEMPENHO E RENDIMENTO DE CARÇAÇA  
EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE  
LISINA DIGESTÍVEL DE 1 A 20 DIAS DE IDADE**

**Resumo.** Este estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta de em estudos de exigências nutricionais em frangos de corte, de 1 a 20 dias de idade, alimentados com diferentes níveis de lisina digestível. Foi realizado um ensaio experimental aplicando-se a metodologia de dose e resposta outro com a de diluição isotópica. Os ensaios foram em delineamento inteiramente casualizado e em ambos, foram utilizadas dietas experimentais seguindo as recomendações propostas por Rostagno *et al.* (2011) exceto em lisina digestível. As dietas foram balanceadas a base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e consistiram em: 100Lys (1,17% de lisina, seguindo a recomendação de Rostagno *et al.* (2011)); 85Lys (1,01% de lisina); 90Lys (1,06% de lisina); 95Lys (1,11% de lisina); 105Lys (1,23% de lisina); 110Lys (1,29% de lisina) e 115Lys (1,35% de lisina digestível). No ensaio com aplicação da técnica de dose-resposta avaliou-se desempenho e rendimento de carcaça e no ensaio que foi utilizado técnica dos isótopos estáveis, foi avaliado o *turnover* de <sup>13</sup>C do fígado, tíbia, músculo do peito e da coxa. Para desempenho foi observado diferença significativa para consumo de ração (P<0,013), com maior consumo para os frangos do tratamento 100Lys e menor para 95Lys. As aves do tratamento 105Lys (P<0,007) foi o que apresentou maior rendimento de carcaça, porém quando avaliado em termos de peso absoluto, observou-se maior peso para carcaça (P<0,001), peito (P<0,001) e coxa (P<0,027) para o tratamento 115Lys e, maior peso de coxa (P<0,001) para o tratamento 105Lys. Para diluição isotópica pôde-se observar que o nível de lisina presente na dieta influencia diretamente as taxas de *turnover*, de crescimento e metabólica. As aves do tratamento 85Lys foram as que apresentaram maiores valores de meia vida e troca total, quando avaliadas as taxas de *turnover* e metabólica. Já quando os níveis de lisina administrados eram acima ou os conforme recomendados por Rostagno *et al.* (2011), verificou-se reduções das taxas de *turnover* e metabólica. Baseado nos resultados de rendimento de carcaça e de *turnover*, observou-se que o tratamento 100Lys foi o mais adequado para frango de corte na fase inicial.

**Palavras-chave:** aminoácido limitante; carbono-13; isótopos estáveis; metabolismo.

**TISSUE *TURNOVER*, PERFORMANCE AND CARCASS YIELD OF BROILER CHICKENS FED TO DIFFERENT LEVELS OF DIGESTIBLE LYSINE FROM 1 TO 20 DAYS OF AGE**

**Abstract.** This study aims to evaluate and validate the methodology of stable isotopes and adds additional information to those obtained with conventional methodology dose and response in studies of nutrient requirements of broilers from 1 to 20 days of age fed with different levels of lysine digestible. We conducted a trial test using the dose response methodology and another with the isotopic dilution. The tests were completely randomized design and in both the diets followed the recommendations proposed by Rostagno *et al.* (2011) except lysine. Diets were formulated based on the plants photosynthetic cycle C<sub>3</sub> and consisted of: 100Lys (1.17% lysine, according to the recommendation of Rostagno *et al.* (2011)); 85Lys (1.01% lysine); 90Lys (1.06% lysine); 95Lys (1.11% lysine); 105Lys (1.23% lysine); 110Lys (1.29% lysine) and 115Lys (1.35% digestible lysine). In the assay with dose-response technique, performance and carcass yield were evaluated and the assay technique of stable isotopes was evaluated carbon-13 *turnover* in the liver, tibia, breast and thigh muscle. Performance analysis showed a significant difference only for feed intake (P<0,013), with higher consumption for 100Lys treatment and lower for 95Lys. The 105Lys treatment showed the highest carcass yield (P<0,007), but when measured in terms of absolute weight, there was a heavier weight for carcass (P<0,001), breast (P<0,001) and thigh (P<0,027) for 115Lys treatment and, the heavier weight for drumstick (P<0,001) for 105Lys treatment. In isotope dilution assay, it was observed that the level of lysine in the diet directly influences *turnover* rates, growth and metabolic. The 85Lys treatment showed the lowest values of half-life and full exchange when evaluated the rates of *turnover* and metabolic. But when the lysine levels were administered were above or as recommended by Rostagno *et al.* (2011), there are reductions in the rates and metabolic *turnover*. Based on the results of carcass yield and *turnover*, it was observed that the treatment 100Lys was suitable for broilers in the initial stage.

**Keywords:** carbon-13; limiting amino acid; metabolism; stable isotopes.

## INTRODUÇÃO

Na produção de frangos de corte a alimentação representa a maior parte dos custos, sendo de grande importância disponibilizar dietas que atendam às exigências nutricionais, garantindo eficiência alimentar e desempenho adequado. A utilização de dietas balanceadas otimiza a produção de frangos de corte, promovendo maior rendimento de carcaça e menor conversão alimentar com consequente aumento do retorno financeiro (Coneglian *et al.*, 2010).

Dietas deficientes em lisina comprometem o desempenho e reduzem o rendimento de carcaça, pois este aminoácido está envolvido diretamente com o crescimento dos frangos de corte e com deposição de tecido muscular esquelético (Tesseraud *et al.*, 1996, 2011). A lisina é um aminoácido essencial para as aves, pelo fato de não possuírem a habilidade de sintetizá-lo em quantidade e em velocidade suficiente para suprir sua exigência, devendo ser obtida por meio da alimentação. Como a ração fornecida aos frangos, à base de milho e farelo de soja, possui baixo teor em lisina, este aminoácido deve ser suplementado na forma sintética para suprir a exigência neste aminoácido (Rostagno *et al.*, 2011).

A exigência de lisina tem sido estudada extensivamente em diferentes condições (ambiência, idade, sexo e genética das aves). A principal forma de avaliação deste aminoácido tem sido baseada em parâmetros de desempenho e rendimento de carcaça. A aplicação da metodologia dos isótopos estáveis em estudos envolvendo níveis de lisina digestível, através da análise de *turnover* tecidual, poderá fornecer informações a respeito do crescimento e metabolismo dos tecidos, complementando os resultados obtidos com as análises convencionais de dose e resposta.

A metodologia dos isótopos estáveis tem sido utilizada em estudos envolvendo frangos de corte, por permitir a detecção das dietas fornecidas aos animais através da análise dos tecidos corporais. Esta ferramenta vem sendo empregada com sucesso na rastreabilidade da inclusão de farinha de origem animal na alimentação das aves (Araujo *et al.*, 2011; Pimenta *et al.*, 2014) e em estudos envolvendo *turnover* isotópico nos constituintes corporais (Pelícia *et al.*, 2011).

Este estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta em estudos de exigências nutricionais em frangos de corte, de 1 a 20 dias de idade, alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados dois ensaios, onde um estudo consistiu na aplicação da metodologia de dose e resposta e o outro na metodologia de diluição isotópica, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Nutrição de Aves. Os procedimentos envolvidos na condução dos estudos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FMVZ, processo nº. 39/2014-CEUA.

O delineamento experimental adotado em ambos os ensaios foi inteiramente casualizado. As dietas experimentais seguiram as recomendações propostas por Rostagno *et al.* (2011), para frangos de corte de desempenho médio nas fases pré-inicial (um a sete dias de idade) e inicial (oito a vinte dias de idade), exceto em lisina digestível (Tabelas 1 e 2). As dietas consistiram em: 100Lys (ração contendo 1,17% de lisina, seguindo a sugestão de Rostagno *et al.* (2011)); 85Lys (ração contendo 1,01% de lisina); 90Lys (ração contendo 1,06% de lisina); 95Lys (ração contendo 1,11% de lisina); 105Lys (ração contendo 1,23% de lisina); 110Lys (ração contendo 1,29% de lisina) e 115Lys (ração contendo 1,35% de lisina digestível). As rações foram formuladas com base nas plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> (quirera de arroz e farelo de soja).

### ***Dose e resposta***

Foi utilizada técnica de dose e resposta com objetivo de avaliar as exigências de lisina em frangos de corte na fase inicial (um a vinte dias de idade) analisando o desempenho e rendimento de carcaça.

Foram utilizados 875 pintainhos de corte machos de um dia de idade da linhagem *Cobb*, com peso médio de 45,45g ± 0,7g e vacinados no incubatório contra doença de *Marek e Gumboro*.

As aves foram alojadas em aviário experimental, em 35 boxes de 2m<sup>2</sup>, munidos de bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular, aos quais tiveram altura ajustada, conforme o crescimento das aves. Os boxes possuíam cama composta por maravalha com 15 cm de espessura e lâmpadas de infravermelho para aquecimento das aves, nos primeiros dias de vida. Foi adotado programa de luz constante por todo período experimental, monitorado por dispositivo eletrônico, o qual manteve a temperatura e ventilação adequada para proporcionar conforto térmico às aves em cada fase de criação.

**Tabela 1.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase pré-inicial (1-7 dias de idade).

Ingredientes	Tratamentos <sup>1</sup>						
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys
Arroz, Quirera	61,48	61,50	61,50	61,53	61,52	61,55	61,56
Farelo de Soja, 45%	24,93	24,80	24,68	24,50	24,35	24,17	24,00
Vísceras, farinha	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Soja, óleo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato Bicálcico	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Calcário Calcítico	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
DL-Metionina (99%)	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
L-Lisina HCl (78,4%)	0,02	0,08	0,15	0,20	0,32	0,40	0,48
L-Treonina (98,5%)	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal Comum	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
Caulin	1,30	1,35	1,39	1,48	1,52	1,59	1,67
Premix Vit. e Min. <sup>(2)</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
<b>Composição nutricional calculada</b>							
EM (kcal/kg)	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950
PB (%)	21,50	21,50	21,50	21,50	21,50	21,50	21,50
Cálcio (%)	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
Fósforo disponível (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina dig. (%)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Metionina+cistina dig. (%)	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Lisina dig. (%)	1,01	1,06	1,11	1,17	1,23	1,29	1,35
Treonina dig. (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Potássio (%)	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Sódio (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Cloro (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

<sup>2</sup> Premix vitamínico e mineral para frangos de corte, níveis de garantia por kg de ração: Vitamina A – 8.000 UI; Vitamina B1 – 2,2 mg; Vitamina B2 – 5,4 mg; Vitamina B12 – 12 µg; Vitamina B6 – 3 mg; Vitamina D3 – 2.300 UI; Vitamina E – 12 UI; Vitamina K3 – 1,8 mg; Colina – 0,19 g; Niacina – 35 mg; Ácido Fólico – 0,9 mg; Ácido Pantotênico – 13 mg; Cobre – 0,1 g; Ferro – 0,050 g; Iodo – 1,2 mg; Manganês – 0,08 g; Selênio – 0,2 mg; Zinco – 0,06 g; B.H.T. – 0,1g; Clorohidroxiquinolina – 30 mg; Maduromicina – 3,57 mg; Nicarbazina – 0,04 g.

**Tabela 2.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase inicial (8 - 20 dias de idade).

Ingredientes	Tratamentos <sup>1</sup>						
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys
Arroz, Quirera	65,05	65,05	65,05	65,06	65,08	65,10	65,11
Farelo de Soja, 45%	22,07	21,96	21,80	21,65	21,47	21,31	21,15
Vísceras, farinha	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Soja, óleo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato Bicálcico	1,20	1,20	1,22	1,21	1,21	1,23	1,23
Calcário Calcítico	0,27	0,27	0,26	0,27	0,27	0,27	0,26
DL-Metionina (99%)	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,33	0,33
L-Lisina HCl (78,4%)	0,10	0,17	0,24	0,32	0,40	0,48	0,56
L-Treonina (98,5%)	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15
Sal Comum	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Caulin	1,04	1,08	1,16	1,22	1,29	1,32	1,40
Premix Vit. e Min. <sup>(2)</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
<b>Composição nutricional calculada</b>							
EM (kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
PB (%)	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Cálcio (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível (%)	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Metionina dig. (%)	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
Metionina+cistina dig. (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Lisina dig. (%)	1,01	1,06	1,11	1,17	1,23	1,29	1,35
Treonina dig. (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Potássio (%)	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
Sódio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloro (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

<sup>2</sup> Premix vitamínico e mineral para frangos de corte, níveis de garantia por kg de ração: Vitamina A – 8.000 UI; Vitamina B1 – 2,2 mg; Vitamina B2 -5,4 mg; Vitamina B12 – 12 µg; Vitamina B6 – 3 mg; Vitamina D3 – 2.300 UI; Vitamina E – 12 UI; Vitamina K3 – 1,8 mg; Colina – 0,19 g; Niacina – 35 mg; Ácido Fólico – 0,9 mg; Ácido Pantotênico – 13 mg; Cobre – 0,1 g; Ferro – 0,050 g; Iodo – 1,2 mg; Manganês – 0,08 g; Selênio – 0,2 mg; Zinco – 0,06 g; B.H.T. – 0,1g; Clorohidroxiquinolina – 30 mg; Maduromicina – 3,57 mg; Nicarbazina – 0,04 g.

As aves foram distribuídas em sete tratamentos, sendo 125 aves por tratamento, com cinco repetições e 25 aves por unidade experimental. Os animais tiveram acesso à ração e água a vontade por todo período. As rações experimentais nas duas fases iniciais, de um a sete e de oito a vinte dias de idade, estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

O desempenho foi avaliado e analisado nos períodos acumulados de um a sete e de um a vinte dias de idade, considerando as seguintes variáveis:

Ganho de peso (GP): obtido através da diferença entre o peso final de cada período e o peso ao alojamento;

Consumo de Ração (CR): diferença entre o total de ração disponibilizada e as sobras ao final de cada período;

Conversão Alimentar (CA): cálculo da razão entre o total de ração consumida e o peso das aves no período, com correção pelo peso das aves mortas neste mesmo período;

Viabilidade (V): diariamente, as aves mortas foram retiradas e a mortalidade anotada para cálculos semanais de viabilidade, através da fórmula:  $VB\% = (100 - (\text{número de aves final} / \text{número de aves inicial}))$ .

Ao final do experimento, aos 20 dias de idade, cinco aves por repetição foram retiradas aleatoriamente, sendo 25 aves por tratamento, totalizando 175 aves. As aves foram identificadas individualmente e permaneceram em jejum por 8 horas, com posterior transporte ao Abatedouro Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Botucatu. As aves foram abatidas por insensibilização por choque elétrico seguida de sangria, depenação, evisceração e resfriamento para cálculo de rendimento de carcaça.

Para cálculo de rendimento de carcaça foi tomado como base, o peso vivo da ave ao abate e o peso da carcaça eviscerada e resfriada (sem as penas, cabeça, pescoço e pés). Para obter rendimento de peito, coxa e sobrecoxa foram calculadas as relações percentuais de cada uma das partes e o peso da carcaça eviscerada. O percentual de gordura abdominal foi calculado por meio da relação percentual entre o peso da gordura abdominal e o peso da ave ao abate. O peso relativo de fígado foi obtido através da relação percentual entre o peso do órgão e o peso da ave ao abate.

Os resultados foram obtidos e submetidos à análise de regressão, porém devido ao baixo valor do coeficiente de determinação ( $r^2 < 0,70$ ), optou-se por análise de variância seguida de teste de comparação de médias de *Tukey* a 5% de probabilidade. Para a análise estatística foi utilizado o pacote estatístico SAS (2002).

### ***Diluição isotópica***

Para análise do *turnover* tecidual, foram alojados em aviário experimental, 462 pintainhos de corte machos da linhagem *Cobb*, com um dia de idade, com peso médio de  $45,45\text{g} \pm 0,7\text{g}$  e vacinados no incubatório contra doença de *Marek* e *Gumboro*. Neste trabalho, as aves foram monitoradas e receberam o mesmo manejo alimentar das aves utilizadas no ensaio de dose e resposta.

As aves foram alojadas em 14 boxes, sendo 33 aves por box. Os pintainhos foram distribuídos de forma casual nos sete tratamentos, totalizando 66 aves por tratamento. Os pintainhos vieram de matrizes alimentadas com ração, majoritariamente, à base de milho (plantas do ciclo fotossintético  $C_4$ ) e farelo de soja, que conferia um valor isotópico tecidual semelhante ao do milho. Para a mudança da razão isotópica dos tecidos das aves, foi introduzido nas dietas experimentais, quirera de arroz (planta do ciclo fotossintético  $C_3$ ), possibilitando-se assim a mensuração da taxa de *turnover* isotópico dos tecidos das aves (Tabela 3).

Para a projeção da curva exponencial da taxa de troca isotópica do isótopo de  $^{13}\text{C}$ , foram retiradas ao acaso, seis aves por tratamento para abate e coleta de amostras nos dias 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17 e 20. No momento do alojamento, ao zero dias, seis aves foram retiradas antes de terem acesso as dietas experimentais, a fim da obtenção do valor isotópico de  $^{13}\text{C}$ , valor este, semelhante aos das matrizes alimentadas com dieta  $C_4$ .

No dia zero, os tecidos tinham os respectivos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $-17,89 \pm 0,37\text{‰}$ ;  $-17,15 \pm 0,24\text{‰}$ ;  $-18,43 \pm 0,23\text{‰}$  e  $-16,58 \pm 0,15\text{‰}$  para fígado, músculo do peito, músculo da coxa e tibia.

**Tabela 3.** Razão isotópica das rações pré-inicial e inicial expressos em  $\delta^{13}\text{C}$  em relação ao padrão *Pee Dee Belemnite* (PDB) e seu respectivo desvio-padrão.

Tratamento	Ração pré-inicial	Ração inicial
	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
85Lys	$-28,15 \pm 0,32$	$-27,87 \pm 0,22$
90Lys	$-27,98 \pm 0,12$	$-28,01 \pm 0,05$
95Lys	$-27,55 \pm 0,19$	$-28,75 \pm 0,24$
100Lys	$-27,50 \pm 0,15$	$-28,22 \pm 0,13$
105Lys	$-28,35 \pm 0,42$	$-28,35 \pm 0,35$
110Lys	$-27,09 \pm 0,17$	$-28,08 \pm 0,42$
115Lys	$-28,09 \pm 0,38$	$-28,21 \pm 0,42$

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

Para coleta de amostras do fígado, músculo do peito (*pectoralis major*), músculo da coxa (*gastrocnemius*) e da tíbia, as aves foram abatidas por deslocamento da articulação crânio-cervical. O fígado foi coletado em sua totalidade, seguido da remoção da vesícula biliar. Para as amostras de músculo peitoral, foi retirada uma amostra do terço médio longitudinal do músculo do peito esquerdo. Para as amostras de músculo da coxa, foi retirado uma porção de 5 cm do músculo da coxa da pata esquerda das aves. E para as amostras de tíbia, a mesma foi coletada da pata esquerda com remoção das epífises e medula óssea. Para mensurar a taxa de crescimento houve a pesagem de todas as amostras em sua totalidade, o fígado foi pesado inteiro após a retirada da vesícula biliar, para o peito e a coxa retirou-se a estrutura óssea e para a tíbia, pesaram-se os ossos sem a parte muscular. Todas as amostras foram identificadas, acondicionadas em sacos plásticos e imediatamente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posteriores análises isotópicas.

Como preparo, todas as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, lavadas com água destilada para retirada de qualquer contaminante, picadas e levadas a estufa de circulação forçada de ar a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas para secagem. Posteriormente, todas as amostras foram trituradas em moinho criogênico a  $-195^{\circ}\text{C}$ . As

amostras de fígados e coxas foram desengorduradas, utilizando éter de petróleo via *Soxhlet* no Laboratório de Qualidade de Carne da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Campus de Botucatu.

As análises isotópicas foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Botucatu. Para isso, as amostras moídas foram pesadas em balança analítica de alta sensibilidade, numa alíquota em torno de 50 a 70 µg, em cápsulas de estanho, seguidas de análise isotópica.

Para determinar a composição isotópica das amostras, foi utilizado o espectrômetro de massas de razões isotópicas, no qual em presença de oxigênio e óxido de cobre sofrem combustão, originando dessa forma, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Analisar Elementar Flash 2000, acoplado ao espectrômetro de massa Delta V, Thermo Scientific®). Os gases formados foram separados em colunas cromatográficas gasosas seguida de análise isotópica.

Os resultados obtidos foram expressos em notação  $\delta$  (delta) <sup>13</sup>C em relação ao padrão PDB (*PeeDee Belemnite*), com erro de análise de 0,2‰, de acordo com a equação (1):

$$\delta^{13}\text{C} (\text{amostra, padrão}) = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \quad (1)$$

Em que:

$\delta^{13}\text{C}$  = enriquecimento relativo da razão <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil (‰). Adimensional;

R = razão isotópica (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar o tempo da substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves no período experimental, foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela seguinte equação (2) (Ducatti *et al.*, 2002):

$$\delta^{13}\text{C}_{(t)} = \delta^{13}\text{C}_{(f)} + [\delta^{13}\text{C}_{(i)} - \delta^{13}\text{C}_{(f)}] e^{-(k)t} \quad (2)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}_{(t)}$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}\text{C}_{(f)}$  = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}\text{C}_{(i)}$  = enriquecimento isotópico do tecido na condição inicial;

k = constante de troca isotópica (turnover), em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t= tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Utilizou-se a equação proposta por Abimorad et al. (2014) (equação 3), para cálculo das constantes de crescimento (C) e metabólica (M), a partir da equação 2.

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}] e^{-(c+m)t} \quad (3)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$  = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$  = enriquecimento isotópico do tecido na condição inicial;

C = constante de crescimento, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

M = constante de *turnover* metabólico, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Para mensurar a constante de crescimento (C), a partir dos pesos das partes analisadas, calculou-se uma derivação da equação de crescimento exponencial (4):

$$W = W_0 \times e^{ct} \quad (4)$$

Em que:

W = peso do tecido no dia da coleta;

W<sub>0</sub> = peso médio inicial dos tecidos;

C = constante de crescimento, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

A partir da análise isotópica, obtém-se a constante de turnover (k), e através da curva exponencial de crescimento obtém-se a constante de crescimento (C), sendo então, a constante metabólica (M) calculada por subtração simples (adaptado de Abimorad *et al.* 2014) (5).

$$k = C + M \quad (5)$$

Para mensurar o tempo de substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves no período experimental foi empregada a função exponencial do tempo, expressa pela equação 6 (Ducatti et al., 2002), possibilitando dessa forma, o cálculo da meia vida (T<sub>50%</sub>) e troca total de carbono (T<sub>99%</sub>):

$$T_{(f)} = [-1/(k)] \ln (1 - f) \quad (6)$$

Em que:

$T_{(f)}$  = o tempo necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais, ou seja, o tempo de troca do carbono;

$k$  = constante de crescimento, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

$\ln$  = logaritmo niperiano;

$f$  = fração de átomos trocados, que pode variar de 0,50 a 0,99.

O cálculo de troca total fornece uma confiabilidade no cálculo da meia-vida, ou seja, permite atestar se o período experimental foi suficiente para que ocorresse a troca dos carbonos da fração avaliada, pelos da nova dieta.

Os resultados isotópicos foram analisados utilizando-se o método de equação exponencial de primeira ordem do *software Origin® 6.0 Professional* (Microcal Software, 2016).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Dose e resposta*

Os parâmetros de desempenho foram avaliados no período de um a sete dias de idade e não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ), demonstrando ausência de efeito dos níveis de lisina na fase pré-inicial (Tabela 4), entretanto, no período de um a vinte dias de idade, constatou-se diferença significativa ( $P < 0,013$ ) no consumo de ração. As aves pertencentes ao tratamento 95Lys apresentaram o menor consumo comparado as aves dos tratamentos 100Lys, e os demais tratamentos não diferiram entre si. Para as outras variáveis de desempenho, não foram constatadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ), como podem ser observadas na Tabela 4.

A análise de rendimento de carcaça e partes, aos 20 dias, evidenciou diferença significativa ( $P < 0,007$ ) apenas para rendimento de carcaça. As aves do tratamento 105Lys foram as que apresentaram maior rendimento de carcaça em relação as aves do tratamento 85Lys, não havendo diferença para os demais tratamentos (Tabela 5).

**Tabela 4.** Desempenho de frangos de corte machos, de 1 a 7 dias e de 1 a 21 dias de idade, recebendo dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>							Valor de P	CV <sup>3</sup> , %
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys		
1 a 7 dias de idade									
PC, g	181,20	181,56	182,72	185,04	184,70	181,27	180,98	0,467	2,14
GP, g	135,06	135,76	137,48	138,66	139,94	135,35	135,06	0,283	2,88
CR, g	155,75	151,43	150,19	151,07	156,51	148,85	152,85	0,699	5,05
CA	1,15	1,12	1,09	1,09	1,11	1,10	1,13	0,745	5,95
VB, %	100	100	100	100	100	100	100		
1 a 21 dias de idade									
PC, g	912,30	917,96	901,08	939,80	910,68	908,65	903,70	0,149	2,52
GP, g	866,10	872,16	856,60	893,40	865,92	862,73	857,58	0,163	2,62
CR, g	1189,40ab	1160,80ab	1125,70b	1210,20a	1189,30ab	1138,34ab	1171,41ab	0,013	3,37
CA	1,33	1,33	1,26	1,31	1,33	1,32	1,32	0,188	3,82
VB, %	99,20	99,20	99,20	97,60	99,20	99,20	99,20	0,873	2,04

<sup>1</sup>PC: peso corporal; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; VB: viabilidade. <sup>2</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível. <sup>3</sup>CV: coeficiente de variação.

\*Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

**Tabela 5.** Médias de pesos absolutos (g) e rendimentos (%) de carcaça, peito, coxa, sobrecoxa, gordura abdominal e fígado de frangos de corte aos 21 dias, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>							Valor de P	CV <sup>2</sup> , %
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys		
Peso absoluto									
Carcaça	678,28c	711,72ab	692,16bc	718,76ab	722,40ab	695,60abc	724,76a	<0,001	5,23
Peito	250,44b	272,60a	259,95ab	273,72a	276,00a	262,20ab	274,44a	<0,001	7,79
Coxa	94,20b	95,84ab	96,99ab	97,84ab	98,88ab	97,94ab	102,40a	0,027	7,86
Sobrecoxa	103,72b	106,36ab	104,99b	109,96ab	114,16a	105,56b	110,32ab	0,001	4,49
Gordura Abdominal	12,04	13,00	11,80	12,44	12,16	10,68	11,68	0,124	20,18
Fígado	25,76	26,36	25,31	25,63	26,23	26,71	26,09	0,520	10,00
Rendimentos									
Carcaça	71,44b	71,77ab	72,04ab	72,24ab	72,75a	71,92ab	71,65ab	0,007	2,79
Peito	37,06	38,42	37,48	37,85	38,18	37,71	37,98	0,269	4,46
Coxa	13,95	13,53	14,02	15,55	13,71	14,08	14,18	0,115	7,05
Sobrecoxa	15,39	15,02	15,18	15,24	15,77	15,17	15,28	0,259	8,86
Gordura abdominal	1,79	1,87	1,75	1,67	1,69	1,59	1,58	0,161	20,94
Fígado	3,71	3,72	3,66	3,55	3,64	3,84	3,62	0,177	10,55

<sup>1</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível. <sup>2</sup>CV: coeficiente de variação.

\*Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

Quando avaliado em termos de peso absoluto de carcaça e partes, observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para peso de carcaça, peito, coxa e sobrecoxas (Tabela 5). O peso de carcaça das aves do tratamento 115Lys foi superior as aves do tratamento 85Lys ( $P < 0,001$ ), os outros tratamentos não diferiram entre si. Para peso de peito, as aves dos tratamentos 90Lys, 100Lys, 105Lys e 115Lys tiveram maiores pesos em relação às aves dos tratamentos 85Lys ( $P < 0,001$ ), não havendo diferença entre os demais tratamentos. O peso de coxa foi inferior para as aves do tratamento 85Lys em comparação as aves do tratamento 115Lys ( $P < 0,027$ ), já para os demais tratamentos, não se verificou diferenças. Para o peso de sobrecoxa o tratamento 105Lys proporcionou maior peso quando comparado aos tratamentos 85Lys, 95Lys e 110Lys ( $P < 0,001$ ), não existindo diferença para os demais tratamentos. Já para peso absoluto de gordura abdominal e de fígado, não se constatou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para os diferentes níveis de lisina digestíveis utilizados.

Os resultados de desempenho na fase pré-inicial obtidos nesse estudo diferem de Siqueira *et al.* (2013) que, ao administrarem dietas contendo níveis de lisina digestível que variavam de 0,975 a 1,403%, observaram aumento no ganho de peso e melhora na conversão alimentar proporcional aos níveis de lisina na dieta, porém não verificaram diferença no peso corporal e consumo de ração, observação esta, que se semelha aos dados obtidos nesse estudo.

Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, Goulart *et al.* (2008) que ao avaliarem níveis de lisina digestível de 1,10; 1,16; 1,22; 1,28; 1,34 e 1,40%, na fase pré-inicial, verificaram aumento linear no consumo de ração e efeito quadrático para ganho de peso e conversão alimentar. Com base no ganho de peso, os autores estimaram 1,285% como sendo ótimo e, para conversão alimentar, 1,239%.

Os resultados referentes ao consumo de ração, na fase inicial obtidos nesse estudo, diferem de Siqueira *et al.* (2013) que, ao fornecerem dietas contendo 0,840; 0,932; 1,024; 1,116 e 1,208% lisina digestível para frangos de 8 a 21 dias, não observaram diferenças no consumo de ração, porém constataram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para ganho de peso e conversão alimentar, sendo que as aves dos tratamentos que continham 0,840 e 0,932% de lisina apresentaram menor ganho de peso e maior conversão alimentar, diferentemente dos resultados apresentados nesse estudo.

Em relação ao consumo de ração, os dados deste estudo corroboram o de Panda *et al.* (2011), que ao fornecerem dietas contendo 1,1; 1,2; 1,3 e 1,4% de lisina total a frangos de 1 a 21 dias de idade, constataram diferença significativa no consumo de ração, sendo as aves do tratamento com 1,1% de lisina total as que apresentaram o menor consumo de ração em relação as dos demais tratamentos. Porém, esses autores observaram também, que níveis baixos de lisina na dieta ocasionava redução no peso corporal e piora na conversão alimentar, comportamento este, não apresentado nesse estudo.

A ausência de diferença significativa para peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar, conforme observado nesse trabalho, também foi verificado por Takeara *et al.* (2010) que ao disponibilizarem dietas contendo 1,05; 1,10; 1,15; 1,20, e 1,25% de lisina digestível para frangos de 12 a 21 dias de idade não constataram diferenças nestas variáveis. Porém esses autores verificaram diferença para consumo de ração, a qual apresentou efeito quadrático, sendo estimado como nível ótimo, de 1,10% de lisina digestível. Diferentemente deste estudo, onde aves alimentadas com dieta contendo 1,11% de lisina digestível apresentaram o menor consumo.

Normalmente verifica-se que o desequilíbrio ou deficiência de aminoácidos nas dietas de frangos de corte resulta em pior desempenho. O excesso de aminoácidos pode ser catabolizado com excreção do nitrogênio em forma de ácido úrico e, o esqueleto carbônico convertido em lipídeos no tecido adiposo. Para a excreção de nitrogênio, o organismo utiliza-se de parte da energia que seria aplicada em acréscimo de tecido, acarretando assim em pior desempenho (Costa *et al.* 2001). O prejuízo no desempenho de aves em situação de deficiência ou desbalanço de aminoácidos na dieta ocorre em função do mesmo ser desviado para suprir uma função metabólica, considerada mais vital à ave, do que para acréscimo de proteína corporal.

A diferença observada para o consumo alimentar, difere de outros trabalhos que estudaram a influência da lisina no desempenho de frangos de corte, que não encontraram diferença no consumo de ração, como Hossemi *et al.* 2009; Everet *et al.* 2010 e Toledo *et al.* 2011. O resultado encontrado neste trabalho referente ao consumo de ração pode estar relacionado com a concentração de lisina plasmática, pois, segundo Alam *et al.* (2014), o consumo de ração seria influenciado diretamente pela concentração de lisina presente no sangue das aves, sendo que em situação de

deficiência de lisina, há redução em sua concentração no plasma com consequente redução do consumo. As aves do tratamento 100Lys foram as que apresentaram o maior consumo, demonstrando que a dieta contendo 1,17% de lisina digestível é adequada em disponibilizar esse aminoácido aos frangos de corte.

Quando avaliado peso absoluto de carcaça, as aves do tratamento 115Lys foram as que tiveram maior peso absoluto de carcaça, sendo que as aves do tratamento 85Lys foram as que apresentaram menor valor, tanto para rendimento quanto para peso absoluto. Resultados semelhantes foram obtidos por Lana *et al.* (2005) que ao fornecerem dietas com níveis que variavam de 0,92 a 1,16% de lisina digestível para frangos na fase inicial, observaram diferença em peso absoluto e relativo de carcaça, sendo as aves que consumiram ração com 0,92% de lisina, foram as que tiveram menor peso, não havendo diferença entre as demais. Esses autores não encontraram diferença para peso absoluto e relativo de fígado, resultados esses, similares à deste estudo, aonde não se observou diferença nessa variável.

Pode-se observar no presente trabalho, que a utilização de níveis superiores ao preconizado por Rostagno *et al.* (2011) proporcionaram maior peso absoluto de coxa, como verificado no tratamento 115Lys; e de sobrecoxa no 105Lys. Esses resultados se assemelham com os de Wang *et al.* (2014) que verificaram menores rendimentos de coxa quando frangos de corte foram alimentados com dieta contendo baixo nível de lisina digestível. Os autores também constataram que a utilização de nível baixo de lisina proporcionou maior deposição de gordura abdominal, sendo este comportamento, não observado neste estudo.

Os resultados presentes no estudo de rendimento de carcaça diferem de Nars & Kheiri (2012), que ao fornecerem dietas contendo diferentes níveis de lisina, não encontraram diferenças significativas para rendimento de carcaça, peito e coxa.

Os níveis de lisina avaliados neste trabalho não influenciaram o rendimento e peso absoluto de fígado, resultado este, também constatado por Nars & Kheiri (2012), onde não observaram influência da lisina digestível sobre rendimento de fígado. Esses resultados diferem de Borges *et al.* (2002), aonde o peso absoluto do fígado variou de forma quadrática, com maior peso obtido com dieta contendo 1,17% de lisina digestível.

As aves que receberam dieta contendo a menor inclusão de lisina na dieta, tratamento 85Lys, foram as que possuíram menor rendimento de carcaça, peso absoluto

de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa. Tendo conhecimento que a lisina é um aminoácido usado quase exclusivamente para acréscimo de proteína corporal, não sendo desviada para outras vias metabólicas de manutenção ou plumagem (Barbosa *et al.* 2002) e que a sua limitação, especialmente na fase inicial, diminui a síntese de músculo esquelético devido a redução da síntese de proteína e conteúdo de RNA (Tessearud *et al.* 1996), pode-se inferir que a utilização de dieta com redução de 15% de lisina digestível em relação a recomendação proposta por Rostagno *et al.* (2011), tratamento 85Lys, acarretou redução da deposição de músculo esquelético. A influência da lisina na deposição de músculo esquelético também pode ser observada com o fornecimento de dieta com nível do aminoácido 15% acima do recomendado, tratamento 115Lys, que proporcionou aumento em peso absoluto de carcaça, peito e coxa.

### ***Diluição isotópica***

Os resultados obtidos por meio das análises isotópicas das amostras permitiram mensurar a taxa de *turnover* dos tecidos possibilitando a determinação dos valores de meias vidas ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) de átomos de carbono. A análise da taxa de crescimento (C) possibilitou o estudo de sua contribuição e da taxa metabólica (M), na formação da constante de *turnover* (k), em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

Os resultados de *turnover* (k) obtidos nesse experimento demonstraram que o fornecimento de dietas com baixa inclusão de lisina, especialmente para as aves do tratamento 85Lys, cuja ração continha cerca de 15% de redução deste aminoácido em relação ao preconizado por Rostagno *et al.* (2011), proporcionaram redução na taxa de troca isotópica de fígado e músculo do peito, caracterizado pelos maiores valores de taxa de *turnover* mensurados, diferentemente de quando ocorreu o fornecimento de rações com níveis de lisina recomendado ou superiores, como nos tratamentos 100Lys, 110Lys e 115Lys, que apresentaram aceleração na taxa de *turnover* ocasionando menores valores de meia vida e troca total de carbono obtido.

**Tabela 6.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do fígado de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,38 + 8,65e^{-0,3314t}$	0,97	2,1	13,9	$W = 3,89e^{0,1131t}$	0,95	0,3314	0,1131	0,2183	34	66
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,40 + 8,40e^{-0,4167t}$	0,98	1,7	11,6	$W = 4,32e^{0,1047t}$	0,94	0,4167	0,1047	0,3119	25	75
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,33 + 8,15e^{-0,3918t}$	0,98	1,8	11,8	$W = 4,20e^{0,1075t}$	0,94	0,3918	0,1075	0,2843	27	73
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,33 + 8,22e^{-0,3994t}$	0,97	1,7	11,5	$W = 3,89e^{0,1094t}$	0,94	0,3994	0,1094	0,2900	27	73
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,44 + 8,10e^{-0,3997t}$	0,98	1,7	11,5	$W = 4,42e^{0,1064t}$	0,94	0,3997	0,1064	0,2933	27	73
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,12 + 7,24e^{-0,4954t}$	0,97	1,4	9,3	$W = 4,08e^{0,1099t}$	0,96	0,4959	0,1099	0,3855	22	78
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,22 + 7,83e^{-0,5379t}$	0,96	1,3	8,6	$W = 4,60e^{0,1027t}$	0,93	0,5380	0,1027	0,4353	19	81

<sup>1</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

**Tabela 7.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do músculo do peito de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,40 + 8,77e^{-0,3390t}$	0,98	2,0	13,6	$W = 5,95e^{0,1714t}$	0,97	0,3390	0,1714	0,1676	51	49
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,45 + 8,49e^{-0,3846t}$	0,99	1,8	12,0	$W = 8,18e^{0,1515t}$	0,97	0,3846	0,1515	0,2331	39	61
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,45 + 8,56e^{-0,3436t}$	0,99	2,0	13,4	$W = 8,23e^{0,1490t}$	0,95	0,3436	0,1490	0,1946	43	57
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,29 + 8,32e^{-0,4049t}$	0,99	1,7	11,4	$W = 8,68e^{0,1506t}$	0,96	0,4049	0,1506	0,2543	37	63
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,39 + 8,54e^{-0,3984t}$	0,98	1,7	11,6	$W = 9,36e^{0,1502t}$	0,96	0,3984	0,1502	0,2483	38	62
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,32 + 8,32e^{-0,400t}$	0,99	1,7	11,5	$W = 8,92e^{0,1497t}$	0,95	0,4000	0,1497	0,2503	37	63
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,29 + 8,35e^{-0,3984t}$	0,99	1,7	11,6	$W = 8,48e^{0,1553t}$	0,96	0,3984	0,1553	0,2431	39	61

<sup>1</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

**Tabela 8.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do músculo da coxa de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade.

Tratamento	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,60 + 7,71e^{-0,1745t}$	0,99	4,0	26,4	$W = 2,87e^{0,1529t}$	0,98	0,1745	0,1529	0,0216	88	12
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,95 + 7,53e^{-0,1953t}$	0,99	3,6	23,6	$W = 3,53e^{0,1410t}$	0,98	0,1953	0,1410	0,0543	72	28
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,13 + 7,61e^{-0,1698t}$	0,99	4,1	27,1	$W = 3,81e^{0,1353t}$	0,96	0,1698	0,1353	0,0345	80	20
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,81 + 7,49e^{-0,1934t}$	0,99	3,6	23,8	$W = 3,51e^{0,1383t}$	0,96	0,1934	0,1383	0,0551	72	28
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,81 + 7,34e^{-0,1988t}$	0,99	3,5	23,4	$W = 3,81e^{0,1383t}$	0,96	0,1988	0,1383	0,0605	70	30
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,66 + 7,18e^{-0,2160t}$	0,99	3,2	21,3	$W = 4,15e^{0,1344t}$	0,97	0,2160	0,1344	0,0816	62	38
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,80 + 7,32e^{-0,2157t}$	0,99	3,5	23,5	$W = 4,45e^{0,1290t}$	0,95	0,1957	0,1290	0,0667	66	34

<sup>1</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

**Tabela 9.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) da tíbia de frangos de corte de 0 a 20 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,30 + 8,10e^{-0,1865t}$	0,99	3,7	24,7	$W = 1,48e^{0,1373t}$	0,98	0,1865	0,1373	0,0492	74	26
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,58 + 8,27e^{-0,1733t}$	0,99	4,0	26,6	$W = 1,78e^{0,1287t}$	0,98	0,1733	0,1287	0,0446	74	26
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,73 + 8,61e^{-0,1639t}$	0,98	4,2	28,1	$W = 1,82e^{0,1272t}$	0,96	0,1639	0,1272	0,0367	78	22
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,56 + 8,30e^{-0,1748t}$	0,98	4,0	26,3	$W = 1,87e^{0,120,6t}$	0,97	0,1748	0,1206	0,0542	69	31
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,53 + 8,30e^{-0,1782t}$	0,99	3,9	25,7	$W = 1,87e^{0,1224t}$	0,96	0,1792	0,1224	0,0568	68	32
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,93 + 7,94e^{-0,1862t}$	0,99	3,7	24,8x	$W = 2,06e^{0,1166t}$	0,94	0,1862	0,1166	0,0696	63	37
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,59 + 8,1e^{-0,16702t}$	0,99	4,2	27,6	$W = 1,82e^{0,1253t}$	0,95	0,1669	0,1253	0,0416	75	25

<sup>1</sup>Tratamento 85Lys: ração contendo 1,01% de lisina; 90Lys: ração contendo 1,06% de lisina; 95Lys: ração contendo 1,11% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,17% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,23% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,29% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,35% de lisina digestível.

Para a taxa de *turnover* do fígado, as aves do tratamento 85Lys foram as que tiveram o maior valor de meia vida com 2,1 dias e troca total, com 13,9 dias. As aves do tratamento 115Lys foram as que tiveram o menor valor de meia vida com 1,3 dias e troca total, com 8,6 dias (Tabela 6). A diferença constatada entre esses tratamentos para meia vida foi de 0,8 dias (19 horas) e para troca total 5,3 dias (128 horas) (Tabela 6 e Figura 1).

Os resultados provenientes da análise da taxa de crescimento e metabólica, demonstraram que a deficiência de lisina promoveu aumento da taxa de crescimento e redução da taxa metabólica, com efeito mais pronunciado para as aves do tratamento 85Lys. Quando fornecida dietas com níveis de lisina superiores ao recomendado, foi observado redução da taxa de crescimento e aumento da taxa metabólica, principalmente, para as aves do tratamento 115Lys (Tabela 6 e Figura 1).

O efeito negativo na taxa de *turnover* de fígado, também foi encontrado por Maruno (2013), que trabalhando com dietas deficientes em metionina e lisina para frangos de corte na fase de crescimento, observou redução da taxa de troca isotópica nas aves alimentadas com dieta deficiente em lisina. Dados similares foram obtidos por Causso (2015) que ao fornecer dietas com diferentes níveis de metionina digestível para frangos de corte, verificou que dietas contendo 0,41% de metionina digestível na fase pré-inicial e 0,38% na fase de crescimento, proporcionaram menor atividade metabólica para o fígado. Entretanto, resultado contraditório foi verificado por Tesseraud *et al.* (1996), que ao utilizarem a metodologia de dose única de L-[4-<sup>3</sup>H] fenilalanina (1500 µmol/kg de peso vivo) não verificaram diferença no *turnover* de fígado, em frangos alimentados com dietas com redução no nível de lisina.

A taxa de *turnover* mostrou ser composta, em sua maior parte, pela taxa metabólica. Este comportamento é em decorrência do fígado ser um tecido metabolicamente ativo, possui maior propensão em receber nutrientes para sua exigência de forma apropriada, dessa forma possui prioridade em receber os aminoácidos provenientes da dieta (Swatson *et al.* 2002). O fígado também realiza outra função de extrema importância, a distribuição de metabólitos para outros tecidos corporais (Swatson *et al.* 2002). O fígado demonstrou ser adequado para análises isotópicas, este órgão respondeu diretamente aos níveis de lisina presentes na dieta, podendo ser observadas diferenças para taxas de *turnover*.

Com os resultados obtidos com o músculo do peito, pode-se observar que as aves do tratamento 85Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida e troca total de átomos de carbono, apresentando 2,0 e 13,6 dias respectivamente. As aves do tratamento 100Lys foram as que tiveram menor valor de meia vida com 1,7 dias e troca total de 11,4 dias. A diferença entre esses tratamentos para meia vida foi 0,3 dias (8 horas) e para troca total 2,2 dias (53 horas) (Tabela 7 e Figura 1).

O baixo nível de lisina proporcionado pelo tratamento 85Lys, também proporcionou redução da taxa de *turnover*, aumento da taxa de crescimento e menor taxa metabólica para o músculo do peito. Já o tratamento com 100Lys, com nível de lisina digestível preconizada por Rostagno et al. (2011), foi o que resultou em mais rápido *turnover* e taxa metabólica. As variações presentes nos valores de taxa de *turnover* e taxa metabólica, podem explicar a diferença ocorrida no rendimento de carcaça quando avaliado peso absoluto do peito, verificado no ensaio de dose-resposta, no qual as aves do tratamento 85Lys tiveram os menores pesos absolutos (Tabela 7 e Figura 3).

O resultado de *turnover* do músculo do peito obtido nesse estudo se assemelha aos encontrados por outros autores que utilizaram a metodologia de análise de *turnover* com a aplicação de radioisótopo de hidrogênio ([4-<sup>3</sup>H] fenilalanina). Tesseraud et al. (1996, 2001, 2011) e Urdaneta-Rincón et al. (2004) disponibilizaram dietas deficientes em lisina para frangos de corte e observaram que o baixo nível de lisina acarreta em aumento tanto no anabolismo quanto no catabolismo, porém o aumento da taxa catabólica torna-se muito acentuada, aproximando-se do dobro da taxa anabólica. Como consequência constatou-se redução da taxa de deposição proteica no músculo do peito, com consequente diminuição do peso do peito e do conteúdo de RNA.

O resultado da taxa de *turnover* do músculo da coxa, demonstrou que as aves do tratamento 110Lys foram as que tiveram menor valor de meia vida com 3,2 dias e troca total com 21,3 dias. Já para as aves do tratamento 95Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida com 4,1 dias e troca total com 27,1 dias. As aves do tratamento 95Lys, dentro do período experimental de 20 dias, trocou cerca de 98% dos átomos de carbono, atingindo assim, a estabilidade isotópica. A diferença observada para esses tratamentos, 110Lys e 95Lys, foi de 0,9 dias (21 horas) para meia vida e de 5,8 dias (129 horas) para troca total (Tabela 8 e Figura 1).

A partir dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que dietas deficientes em de lisina proporcionaram redução na taxa de *turnover*, diferentemente do fornecimento as aves dietas com níveis superiores ao recomendado por Rostagno *et al.* (2011) proporcionaram aumento na taxa de *turnover*.

Apesar das aves do tratamento 95Lys terem apresentado maior taxa de *turnover* para músculo da coxa, as do tratamento 85Lys foram as que obtiveram maior participação da taxa de crescimento e menor participação da taxa metabólica (Tabela 8 e Figura 2), o que pode ser verificado na análise de rendimento de carcaça, em termos e peso absoluto presente no ensaio de dose-resposta. Tesseraud *et al.* (2001) constataram que dietas deficientes em lisina causaram redução da taxa de deposição de proteína no músculo da coxa em consequência da diminuição da taxa absoluta de síntese proteica. Porém os autores verificaram que o músculo da coxa foi menos sensível a deficiência de lisina na dieta, em comparação ao músculo do peito. O resultado encontrado por esses autores diferem do obtido nesse estudo, onde os diferentes níveis de lisina utilizados afetaram a taxa de *turnover*, proporcionando diferentes valores de meia vida e troca total.

Os resultados das análises isotópicas das amostras da tíbia demonstraram que as aves do tratamento 95Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida e troca total, com 4,2 e 28,1 dias, respectivamente. O tratamento 110Lys proporcionou menor valor de meia vida e de troca total de átomos de carbono, com 3,7 e 24,8 dias. A diferença dos resultados destes tratamentos foi de 0,5 dias (12 horas) para meia vida e de 3,4 dias (82 horas) para troca total (Tabela 9 e Figura 1). Verificou-se que, para todos os tratamentos, as amostras de tíbia atingiram a estabilidade isotópica.

As diferentes inclusões de lisina utilizadas neste estudo também influenciaram a taxa de *turnover* da tíbia. Tratamentos com níveis de lisina digestível acima do recomendado por Rostagno *et al.* (2011), determinaram maiores valores de taxa troca isotópica. A matriz orgânica do tecido ósseo é constituída por glicoproteínas, proteoproteínas e, principalmente, por colágeno do tipo I (Pizauro Junior, 2002), dessa forma, a tíbia sofreu influência da lisina contida na dieta, intervindo diretamente na taxa de *turnover*.

Não se observaram diferenças consideráveis das aves do tratamento 115Lys, quando analisado o *turnover* das amostras de tecido muscular e tíbia, pois o aminoácido

em excesso na dieta pode ter sido catabolizado, com a excreção do nitrogênio excedente em ácido úrico (Leclercq *et al.*, 1998).

Os resultados deste estudo demonstraram comportamentos distintos entre os tecidos estudados para a taxa de incorporação de  $^{13}\text{C}$  proveniente das dietas experimentais. O fígado e músculo do peito apresentaram taxa de *turnover* mais rápida que o músculo da coxa e a tíbia. Ao avaliar as taxas de crescimento e metabólica, constatou-se que para o fígado e músculo do peito houve maior participação da taxa metabólica, diferentemente do músculo da coxa e da tíbia, que mostraram maior participação da taxa de crescimento. Este comportamento do músculo da coxa e da tíbia é em decorrência do maior desenvolvimento do aparelho locomotor das aves na fase inicial, sendo responsável pela sustentação da ave (Pizauro Junior, 2002)

Os resultados gerados nesse estudo demonstraram que as velocidades de troca isotópica dos tecidos analisados refletiram as dietas recebidas. A maior proporção de  $^{13}\text{C}$  presente no fígado é proveniente de ingredientes energéticos contidos nas dietas e que o  $^{13}\text{C}$  no tecido muscular, provém de ingredientes proteicos (Cruz *et al.* 2004), dessa forma, o tecido muscular esquelético respondeu prontamente aos níveis de lisina digestíveis utilizados. Os dados deste estudo também estão de acordo com Cruz *et al.* (2005) e Zuanon *et al.* (2007), que verificaram que o valor nutricional das dietas fornecidas aos animais influi diretamente na velocidade de troca de carbono e taxa de troca isotópica dos tecidos, dessa forma, fornece rações que atendam às exigências nutricionais aos animais ocasionam menores valores de meia vida e troca total de carbono.

## CONCLUSÃO

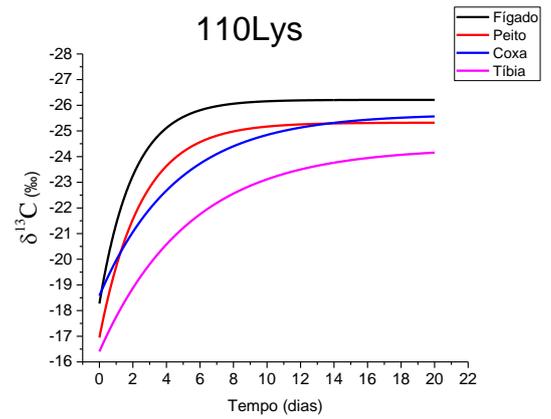
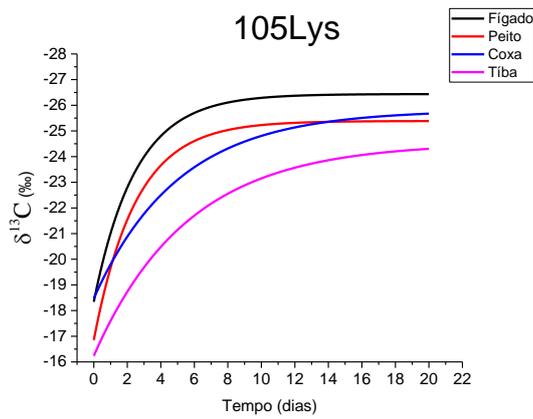
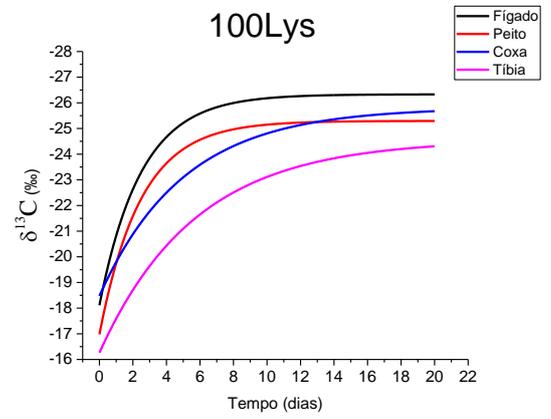
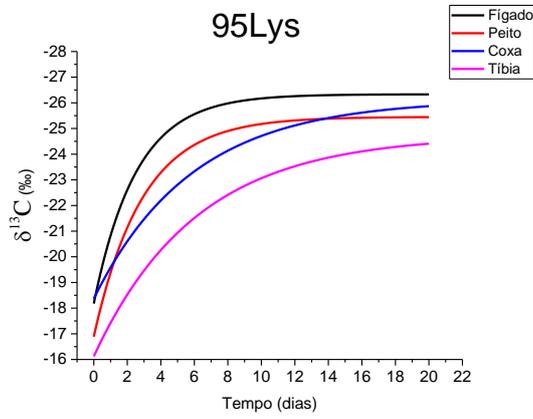
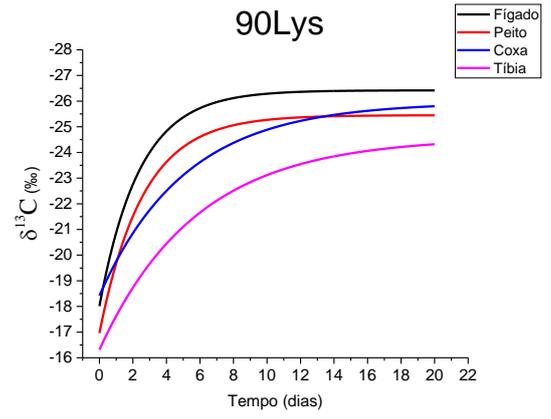
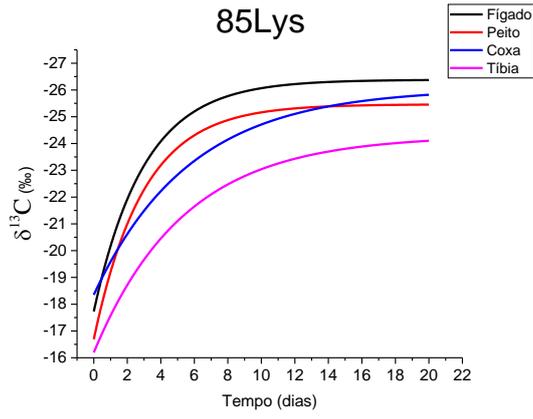
Pode-se concluir que, de forma geral, que os níveis de lisina digestível influenciam apenas o consumo de ração, quando avaliado o desempenho das aves. A deficiência de 15% em relação ao recomendado por Rostagno *et al.* (2011) proporcionada pelo tratamento 85Lys, com 1,01% de lisina digestível, acarreta em redução do rendimento de carcaça, principalmente em relação a peso absoluto, mais especificamente, de carcaça, de peito e coxa.

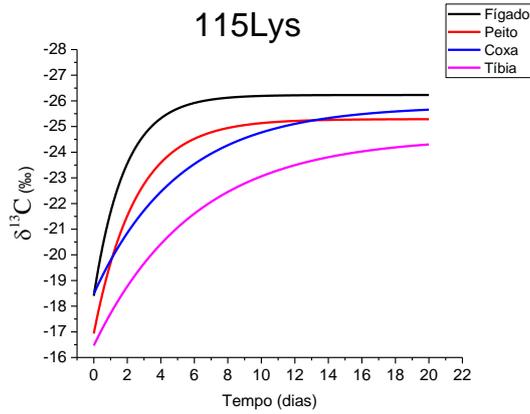
Com base nos resultados de rendimento de carcaça, taxa de *turnover*, metabólica e de crescimento do músculo do peito, pode-se inferir que as recomendações propostas

por Rostagno *et al.* (2011), de 1,17% de lisina digestível para frangos de corte para fase inicial, seria adequada.

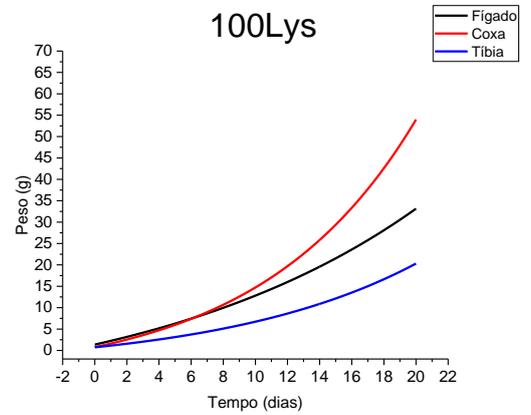
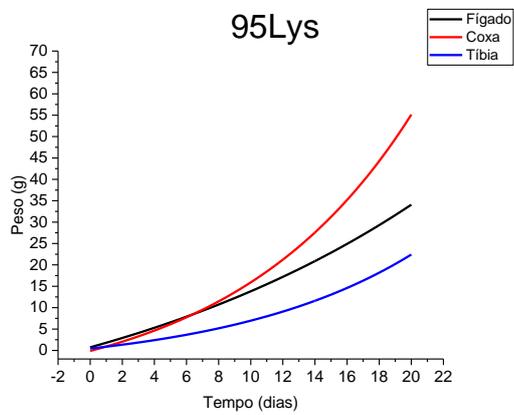
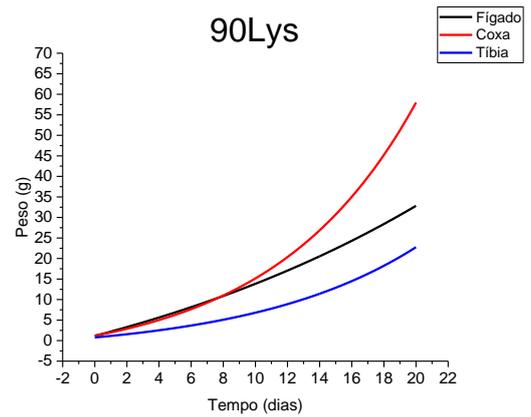
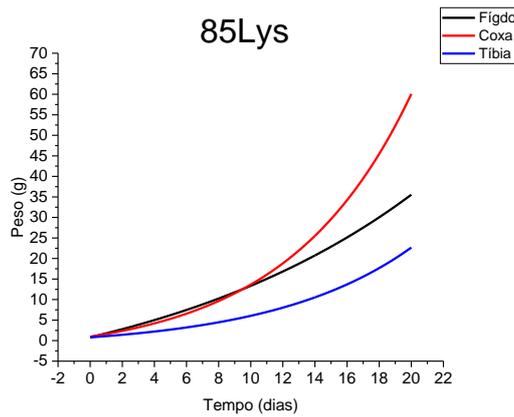
A análise do *turnover* tecidual em frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível, mostra a influência do aminoácido na taxa de troca isotópica de  $^{13}\text{C}$ . Observa-se redução da taxa de *turnover* em aves que consumiram dietas com nível de lisina abaixo do recomendado, e aumento da taxa quando as dietas seguiram o proposto por Rotagno *et al.* (2011) ou continham níveis superiores, principalmente para fígado e músculo do peito. Os resultados obtidos neste estudo demonstram a contribuição da taxa de crescimento e metabólica na formação da constante de turnover.

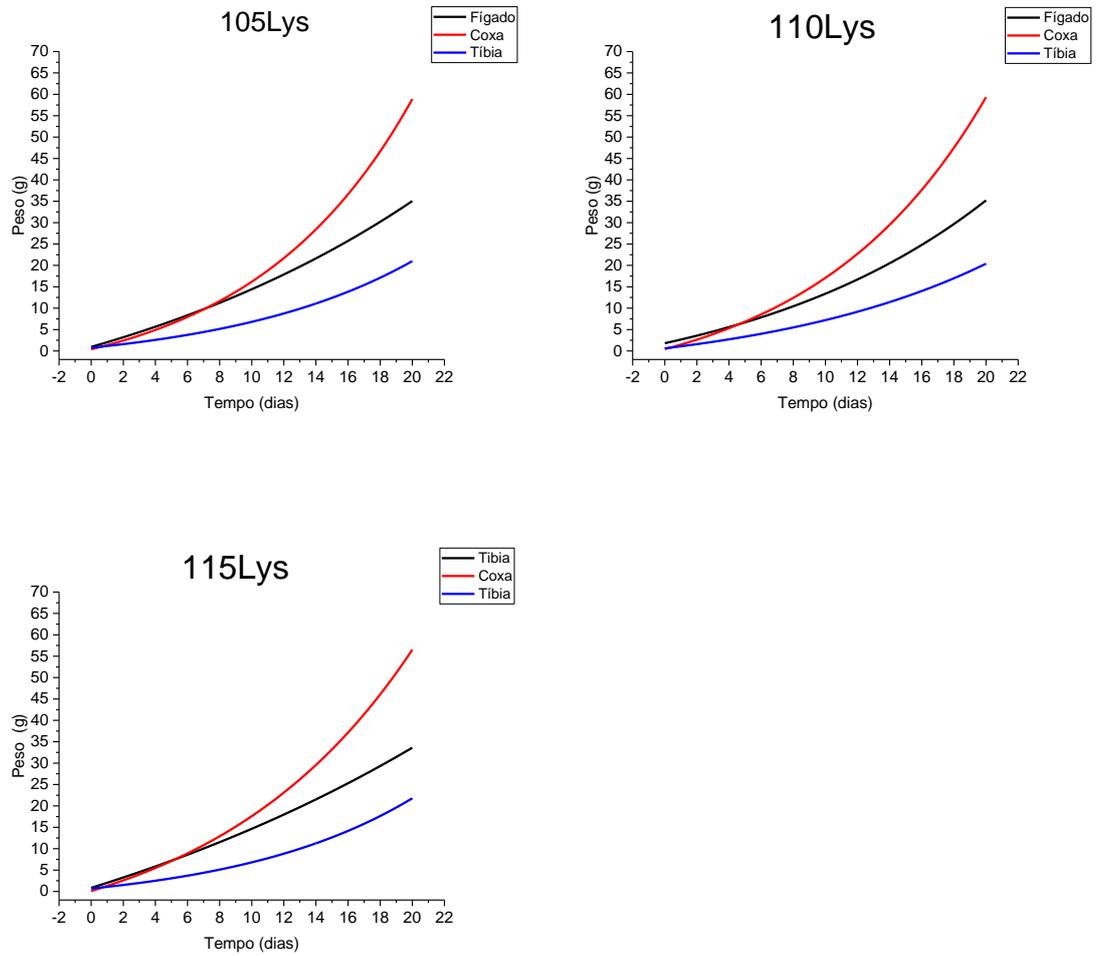
A mensuração do *turnover* tecidual através da utilização da técnica dos isótopos estáveis, confirmam os resultados obtidos com o método tradicional de dose e resposta em análise de exigência nutricional em aminoácidos. Os valores obtidos de meia-vida e troca total do  $^{13}\text{C}$  referente à taxa de *turnover*, de crescimento e metabólica nos tecidos analisados permitem a validação desta metodologia.



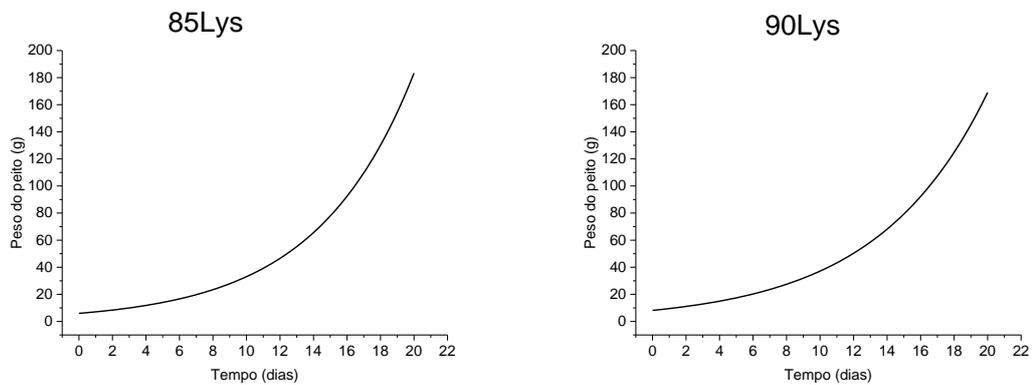


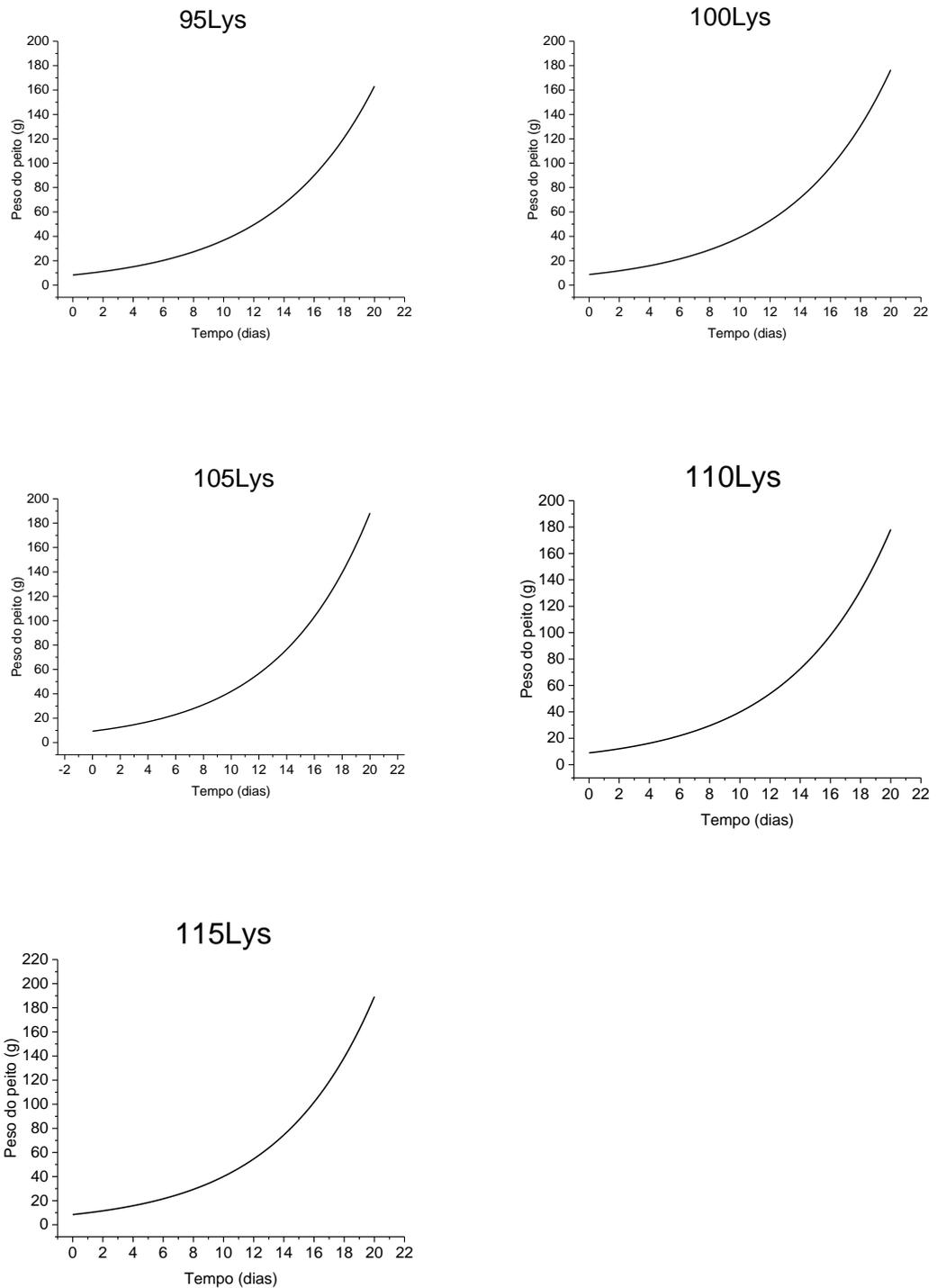
**Figura 1.** Curva de diluição isotópica de carbono do fígado, músculo do peito, músculo da coxa e tibia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 0 a 20 dias de idade.





**Figura 2.** Curva de crescimento exponencial do fígado, músculo da coxa e tibia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 0 a 20 dias de idade.





**Figura 3.** Curva de crescimento exponencial do musculo do peito de frangos de corte dos tratamentos de 0 a 20 dias de idade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abimorad EG, Ducatti C, Castellani D, Jomori RK, Portella MC, Carneiro DJ. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein *turnover* and amino acids utilization in pacu *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. *Aquaculture* 2014; 433:119-24.
- Araujo PC, Sartori JR, Cruz VC, Pezzato AC, Ducatti C, Stradiotti AC, Pelicia VC. Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves por isótopos estáveis em penas de frangos de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2011; 46(5): 538-45.
- Alam MR, Yoshizawa F, Sugahara K. Voluntary food intake variation in chicks on lysine-free diet is attributed to the plasma lysine concentration. *British Poultry Science* 2014; 55(5): 605-9.
- Barbosa MJ, Junqueira OM, Andreotti MO, Cancherini LC. Níveis de lisina mais metionina para frangos de corte na fase inicial. *Acta Scientiarum* 2002; 24(4): 1007-13.
- Borges AF, Oliveira RFM, Donzele JL, Albino LFT, Orlando UAD, Ferreira RA. Exigência de lisina para pintos de corte machos mantidos em ambiente de alta temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2002; 31(1):394-401.
- Causso NMG. *Turnover* tecidual, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de metionina digestível. 2015. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.
- Coneglian JL, Vieira SL, Berres J, Freitas DM. Responses of fast and slow growth broilers fed all diets with variable ideal protein profiles. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2010; 39 (2): 327-34.
- Costa FGP, Amarante Junior VS, Nascimento GAJ, Brandão PA, Barros LR, Silva JHV, Costa JS. Níveis de lisina para frangos de corte nos períodos de 22 a 42 e de 43 a 49 dias de idade. *Ciência e Agrotecnologia* 2007; 30(4):759-66.
- Cruz VC, Pezzato AC, Ducatti C, Pinheiro DF, Sartori JR, Gonçalves JC. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. *Poultry Science* 2004; 83: 1376-81.
- Cruz VC, Ducatti C, Pezzato AC, Pinheiro DF, Sartori JR, Carrijo SA. Influence of diet assimilation and *turnover* of <sup>13</sup>C in tissue of broiler chickens. *British Poultry Science* 2005, 46 (3):382-389.
- Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. *Scientia Agrícola* 2001; 59 (1): 29-33.
- Everet DL, Corzo A, Dozier WA, Tillman PB, Kidd MT. Lysine and threonine responses in Ross TP16 male broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 2010, 19: 321-26.

Goulart CC, Costa FGP, Lima Neto RC L, Souza JG, Silva JHV, Givisiez PEN. Exigência de lisina digestível para frangos de corte machos de 1 a 42 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2008; 37(5): 876-82.

Hosseni SM, Akbary SM, Maheri-Sis N, Mirzaei-Agsa-Ghali A. The effect of using excess lysine on the performance and slaughter characteristics of broiler chickens. *Research Journal of Biological Sciences* 2009; 4(2):143-47.

Lana SRV, Oliveira RFM, Donzele JL, Albino FT, Vaz RGMV, Rezebde, WO. Níveis de lisina digestível em rações de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade mantidos em ambiente de termoneutralidade. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2005, 34(5):1614-23.

Leclercq B. Specific effects of lysine on broiler production: Comparison with threonine and valine. *Poultry Science* 1998; 77: 118–23.

Maruno, MK. Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo *turnover* de isótopos estáveis de carbono. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

Microcal Software Origin® 2016 Professional. Origin Data Analysis and Technical Graphics 2016, Microcal Software Inc.

Nars J, Kheiri F. Effects of lysine levels of diets formulated based on total or digestible amino acids on broiler carcass composition. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2012; 14(4): 233-40.

Panda AK, Rama-Rao SV, Raju MVL, Lavanya G, Reddy EPK, Sunder GR. Early growth response of broilers to dietary lysine at fixed ratio to crude protein and essential amino acids. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 2011; 24(11): 1623-28.

Pelícia VC, Zavarize KC, Ducatti C, Stradiotti AC, Pezzato AC, Araujo PC, Mituo MAO, Madeira LA, Sartori JR. Nucleotídeos nas dietas de frangos de corte e seus efeitos sobre a taxa de *turnover* da mucosa intestinal, antes e após lesões causadas por coccidiose. *Ciência Rural* 2011; 41(9): 1652-59.

Pimenta GEM, Denadai JC, Sartori MMP, Pezzato AC, Sartori JR, Garcia EA, Ishizuka AND, Fasanaro R, Pasquali GAM, Silva ET, Ducatti C. *Turnover* de carbono em sangue e plasma nas fases de crescimento e postura, de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2014; 66 (6): 1847-54.

Pizauro Jr JM. Estrutura e função do tecido ósseo. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. In: Macari, M. editor. Fisiologia aviária aplicada à frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP-UNESP; 2002. p. 375.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3 ed. Viçosa, MG: UFV; 2011. p. 252.

SAS Institute Inc., User Installation Guide for the SAS® System, Version 9 for Microsoft® Windows®, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

Siqueira JC, Sakomura NK, Dourado LRB, Ezequiel JMB, Barbosa NAA, Fernandes JBK. Diet formulation techniques and lysine requirements of 1 to 22 days old broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2013; 15(2): 123-34.

Swatson HK, Gous R, Iu PA, Zarrinkalam R. Effects of dietary protein level amino acid balance and feeding level on growth, gastrointestinal tract and mucosa structure of the small intestine in broiler chickens. *Animal Resource* 2002; 51:501-515.

Takeara P, Toledo AL, Gandra FRS, Albuquerque, R. Lisina digestível para frangos de corte machos entre 12 e 22 dias de idade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2010; 62(6): 1455-51.

Toledo RS, Rostagno HS, Albino LFT, Dionizio MA, Carvalh DCO, Nogueira ET. Lysine nutritional requirements of broiler reared in clean and dirty environments during the pre-starter phase. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2011; 40(10): 2205-10.

Tesseraud S, Peresson R, Lopes J, Chagneau AM. Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein *turnover* in growing chickens. *British Journal of Nutrition* 1996; 75: 853-65.

Tesseraud S, Temin S, Le Bihan-Duval, E Chagneau AM. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of Pectoralis major muscle protein *turnover* in broiler selected on breast development. *Journal of Animal Science* 2001; 79: 927-33.

Tesseraud S, Everaert N, Boussaid-Om Ezzine S, Collin A, Métayer-Coustard S, Berri C. Manipulating tissue metabolism by amino acids. *World's Poultry Science Journal* 2011; 67(2): 243-51.

Urdaneta-rincon M, Lesson S. Muscle (Pectoralis major) protein *turnover* in young broiler chickens fed graded levels of lysine and crude protein. *Poultry Science* 2004; 83:1897-903.

Wang H, Zhang C, Mi Y, Kidd MT. Copper and lysine amino acid density responses in commercial broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 2014; 23: 470-77.

Zuanon JAS, Pezzato AC, Ducatti C, Barros MM, Pezzato LE, Passos JRS. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed  $\text{C}_3$  or  $\text{C}_4$ -cycle plants grain based diets. *Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular Integrative Physiology* 2007, 147(3): 761-766.

# CAPÍTULO III

**TURNOVER TECIDUAL, DESEMPENHO E RENDIMENTO DE CARÇAÇA  
EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE  
LISINA DIGESTÍVEL DE 22 A 42 DIAS DE IDADE**

**Resumo.** O estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta em estudos de exigências nutricionais, em frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, alimentados com diferentes níveis de lisina digestível. Foi realizado um ensaio utilizando a metodologia de dose e resposta, e outro, com a metodologia de diluição isotópica. Os ensaios foram em delineamento inteiramente casualizado e em ambos foram utilizadas dietas experimentais seguindo as recomendações propostas por Rostagno *et al.* (2011), exceto em lisina digestível. As dietas foram à base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e consistiram em: 100Lys (1,04% de lisina, conforme recomendado por Rostagno *et al.*, 2011)); 85Lys (0,89% de lisina); 90Lys (0,94% de lisina); 95Lys (0,99% de lisina); 105Lys (1,09% de lisina); 105Lys (1,14% de lisina) e 115Lys (1,21% de lisina digestível). O ensaio com o uso da técnica de dose e resposta objetivou avaliar o desempenho e rendimento de carcaça e o ensaio com aplicação da técnica dos isótopos estáveis, o *turnover* de <sup>13</sup>C do fígado, tíbia, músculo do peito e da coxa. Para análise de desempenho, rendimento e peso absoluto de carcaça e partes não foram observadas diferenças significativas para nenhuma variável analisada (P>0,05). Com os resultados gerados no ensaio de diluição isotópica, pôde-se observar que o nível de lisina presente na dieta influencia diretamente a taxa de *turnover*, de crescimento e metabólica, principalmente para os músculos da coxa e do peito. Para os tecidos musculares, o tratamento 85Lys foi o que apresentou menores valores de meia vida e troca total. Quando os níveis eram acima do recomendado Rostagno *et al.* (2011), o tratamento 115Lys, promoveu redução da taxa de *turnover* e metabólica. Para essa metodologia, o tecido muscular esquelético e o fígado mostraram ser mais adequado, diferentemente da tíbia. Baseado nos resultados das análises isotópicas, o tratamento 115Lys favoreceu a taxa de troca isotópica, diferentemente do tratamento 85Lys, sendo então considerado menos adequado para frango de corte na fase de crescimento.

**Palavras-chave:** aminoácido limitante; carbono-13; isótopos estáveis; metabolismo.

**TISSUE *TURNOVER*, PERFORMANCE AND CARCASS YIELD OF BROILER CHICKENS FED TO DIFFERENT LEVELS OF DIGESTIBLE LYSINE FROM 22 TO 42 DAYS OF AGE**

**Abstract.** This study aims to evaluate and validate the methodology of stable isotopes and adds additional information to those obtained with conventional methodology dose and response in studies of nutrient requirements of broilers from 22 to 42 days of age fed with different levels of lysine digestible. We conducted a trial test using the dose response methodology and another with the isotopic dilution. The tests were completely randomized design and in both the diets followed the recommendations proposed by Rostagno *et al.* (2011) except lysine. Diets were formulated based on the plants photosynthetic cycle C<sub>3</sub> and consisted of: 100Lys (1.04% lysine, according Rostagno *et al.* (2001)); 85Lys (0.89% lysine); 90Lys (0.94% lysine); 95Lys (0.99% lysine); 105Lys (1.09% lysine); 110Lys (1.14% lysine) and 115Lys (1.20% digestible lysine). In the assay with dose-response technique, performance and carcass yield were evaluated and the assay technique of stable isotopes was evaluated carbon-13 *turnover* in the liver, tibia, breast and thigh muscle. For performance analysis, performance and absolute weight of carcass and parts were not observed significant differences for any variable analyzed. In isotope dilution assay, it was observed that the level of lysine in the diet directly influences the *turnover* rate of growth and metabolic, especially to the muscles of the thigh and breast. For muscle tissues, 85Lys treatment showed the lowest values of half-life and full exchange when evaluated the rate of *turnover* and metabolic. But when the levels were above the recommended Rostagno *et al.* (2011), the 115Lys treatment, promoted a reduction in *turnover* rate and metabolic. For this methodology, the skeletal muscle tissue and liver showed to be more suitable, unlike tibia. Based on the results of isotopic analyzes, the 115Lys treatment favored the rate of isotopic exchange, unlike 85Lys treatment then being considered less suitable for broiler chickens in the growth phase.

**Keywords:** carbon-13; limiting amino acid; metabolism; stable isotopes.

## INTRODUÇÃO

Na produção de frangos de corte, a nutrição tem grande relevância para a sua notável expansão. Há constante empenho em otimizar o desempenho e rendimento de carcaça e para isso, busca-se ajustar os níveis nutricionais a fim de que a ave expresse todo seu potencial genético, garantindo assim, maior retorno financeiro.

Sabe-se que as aves não possuem capacidade de sintetizar lisina em velocidade e quantidade suficiente para suprir a sua exigência, sendo considerado então, um aminoácido essencial. Também se tem o conhecimento da ação da lisina na deposição de tecido muscular esquelético, sendo que dietas deficientes nesse aminoácido acarretam em danos ao desempenho e rendimento de carcaça (Tesseraud *et al.* 2011).

Como ferramenta de ajuste nas formulações das rações, tem-se utilizado a suplementação de aminoácidos sintéticos, o que possibilita adequado balanço entre os aminoácidos essenciais (Cella *et al.* 2001). Geralmente as rações para frangos de corte são à base de milho e farelo de soja e, devido ao baixo teor de lisina presentes nessas dietas, suplementa-se com sua forma sintética, atendendo assim, a exigência desse aminoácido (Rostagno *et al.* 2011).

Recentemente, tem-se utilizado a técnica de isótopos estáveis como ferramenta em detectar os constituintes das dietas fornecidas aos animais. A utilização dessa técnica também tem permitido estudos envolvendo *turnover* dos constituintes corporais (Pelícia *et al.* 2011). O *turnover* tecidual tem sido estudado através de metodologias que envolvem a aplicação de compostos radioativos (Tesseraud *et al.* 2001 e Urdaneta-Rincón *et al.* 2004) e, a condução de ensaios com a utilização da metodologia dos isótopos estáveis implica na ausência destes compostos, tornando o estudo mais seguro quando avaliado sua biossegurança.

Dessa forma, o presente estudo tem por objetivo avaliar se a metodologia de isótopos estáveis convalida e acrescenta informações adicionais às obtidas com a metodologia convencional de dose e resposta em estudos de exigências nutricionais em frangos de corte, de 22 a 42 dias de idade, alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios, onde um estudo consistiu na aplicação da metodologia de dose e resposta e o outro na metodologia de diluição isotópica, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Nutrição de Aves. Os procedimentos envolvidos na condução dos estudos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FMVZ, processo nº. 39/2014-CEUA.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em ambos os ensaios. As dietas experimentais seguiram as recomendações propostas por Rostagno *et al.* (2011), para frangos de corte de desempenho médio nas fases crescimento e final, exceto em lisina digestível (Tabelas 1 e 2). As rações foram à base plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> (quirera de arroz e farelo de soja). As dietas consistiram em: 100Lys (ração contendo 1,04% de lisina, seguindo a recomendação de Rostagno *et al.* (2011)); 85Lys (ração contendo 0,89% de lisina); 90Lys (ração contendo 0,94 de lisina); 95Lys (ração contendo 0,99% de lisina); 105Lys (ração contendo 1,09% de lisina); 110Lys (ração contendo 1,14% de lisina) e 115Lys (ração contendo 1,21% de lisina digestível).

### *Dose-resposta*

Para análise de desempenho e rendimento de carcaça, utilizou-se 875 frangos de corte machos de 22 dias de idade, da linhagem *Cobb*, com peso médio de 1001,55g  $\pm$ 35,50g e vacinados contra doença de *Marek* e *Gumboro*. O período avaliado compreendeu de 22 a 42 dias de idade.

O ensaio foi conduzido em aviário experimental, em 35 boxes de 2m<sup>2</sup>, com cama composta por maravalha de 15 cm de altura e munidos de bebedouro tipo *nipple* e comedouro tubular, aos quais tiveram altura ajustada conforme o crescimento das aves, e o programa de luz foi composto por 20 horas de luz e 4 horas de escuro. A temperatura e ventilação foram monitoradas para proporcionar conforto térmico às aves em cada fase de criação.

As aves foram distribuídas nos sete tratamentos, sendo 125 aves por tratamento, cinco repetições e 25 aves por unidade experimental. O acesso à água e ração foi à vontade por todo período experimental.

**Tabela 1.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase de crescimento (22 - 35 dias de idade).

Ingredientes	Tratamentos <sup>1</sup>						
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys
Arroz, Quirera	69,20	69,43	69,45	69,46	69,47	69,48	69,50
Farelo de Soja, 45%	18,14	18,00	17,86	17,73	17,58	17,45	17,28
Vísceras, farinha	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Soja, óleo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato Bicálcico	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Calcário Calcítico	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
DL-Metionina (99%)	0,26	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,27
L-Lisina HCl (78,4%)	0,06	0,13	0,20	0,27	0,34	0,40	0,49
L-Treonina (98,5%)	0,11	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12
Sal Comum	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Caulin	1,21	1,05	1,10	1,15	1,20	1,26	1,32
Premix Vit. e Min. <sup>(1)</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
<b>Composição nutricional calculada</b>							
EM (kcal/kg)	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050
PB (%)	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Cálcio (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Fósforo disponível (%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Metionina dig. (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Metionina+cistina dig. (%)	0,76	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Lisina dig. (%)	0,89	0,94	0,99	1,04	1,09	1,14	1,20
Treonina dig. (%)	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
Potássio (%)	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

<sup>2</sup> Premix vitamínico e mineral para frangos de corte, níveis de garantia por kg de ração: Vitamina A – 7.000 UI; Vitamina B1 – 1,6 mg; Vitamina B2 – 4,5 mg; Vitamina B12 – 10 µg; Vitamina B6 – 2,5 mg; Vitamina D3 – 2.000 UI; Vitamina E – 11 UI; Vitamina K3 – 1,6 mg; Colina – 0,14 g; Niacina – 32 mg; Ácido Fólico – 0,8 mg; Ácido Pantotênico – 12 mg; Cobre – 0,1 g; Ferro – 0,050 g; Iodo – 1,2 mg; Manganês – 0,08 g; Selênio – 0,2 mg; Zinco – 0,06 g; B.H.T. – 0,1g; Fitase – 500 ftu; Clorohidroxiquinolina – 30 mg; Salinomicina – 0,07g.

**Tabela 2.** Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais na fase final (36 - 56 dias de idade).

Ingredientes	Tratamentos <sup>1</sup>						
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys
Arroz, Quirera	72,93	72,97	72,97	72,97	72,98	73,00	73,00
Farelo de Soja, 45%	15,10	14,90	14,78	14,63	14,50	14,36	14,20
Vísceras, farinha	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Soja, óleo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato Bicálcico	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Calcário Calcítico	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10
DL-Metionina (99%)	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28
L-Lisina HCl (78,4%)	0,15	0,22	0,29	0,36	0,43	0,49	0,58
L-Treonina (98,5%)	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14
Sal Comum	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Caulin	0,75	0,84	0,89	0,96	1,01	1,06	1,12
Premix Vit. e Min. <sup>(2)</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
<b>Composição nutricional calculada</b>							
EM (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PB (%)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Cálcio (%)	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
Fósforo disponível (%)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Metionina dig. (%)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Metionina+cistina dig. (%)	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Lisina dig. (%)	0,89	0,94	0,99	1,04	1,09	1,14	1,20
Treonina dig. (%)	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Potássio (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

<sup>2</sup> Premix vitamínico e mineral para frangos de corte, níveis de garantia por kg de ração: Vitamina A – 7.000 UI; Vitamina B1 – 1,6 mg; Vitamina B2 - 4,5 mg; Vitamina B12 – 10 µg; Vitamina B6 – 2,5 mg; Vitamina D3 – 2.000 UI; Vitamina E – 11 UI; Vitamina K3 – 1,6 mg; Colina – 0,14 g; Niacina – 32 mg; Ácido Fólico – 0,8 mg; Ácido Pantotênico – 12 mg; Cobre – 0,1 g; Ferro – 0,050 g; Iodo – 1,2 mg; Manganês – 0,08 g; Selênio – 0,2 mg; Zinco – 0,06 g; B.H.T. – 0,1g; Fitase - 500 ftu; Clorohidroxiquinolina – 30 mg; Salinomicina – 0,07g.

O desempenho foi avaliado e analisado nos períodos acumulados de 22 a 35 e, de 36 a 42 dias de idade, considerando as seguintes variáveis:

Ganho de peso (GP): obtido através da diferença entre o peso final de cada período e o peso ao alojamento;

Consumo de Ração (CR): diferença entre o total de ração disponibilizada e as sobras ao final de cada período;

Conversão Alimentar (CA): razão entre o total de ração consumida e o peso das aves no período, com correção pelo peso das aves mortas neste mesmo período;

Viabilidade (V): diariamente, as aves mortas foram retiradas e a mortalidade anotada para cálculos semanais de viabilidade, através da fórmula:  $VB\% = (100 - (\text{número de aves final} / \text{número de aves inicial}))$ .

Para o cálculo de rendimento de carcaça, ao final do experimento, aos 42 dias de idade, 25 aves por tratamento foram retiradas aleatoriamente, sendo cinco aves por repetição, totalizando 175 aves. Houve a identificação individual das aves as quais permaneceram em jejum por 8 horas, com posterior transporte ao Abatedouro Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Botucatu. O abate das aves ocorreu por insensibilização por choque elétrico seguida de sangria, depenação, evisceração e resfriamento.

Para cálculo de rendimento de carcaça foi tomado como base, o peso vivo da ave ao abate e o peso da carcaça eviscerada (sem as penas, cabeça, pescoço e pés) e resfriada. Para obter rendimento de peito, coxa e sobrecoxa foram calculadas as relações percentuais de cada uma das partes e o peso da carcaça eviscerada. O percentual de gordura abdominal foi calculado por meio da relação percentual entre o peso da gordura abdominal e o peso vivo da ave ao abate. O peso relativo de fígado foi obtido através da relação percentual entre o peso do órgão e o peso vivo da ave ao abate.

Os resultados foram obtidos e submetidos à análise de regressão, porém devido ao baixo valor do coeficiente de determinação ( $r^2 < 0,70$ ), optou-se por análise de variância seguida de teste de comparação de médias de *Tukey* a 5% de probabilidade. Para a análise estatística foi utilizado o pacote estatístico SAS (2002).

### *Diluição isotópica*

Para determinar o *turnover* tecidual, alojaram-se em aviário experimental, 504 frangos de corte machos da linhagem *Cobb*, com 22 dias de idade, com peso médio de  $1001,55\text{g} \pm 35,50\text{g}$  e vacinados contra doença de *Marek e Gumboro*. Neste ensaio, as aves foram monitoradas e receberam o mesmo manejo alimentar das aves do ensaio da técnica de dose-resposta. O período experimental deste ensaio foi estendido até dos 56 dias de idade, para assegurar que os tecidos tenham atingido a estabilidade isotópica.

As aves foram criadas em 14 boxes, sendo 36 aves por box. Os frangos foram distribuídos de forma casual nos sete tratamentos, totalizando 72 aves/tratamento. De um a sete dias de idade as aves foram alimentadas com ração pré-inicial e, de oito a vinte e um dias de idade, com ração inicial, sendo ambas à base de milho (planta do ciclo fotossintético  $C_4$ ). As dietas pré-inicial e inicial tinham as respectivas razões isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $-20,43 \pm 0,15\text{‰}$  e  $-17,71 \pm 0,06\text{‰}$ . O fornecimento das dietas experimentais a base de quirera de arroz (planta do ciclo fotossintético  $C_3$ ), ocorreu pelo fato desse ingrediente possuir razão isotópica de  $^{13}\text{C}$  distinto, dessa forma, há a possibilidade da mensuração da taxa de *turnover* isotópico dos tecidos das aves (Tabela 3).

**Tabela 3.** Razão isotópica das rações crescimento e final expressos em  $\delta^{13}\text{C}$  em relação ao padrão *Pee Dee Belemnite* (PDB) e seu respectivo desvio-padrão.

Tratamento <sup>1</sup>	Ração crescimento	Ração final
	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
85Lys	$-28,34 \pm 0,16$	$-28,55 \pm 0,27$
90Lys	$-28,18 \pm 0,10$	$-28,98 \pm 0,42$
95Lys	$-28,43 \pm 0,37$	$-28,60 \pm 0,35$
100Lys	$-27,89 \pm 0,14$	$-28,36 \pm 0,06$
105Lys	$-28,39 \pm 0,30$	$-28,97 \pm 0,36$
110Lys	$-28,24 \pm 0,36$	$-28,68 \pm 0,15$
115Lys	$-28,39 \pm 0,15$	$-28,62 \pm 0,18$

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

Para a projeção da curva exponencial da taxa de troca isotópica do  $^{13}\text{C}$ , seis aves por tratamento foram retiradas ao acaso, para abate e coleta de amostras nos dias 22, 23, 24, 26, 29, 32, 35, 38, 42, 46, 51 e 56. No momento do alojamento, aos 22 dias, seis aves foram retiradas antes de terem acesso às dietas experimentais, a fim da obtenção do valor isotópico de  $^{13}\text{C}$ , valor este, semelhante aos da dieta C<sub>4</sub>.

No dia 22, os tecidos tinham os respectivos valores de  $\delta^{13}\text{C}$   $-18,93\pm 0,12\%$ ;  $-19,23\pm 0,15\%$ ;  $-20,50\pm 0,13\%$  e  $-17,86\pm 0,11\%$  para fígado, músculo do peito, músculo da coxa e tíbia.

Os frangos foram abatidos por deslocamento da articulação crânio-cervical para coleta de amostras do fígado, músculo do peito (*Pectoralis major*), músculo da coxa (*Gastrocnemius*) e da tíbia. Para obtenção da amostra de fígado, o mesmo foi coletado em sua totalidade, com a retirada da vesícula biliar. Para as amostras de músculo peitoral, foi coletada uma amostra do terço médio longitudinal do músculo peitoral esquerdo. Para as amostras de músculo da coxa, foi retirado uma porção de 5 cm do músculo da coxa da pata esquerda das aves. E para as amostras de tíbia, a mesma foi proveniente da pata esquerda com retirada das epífises e medula óssea. Para mensurar a taxa de crescimento houve a pesagem individual de todas as amostras em sua totalidade e em todos os dias da coleta, o fígado foi pesado inteiro após a retirada da vesícula biliar, para o peito e a coxa foram retirou-se a estrutura óssea e para a tíbia, pesaram-se os ossos sem a parte muscular. Todas as amostras foram identificadas, acondicionadas em sacos plásticos e imediatamente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até a sua preparação e análise isotópica.

Como preparo das amostras, as mesmas foram descongeladas em temperatura ambiente, lavadas com água destilada para retirada de qualquer contaminante, seguidas de secagem em estufa de circulação forçada de ar a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas. Posteriormente, houve a trituração em moinho criogênico a  $-195^{\circ}\text{C}$ . As amostras fígados e coxas foram desengorduradas, utilizando éter de petróleo via *Soxhlet* no Laboratório de Qualidade de Carne da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Campus de Botucatu.

As análises isotópicas foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu. As amostras moídas foram pesadas em balança analítica de alta sensibilidade, numa alíquota em torno de 50 a 70  $\mu\text{g}$ , em cápsulas de estanho, seguidas de análise isotópica.

Para determinar a composição isotópica das amostras, utilizou-se espectrômetro de massas de razões isotópicas no qual em presença de oxigênio e óxido de cobre sofrem combustão, originando dessa forma, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Analisar Elementar Flash 2000, acoplado ao espectrômetro de massa Delta V, Thermo Scientific®). Os gases formados foram separados em colunas cromatográficas gasosas, seguida de análise isotópica.

Os resultados obtidos foram expressos em notação  $\delta$  (delta) <sup>13</sup>C em relação ao padrão PDB (*PeeDee Belemnite*), com erro de análise de 0,2‰, de acordo com a equação (1):

$$\delta^{13}\text{C} (\text{amostra, padrão}) = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \quad (1)$$

Em que:

$\delta^{13}\text{C}$  = enriquecimento relativo da razão <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil (‰). Adimensional;

R = razão isotópica (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar o tempo da substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves no período experimental, foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela seguinte equação (2) (Ducatti *et al.*, 2002):

$$\delta^{13}\text{C}_{(t)} = \delta^{13}\text{C}_{(f)} + [\delta^{13}\text{C}_{(i)} - \delta^{13}\text{C}_{(f)}] e^{-(k)t} \quad (2)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}_{(t)}$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}\text{C}_{(f)}$  = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}\text{C}_{(i)}$  = enriquecimento isotópico do tecido na condição inicial;

k = constante de troca isotópica (*turnover*), em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Utilizou-se a equação proposta por Abimorad *et al.* (2014) (equação 3), para cálculo das constantes de crescimento (C) e metabólica (M), a partir da equação 2.

$$\delta^{13}\text{C}_{(t)} = \delta^{13}\text{C}_{(f)} + [\delta^{13}\text{C}_{(i)} - \delta^{13}\text{C}_{(f)}] e^{-(c+m)t} \quad (3)$$

Em que:

$\delta^{13}\text{C}_{(t)}$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}\text{C}_{(f)}$  = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}\text{C}_{(i)}$  = enriquecimento isotópico do tecido na condição inicial;

C = constante de crescimento, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

M = constante de *turnover* metabólico, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Para mensurar a constante de crescimento (C), a partir dos pesos das partes analisadas, calculou-se uma derivação da equação de crescimento exponencial (4):

$$W = W_0 \times e^{ct} \quad (4)$$

Em que:

W = peso do tecido no dia da coleta;

W<sub>0</sub> = peso médio inicial dos tecidos;

C = constante de crescimento, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

A partir da análise isotópica, obtém-se a constante de *turnover* (k), e através da curva exponencial de crescimento obtém-se a constante de crescimento (C), sendo então, a constante metabólica (M) calculada por subtração simples (adaptado de Abimorad *et al.* 2014) (5).

$$k = C + M \quad (5)$$

Para mensurar o tempo de substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves no período experimental foi empregada a função exponencial do tempo, expressa pela equação 6 (Ducatti *et al.*, 2002), possibilitando dessa forma, o cálculo da meia vida (T<sub>50%</sub>) e troca total de carbono (T<sub>99%</sub>):

$$T_{(f)} = [-1/(k)] \ln (1 - f) \quad (6)$$

Em que:

T<sub>(f)</sub> = o tempo necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais, ou seja, o tempo de troca do carbono;

k = constante de *turnover*, em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

ln = logaritmo niperiano;

$f$  = fração de átomos trocados, que pode variar de 0,50 a 0,99.

O cálculo de troca total fornece uma confiabilidade no cálculo da meia-vida, ou seja, permite atestar se o período experimental foi suficiente para que ocorresse a troca dos carbonos da fração avaliada, pelos da nova dieta.

Os resultados isotópicos foram analisados utilizando-se o método de equação exponencial de primeira ordem do *software Origin® 6.0 Professional* (Microcal Software, 2016).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Dose e resposta*

As variáveis obtidas a partir da avaliação do desempenho, no período que compreendeu de 22 a 35 e de 22 a 42 dias de idade, não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ), demonstrando ausência de efeito dos níveis de lisina, tanto para as fases de crescimento quanto final (Tabela 4).

A avaliação de rendimento de carcaça, peito, coxa, sobrecoxa, gordura abdominal e fígado resultou na ausência de diferença significativa ( $P > 0,05$ ) (Tabela 5).

Os resultados de desempenho obtidos nesse estudo na fase de crescimento, de 22 a 35 dias, diferem de Trindade Neto *et al.* (2011) que ao fornecerem dietas para frangos de corte machos de 23 a 36 dias de idade, contendo níveis de lisina digestível que variavam de 0,95 a 1,15%, observaram efeito quadrático para ganho de peso e peso corporal, porém não verificaram diferença no consumo de ração e viabilidade, observação esta, que se assemelha aos dados obtidos nesse estudo. Em relação à fase final, Trindade Neto *et al.* (2009), ao disponibilizarem dietas com nível de lisina digestível entre 0,90 e 1,10%, de 36 a 49 dias de idade, não observaram diferença para ganho de peso, peso corporal e consumo de ração, resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, que não se observou diferença significativa para estas variáveis.

Quando avaliado conversão alimentar, o resultado obtido por Siqueira *et al.* (2011) diferem do encontrado neste ensaio. Os autores ao disponibilizarem dietas que possuíam níveis de lisina digestível que variavam de 0,786 a 1,13% na fase de crescimento, e níveis de 0,745 a 1,017% na fase final e verificaram que houve melhora na conversão alimentar diante do aumento da concentração de lisina na dieta, diferentemente do obtido neste estudo.

**Tabela 4.** Desempenho de frangos de corte, de 22 a 35 dias e de 22 a 42 dias de idade, recebendo dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>							Valor de P	CV <sup>3</sup> , %
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys		
22 a 35 dias de idade									
PC, g	2245,20	2284,70	2294,00	2270,40	2323,50	2202,90	2267,20	0,231	3,25
GP, g	1245,60	1250,40	1282,40	1280,00	1319,10	1237,00	1254,32	0,332	4,68
CR, g	2030,20	2040,50	2073,90	2018,80	2079,50	2003,60	2007,50	0,686	3,99
CA	1,63	1,64	1,62	1,58	1,58	1,62	1,60	0,475	3,32
VB, %	99,20	99,20	100	100	98,40	100	100	0,317	1,30
22 a 42 dias de idade									
PC, g	2838,20	2748,20	2842,20	2816,00	2888,50	2712,90	2759,30	0,587	5,49
GP, g	1838,60	1713,90	1830,60	1825,10	1884,10	1747,00	1746,40	0,518	8,12
CR, g	3539,70	3438,90	3492,00	3449,10	3576,90	3460,00	3456,20	0,568	3,60
CA	1,76	1,85	1,77	1,75	1,76	1,80	1,80	0,461	4,65
VB, %	97,60	94,40	96,80	95,20	96,00	98,20	96,80	0,933	4,52

<sup>1</sup>PC: peso corporal; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; VB: viabilidade. <sup>2</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível. <sup>3</sup>CV: coeficiente de variação.

\*Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

**Tabela 5.** Médias de pesos absolutos (g) e rendimentos (%) de carcaça, peito, coxa, sobrecoxa, gordura abdominal e fígado de frangos de corte aos 42 dias, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>							Valor de P	CV <sup>2</sup> , %
	85Lys	90Lys	95Lys	100Lys	105Lys	110Lys	115Lys		
Peso absoluto									
Carcaça	2176,5	2146,70	2197,20	2205,30	2223,50	2208,10	2207,00	0,609	3,34
Peito	864,60	861,00	866,00	883,80	882,60	885,20	870,40	0,919	6,96
Coxa	293,96	291,96	295,04	301,32	305,67	300,48	307,88	0,221	8,98
Sobrecoxa	338,20	327,76	323,96	331,36	340,48	334,68	338,48	0,416	6,98
Gordura Abdominal	61,24	56,00	58,56	65,76	61,12	61,04	61,24	0,381	21,29
Fígado	49,23	48,41	50,18	49,41	50,49	53,50	48,17	0,129	10,16
Rendimentos									
Carcaça	77,26	76,91	77,19	76,72	76,91	76,10	77,09	0,096	2,45
Peito	39,70	40,02	39,35	40,07	39,59	40,05	39,35	0,837	4,94
Coxa	13,52	13,59	13,48	13,67	13,76	13,62	13,95	0,634	8,14
Sobrecoxa	15,57	15,28	14,75	15,04	15,34	15,18	15,35	0,296	7,08
Gordura abdominal	2,84	2,61	2,65	2,98	2,78	2,76	2,92	0,534	21,39
Fígado	2,26	2,25	2,33	2,24	2,27	2,42	2,24	0,342	13,25

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível. <sup>2</sup>CV: coeficiente de variação.

\*Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

Viola *et al.* (2009) encontraram efeito linear para peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar ao disponibilizarem dietas com níveis de lisina digestível entre 1,70 e 1,22%, para frangos, no período que compreendeu de 19 a 40 dias de idade. Resultados que diferem do encontrado neste estudo, sendo a única variável que se assemelha com o deste estudo é o consumo de ração, que em ambos trabalhos não foram verificadas diferenças significativas.

Os diferentes níveis de lisina digestível avaliados neste estudo não proporcionaram diferenças significativas para rendimento e peso de absoluto de carcaça. Resultado semelhante foi obtido por Rodrigues *et al.* (2008), que também não verificaram diferença significativa para rendimento de carcaça, peito e pernas para frangos alimentados com diferentes níveis de lisina digestível.

Os resultados deste estudo diferem do encontrado por Dozier *et al.* (2010), que ao disponibilizarem dietas com níveis de lisina digestível que variavam de 0,64 a 1,20%, a frangos de 28 a 42 dias de idade, observaram efeito linear crescente em resposta ao aumento dos níveis de lisina para rendimento e peso absoluto de carcaça e peito. Já para gordura abdominal, observaram sua redução em decorrência do aumento de lisina na dieta. Viola *et al.* (2009) também encontraram efeito linear para rendimento de carcaça e peito, porém para rendimento de pernas, o efeito foi quadrático. Safamehr *et al.* (2008) verificaram que dietas contendo 1,128% de lisina total, proporcionaram maior rendimento de carcaça, peito e coxas.

As variáveis de rendimento e peso absoluto da gordura abdominal não foram influenciadas pelos níveis de lisina utilizados neste estudo, resultado semelhante encontrados por Safamehr *et al.* (2008), que não constataram diferença significativa para gordura abdominal, em frangos alimentados com rações contendo diferentes inclusões de lisina aos 40 dias de idade. Porém Rodrigues *et al.* (2008) verificaram efeito linear decrescente em resposta ao aumento da concentração de lisina na dieta em frangos aos 42 dias de idade.

Os dados referentes a rendimento e peso de fígado obtidos neste estudo, se assemelham ao encontrado por Trindade Neto *et al.* (2009) que também não encontraram diferença significativa em peso e rendimento de fígado para frangos de corte alimentados com diferentes níveis de lisina. Diferentemente de Bouyeh *et al.*

(2011) que verificaram aumento do peso do fígado perante ao aumento do nível de lisina da dieta.

### ***Diluição isotópica***

As análises das amostras possibilitaram a mensuração da taxa de troca isotópica dos tecidos, com a determinação dos valores de meias vidas ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) de átomos de carbono. Juntamente com o estudo da taxa de crescimento, foi possível determinar a contribuição da taxa de crescimento e taxa metabólica tecidual na formação da constante de *turnover*, em frangos de corte alimentados com diferentes níveis de lisina digestível na fase de crescimento (Tabela 6 a 9).

Para taxa de *turnover* do fígado, as aves do tratamento 100Lys foram as que obtiveram o maior valor de meia vida com 2,2 dias e de troca total de átomos de carbono, com 14,5 dias. Já as aves do tratamento 115Lys foram as que tiveram o menor valor de meia vida, com 1,6 dias, e troca total de átomos de carbono, com 10,8 dias (Tabela 6 e Figura 1). A diferença constatada entre estes tratamentos para meia vida foi de 0,6 dias (14 horas) e para troca total de átomos de carbono foi de 3,7 dias (88 horas).

Os resultados referentes ao fígado demonstraram que a dieta que continha nível de lisina de acordo com o recomendado, tratamento 100Lys, foi a que resultou em maiores valores de meia vida e troca total para taxa de *turnover*. Considerando a função do fígado como órgão homeostático, responsável pela distribuição de metabólitos para outros tecidos corporais (Swatson *et al.* 2002), observou-se redução nas taxas de *turnover* e metabólica quando as aves foram alimentadas com dietas deficientes ou com excesso de lisina, em decorrência do aumento do catabolismo, tanto com objetivo de suprir em lisina funções consideradas vitais a ave, em situação de falta deste aminoácido, ou pelo aumento da excreção do mesmo quando presente em nível superior ao recomendado.

Verificou-se que a taxa de *turnover* do fígado, foi destinada quase em sua totalidade para trocas metabólicas, sendo pouco aplicado para o crescimento do órgão (Tabela 6 e Figura3). Diferentemente do observado no ensaio de diluição isotópica no Capítulo II, aonde foi observado maior participação da taxa de crescimento em relação a este estudo.

**Tabela 6.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do fígado de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,65 + 7,40e^{-0,3465t}$	0,97	2,0	13,3	$W = 40,87e^{0,0259t}$	0,78	0,3465	0,0259	0,3206	7	93
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,66 + 7,62e^{-0,3387t}$	0,98	2,1	13,6	$W = 42,63e^{0,0216t}$	0,71	0,3387	0,0216	0,3171	6	94
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,50 + 7,58e^{-0,3709t}$	0,98	1,9	12,4	$W = 40,41e^{0,0236t}$	0,86	0,3709	0,0236	0,3473	6	94
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,66 + 7,51e^{-0,3172t}$	0,98	2,2	14,5	$W = 41,45e^{0,0250t}$	0,81	0,3172	0,0250	0,2922	8	92
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,60 + 7,70e^{-0,3779t}$	0,98	1,8	12,2	$W = 440,66e^{0,0209t}$	0,86	0,3779	0,0209	0,3571	6	94
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,46 + 7,51e^{-0,3801t}$	0,98	1,8	12,1	$W = 38,79e^{0,0236t}$	0,74	0,3801	0,0236	0,3565	6	94
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -26,47 + 7,35e^{-0,4250t}$	0,98	1,6	10,8	$W = 39,84e^{0,0132t}$	0,81	0,4250	0,0132	0,4118	3	97

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

**Tabela 7.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do músculo do peito de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,49 + 6,30e^{-0,1146t}$	0,99	6,1	40,2	$W = 221,06e^{0,0493t}$	0,97	0,1146	0,0493	0,0653	43	57
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,42 + 6,33e^{-0,1323t}$	0,99	5,2	34,8	$W = 244,63e^{0,0468t}$	0,94	0,1323	0,0468	0,0855	35	65
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,37 + 6,31e^{-0,1304t}$	0,99	5,3	35,3	$W = 216,97e^{0,0493t}$	0,97	0,1304	0,0493	0,0811	38	62
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,25 + 6,27e^{-0,1405t}$	0,99	4,9	32,8	$W = 246,46e^{0,0454t}$	0,94	0,1404	0,0454	0,0950	32	68
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,29 + 6,18e^{-0,1372t}$	0,99	5,1	33,6	$W = 220,58e^{0,0510t}$	0,98	0,1372	0,0510	0,0862	37	63
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,22 + 6,16e^{-0,1424t}$	0,99	4,9	32,3	$W = 240,00e^{0,0458t}$	0,92	0,1425	0,0458	0,0967	32	68
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,11 + 6,06e^{-0,1484t}$	0,99	4,7	31,0	$W = 248,73e^{0,0446t}$	0,94	0,1484	0,0446	0,1037	30	70

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

**Tabela 8.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) do músculo da coxa de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,20 + 4,80e^{-0,0891t}$	0,99	7,8	51,7	$W = 75,80e^{0,0398t}$	0,88	0,0891	0,0398	0,0493	45	55
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,17 + 4,77e^{-0,0971t}$	0,98	7,1	47,4	$W = 76,39e^{0,0413t}$	0,94	0,0971	0,0413	0,0557	43	57
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,13 + 4,68e^{-0,0997t}$	0,99	7,0	46,2	$W = 79,92e^{0,0391t}$	0,92	0,0997	0,0391	0,0606	39	61
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,03 + 4,24e^{-0,1004t}$	0,98	6,9	45,9	$W = 73,97e^{0,0438t}$	0,94	0,1004	0,0438	0,0566	44	56
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,70 + 4,66e^{-0,1101t}$	0,98	6,3	41,8	$W = 75,08e^{0,0429t}$	0,94	0,1101	0,0429	0,0672	39	61
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -25,01 + 4,56e^{-0,1027t}$	0,99	6,8	44,8	$W = 76,48e^{0,0402t}$	0,93	0,1027	0,0402	0,0624	39	61
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,09 + 4,43e^{-0,1133t}$	0,99	6,1	40,7	$W = 78,04e^{0,0416t}$	0,93	0,1133	0,0416	0,0717	37	63

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

**Tabela 9.** Equações resultantes da análise de  $\delta^{13}\text{C}$ , equações resultantes das taxas de crescimento exponencial, coeficientes de determinação ( $r^2$ ), valores calculados de meia-vida ( $T_{(50\%)}$ , dias) e troca total de átomos de carbono ( $T_{(99\%)}$ , dias), constantes de *turnover* ( $k$ ), taxa de crescimento ( $C$ ), taxa metabólica ( $M$ ) e suas respectivas participações na taxa de *turnover* (%) da tíbia de frangos de corte de 22 a 56 dias de idade.

Tratamento <sup>1</sup>	Equações ( $\delta^{13}\text{C}$ )	$r^2$	$T_{(50\%)}$	$T_{(99\%)}$	Equações (crescimento)	$r^2$	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$M$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$C$ (%)	$M$ (%)
85Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,32 + 6,42e^{-0,1447t}$	0,96	4,8	31,3	$W = 24,60e^{0,0390t}$	0,91	0,1417	0,0390	0,1057	27	73
90Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,49 + 6,72e^{-0,1512t}$	0,99	4,6	30,4	$W = 19,16e^{0,0369t}$	0,89	0,1513	0,0369	0,1144	24	76
95Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,54 + 6,71e^{-0,1490t}$	0,98	4,7	30,9	$W = 25,84e^{0,0351t}$	0,87	0,1490	0,0351	0,1140	24	76
100Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,83 + 6,84e^{-0,1179t}$	0,97	5,9	39,1	$W = 25,55e^{0,0381t}$	0,90	0,1179	0,0381	0,0798	32	68
105Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,49 + 6,65e^{-0,1267t}$	0,98	5,5	36,3	$W = 24,62e^{0,0404t}$	0,90	0,1267	0,0404	0,0864	32	68
110Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,59 + 6,64e^{-0,1195t}$	0,97	5,1	33,6	$W = 25,48e^{0,0388t}$	0,93	0,1370	0,0388	0,0982	28	72
115Lys	$\delta^{13}\text{C} = -24,42 + 6,59e^{-0,1370t}$	0,96	5,8	38,6	$W = 25,29e^{0,0376t}$	0,90	0,1195	0,0376	0,0819	31	69

<sup>1</sup> Tratamento 85Lys: ração contendo 0,89% de lisina; 90Lys: ração contendo 0,94% de lisina; 95Lys: ração contendo 0,99% de lisina; 100Lys: ração contendo 1,04% de lisina; 105Lys: ração contendo 1,09% de lisina; 110Lys: ração contendo 1,14% de lisina e; 115Lys: ração contendo 1,21% de lisina digestível.

Conforme verificado, a deficiência de lisina, não ocasionou redução da taxa de *turnover* do fígado, diferentemente dos resultados encontrado por Maruno (2013) e Causso (2015), que ao disponibilizarem dietas deficientes em lisina e/ou metionina, verificaram redução da taxa de troca isotópica, caracterizados por menores valores de meia vida e troca total de carbono. Entretanto Tesseraud *et al.* (1996), não observaram diferença no *turnover* de fígado em frangos alimentados com dietas com nível de lisina reduzido, para esta mensuração utilizou-se L-[4-<sup>3</sup>H] fenilalanina com administração via intravenosa.

Através das análises de *turnover* do músculo do peito, pode-se observar que as aves do tratamento 85Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida e troca total de carbono, apresentando 6,1 e 40,2 dias, respectivamente. Já as aves do tratamento 115Lys foram as que tiveram menor meia vida, com 4,7 dias e troca total com 31,0 dias. A diferença entre esses tratamentos para meia vida foi de 1,4 dias (33 horas) e para troca total de 9,1 dias (219horas) (Tabela 7 e Figura 1).

As dietas contendo deficiência de lisina acarretaram em redução da taxa de *turnover* do músculo do peito, com efeito, mais pronunciado para as aves do tratamento 85Lys, porém quando houve a inclusão do aminoácido com níveis acima do recomendado, foi observado aumento da taxa de *turnover*, como pode ser verificado para as aves do tratamento 115Lys.

A avaliação da taxa de *turnover*, em taxa de crescimento e taxa metabólica demonstrou que sua maior parte foi destinada para trocas metabólicas, no entanto, a proporção voltada à deposição de tecido muscular novo foi suficiente para proporcionar um crescimento acentuado deste tecido (Tabela 7 e Figura 2). Este comportamento foi semelhante ao encontrado na análise de *turnover* do músculo do peito do Capítulo II, demonstrando que independentemente da idade da ave, o *turnover* deste músculo responde de maneira similar.

O resultado de *turnover* do músculo do peito, obtido nesse estudo, se assemelha aos encontrados por Tesseraud *et al.* (1996, 2001, 2011) e Urdaneta-Rincón *et al.* (2004), que ao administrarem [4-<sup>3</sup>H] fenilalanina em frangos de corte alimentados com dietas deficientes em lisina, verificaram aumento tanto da taxa anabólica quanto da taxa catabólica proteica, porém o aumento da taxa catabólica torna-se muito acentuada, aproximando-se do dobro da taxa de síntese, acarretando em redução de peso do

músculo peitoral e do conteúdo de RNA, em decorrência da diminuição da taxa de deposição proteica.

Com a aplicação da técnica dos isótopos estáveis, Maruno (2013) e Causso (2015) encontraram resultados semelhantes a deste estudo. Estes autores ao fornecerem dietas deficientes em aminoácidos constataram redução da taxa de *turnover* no músculo do peito, caracterizado pelos menores valores de meia vida e troca total.

Com os resultados da análise de *turnover* do músculo da coxa, verificou-se que as aves do tratamento 115Lys foram as que tiveram menor valor de meia vida com 6,1 dias e de troca total, com 40,7 dias. Já as aves do tratamento 85Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida, com 7,8 dias e troca total, com 51,1 dias. Todas as amostras deste tecido atingiram a estabilidade isotópica, apesar de apresentarem tempo de troca total de átomos de carbono, superior aos 34 dias de análise experimental. A diferença proporcionada por esses tratamentos foi de 1,7 dias (40 horas) para meia vida e de 11,0 dias para troca total (Tabela 8 e Figura 1).

Em relação ao músculo da coxa, dietas com nível de lisina acima da recomendação proposta por Rostagno *et al.* (2011), proporcionaram aumento na taxa de *turnover*, com efeito mais pronunciado para o tratamento 115Lys. Quando as aves foram alimentadas com dietas contendo restrição de lisina, houve redução da taxa de *turnover*, principalmente para as aves do tratamento 85Lys.

Dietas deficientes em lisina proporcionaram redução na taxa de *turnover*, resultado este, que se assemelha ao encontrado por Tesseraud *et al.* (1996), que ao fornecerem dieta deficiente em lisina a frangos de corte, observaram redução da taxa absoluta de síntese proteica decorrente da diminuição da deposição de proteína no músculo da coxa. Os autores ainda afirmaram que, apesar do músculo da coxa ter respondido ao nível de lisina presente na dieta, este, foi menos sensível que o músculo do peito. Este relato difere do encontrado neste trabalho, onde os músculos da coxa e do peito foram igualmente afetados pelos níveis de lisina da dieta.

A avaliação do *turnover* no músculo da coxa em frangos no período de crescimento, de 22 a 56 dias de idade, resultaram em comportamento diferente do observado nas aves no período inicial, de 0 a 20 dias de idade, presente no Capítulo II. As aves na fase crescimento tiveram a taxa de *turnover* voltada para as trocas

metabólicas, diferentemente do verificado para as aves na fase inicial, onde esta taxa foi direcionada para acréscimo de tecido muscular (Tabela 7 e Figura 2).

Os resultados provenientes das análises isotópicas das amostras de tíbia, demonstraram que as aves do tratamento 100Lys foram as que tiveram maior valor de meia vida e troca total, com 5,9 e 39,1 dias, respectivamente. O tratamento 90Lys proporcionou menor valor de meia vida e troca total de carbono, com 4,6 e 30,0 dias. A diferença dos resultados destes tratamentos foi de 1,3 dias (31 horas) para meia vida e de 8,6 dias (207 horas) para troca total (Tabela 9 e Figura 1).

As taxas de *turnover* da tíbia também foram influenciadas pelos níveis de lisina na dieta. Este tecido respondeu de forma diferenciada aos níveis de lisina na dieta em relação ao fígado, músculo do peito e músculo da coxa. As dietas deficientes em lisina proporcionaram uma redução na taxa de *turnover*, e as dietas com nível de lisina acima do recomendado resultaram em aumento do *turnover*, comportamento inverso do verificado nos outros tecidos. O fato da matriz orgânica do tecido ósseo ser composta principalmente de colágeno tipo I (Pizauro Jr., 2002), e em menor quantidade por glicoproteínas e proteoproteínas, demonstra a influência da lisina presente na dieta, alterando diretamente a taxa de troca isotópica neste tecido.

Quando avaliada a constante de *turnover* em termos de taxa de crescimento e taxa metabólica, foi observada que a maior parte da constante foi destinada para as trocas metabólicas. Diferentemente do verificado na análise do *turnover* da tíbia no Capítulo II, em frangos na fase inicial, onde a deposição de tecido foi priorizada em relação às trocas metabólicas naturais (Tabela 9 e Figura 3).

Os resultados de *turnover* obtidos através das análises isotópicas, demonstraram que dietas com inclusão de lisina digestível abaixo do recomendado por Rostagno *et al.* (2011), ocasionaram redução da taxa de *turnover*, resultando em maiores valores de meia vida e troca total de carbono para fígado, músculo do peito e da coxa. Quando as dietas continham níveis de lisina conforme o recomendado ou acima (Rostagno *et al.*, 2011), observou-se aceleração da taxa de *turnover*, caracterizado pelos menores valores de meia vida e troca total verificados.

Os dados presentes neste trabalho demonstram como os níveis de lisina presente na alimentação de frangos de corte, influenciam a velocidade de troca isotópica de  $^{13}\text{C}$  nos tecidos analisados. Sabe-se que a composição dos ingredientes utilizados nas dietas

afeta o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  dos tecidos das aves. A maior proporção de  $^{13}\text{C}$  presente no fígado provém de ingredientes energéticos presentes nas dietas e que o  $^{13}\text{C}$  no tecido muscular, é originado de ingredientes proteicos (Cruz *et al.* 2004). Os resultados obtidos neste ensaio se assemelham aos obtidos por Cruz *et al.* (2005), Zuanon *et al.* (2007) e Maruno (2013), aonde verificaram que as dietas fornecidas aos animais influenciavam a velocidade de troca isotópica de carbono-13 nos tecidos, isto pode ser observado pelos menores valores de meia vida e troca total de  $^{13}\text{C}$  obtidos, ao disponibilizarem dietas que atendiam as exigências nutricionais dos animais.

Diante dos resultados das análises de taxa de *turnover* pode-se verificar que o fígado, músculos do peito e da coxa são influenciados pelos níveis de lisina na dieta, dessa forma são considerados tecidos adequados para essa análise. O tecido muscular esquelético é a principal fonte de aminoácidos no organismo das aves, e em quadro de deficiência é o tecido que será catabolizado e os aminoácidos provenientes, serão destinados para uma atividade considerada vital a ave (Tesseraud *et al.* 2011). Apesar da tíbia responder aos níveis de lisina na dieta, mostrou-se menos sensível a análise isotópica, sendo considerado tecido menos adequado para análise de exigência nutricional utilizando a metodologia dos isótopos estáveis.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados gerados nestes dois ensaios experimentais, pode-se concluir que os diferentes níveis de lisina utilizados na alimentação de frangos de corte no período de crescimento, não afetam o desempenho, rendimento e peso absoluto de carcaça e partes.

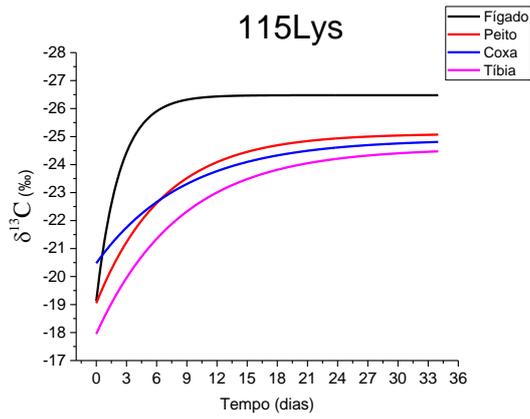
Apesar do ensaio de dose e resposta não ter resultado em diferença significativa para as avariáveis estudadas, a análise de *turnover* tecidual mostra a influência da lisina no crescimento tecidual e na renovação natural. Verificou-se que tratamento 85Lys, com redução de 15% de lisina em relação ao recomendado por Rostagno *et al.* (2011), influencia negativamente a taxa de *turnover* do fígado, músculos do peito e da coxa, caracterizados por maior valor de meia vida e de troca total, partes estas, de maior valor comercial.

A aplicação de técnica dos isótopos estáveis na mensuração da taxa de *turnover* tecidual, através da variação natural do  $^{13}\text{C}$ , mostrou ser eficiente em demonstrar o

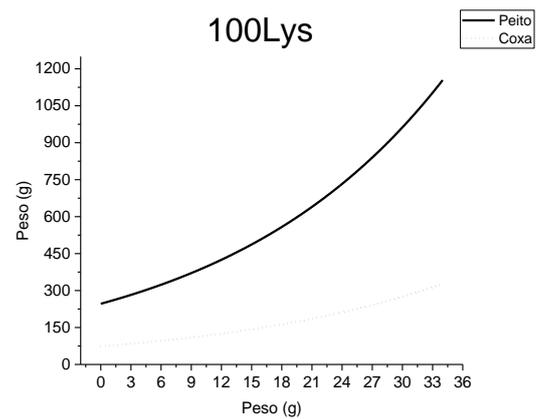
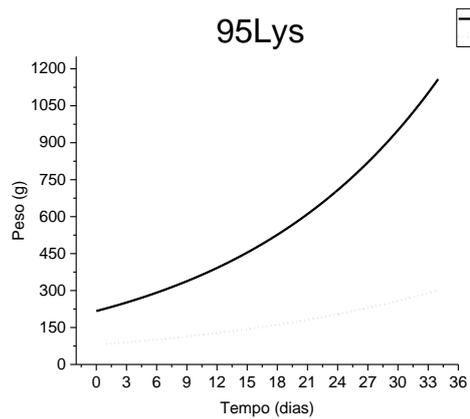
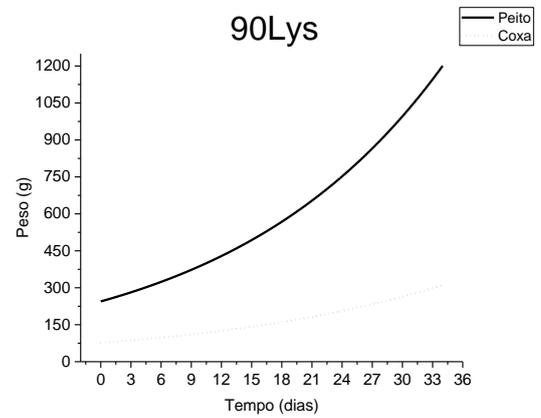
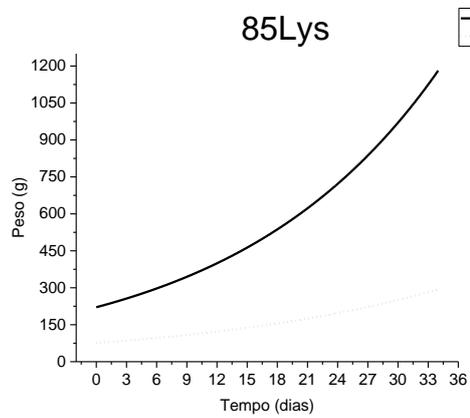
efeito da lisina na taxa de troca isotópica tecidual de frangos de corte, proporcionando informações a respeito da contribuição da taxa de crescimento e da taxa metabólica na formação da constante de *turnover*. O fígado e os tecidos musculares esqueléticos mostram-se adequados para essa análise, diferentemente da tíbia que demonstra ser menos sensível.

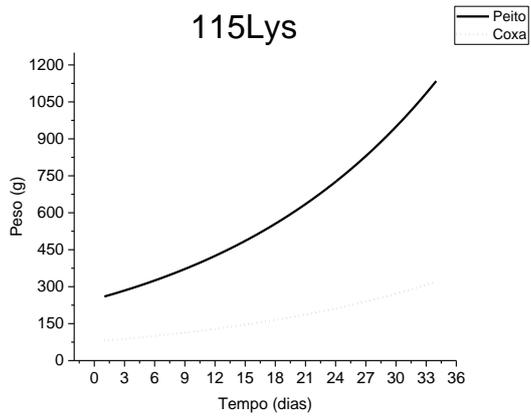
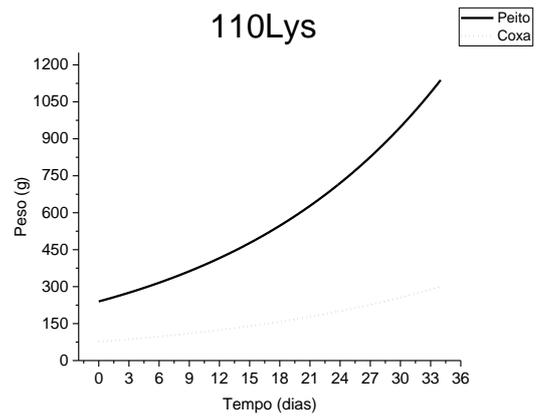
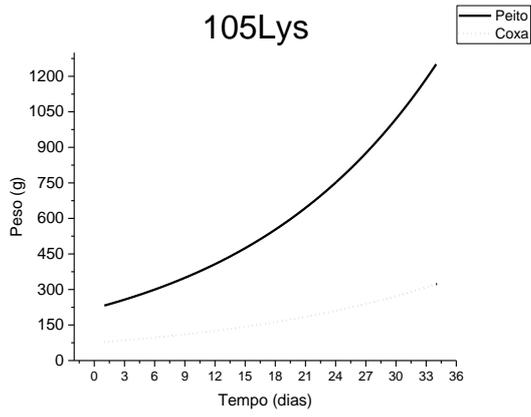
Apesar do desempenho e rendimento de carcaça não terem sido afetados pelos níveis de lisina, mas com base nos resultados obtidos através da análise isotópica, pode-se inferir que o tratamento 85Lys, com de 0,89% de lisina digestível, para frangos de corte na fase de crescimento, é o menos adequado.



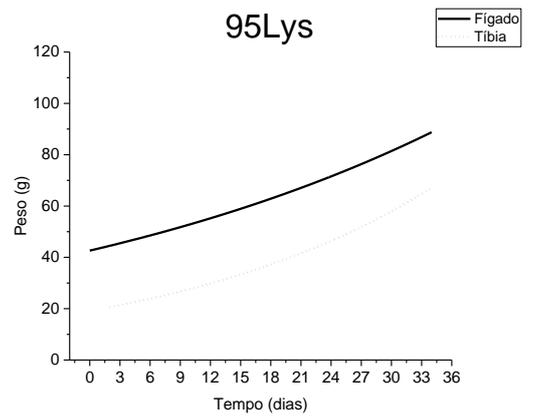
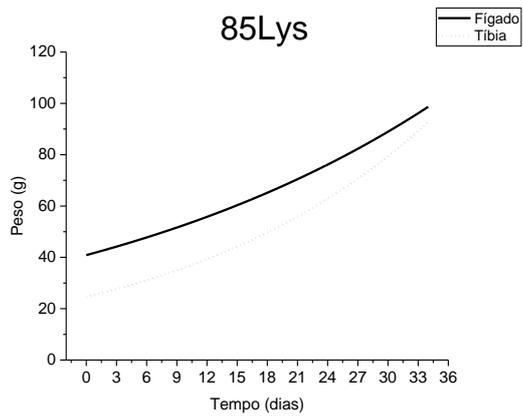


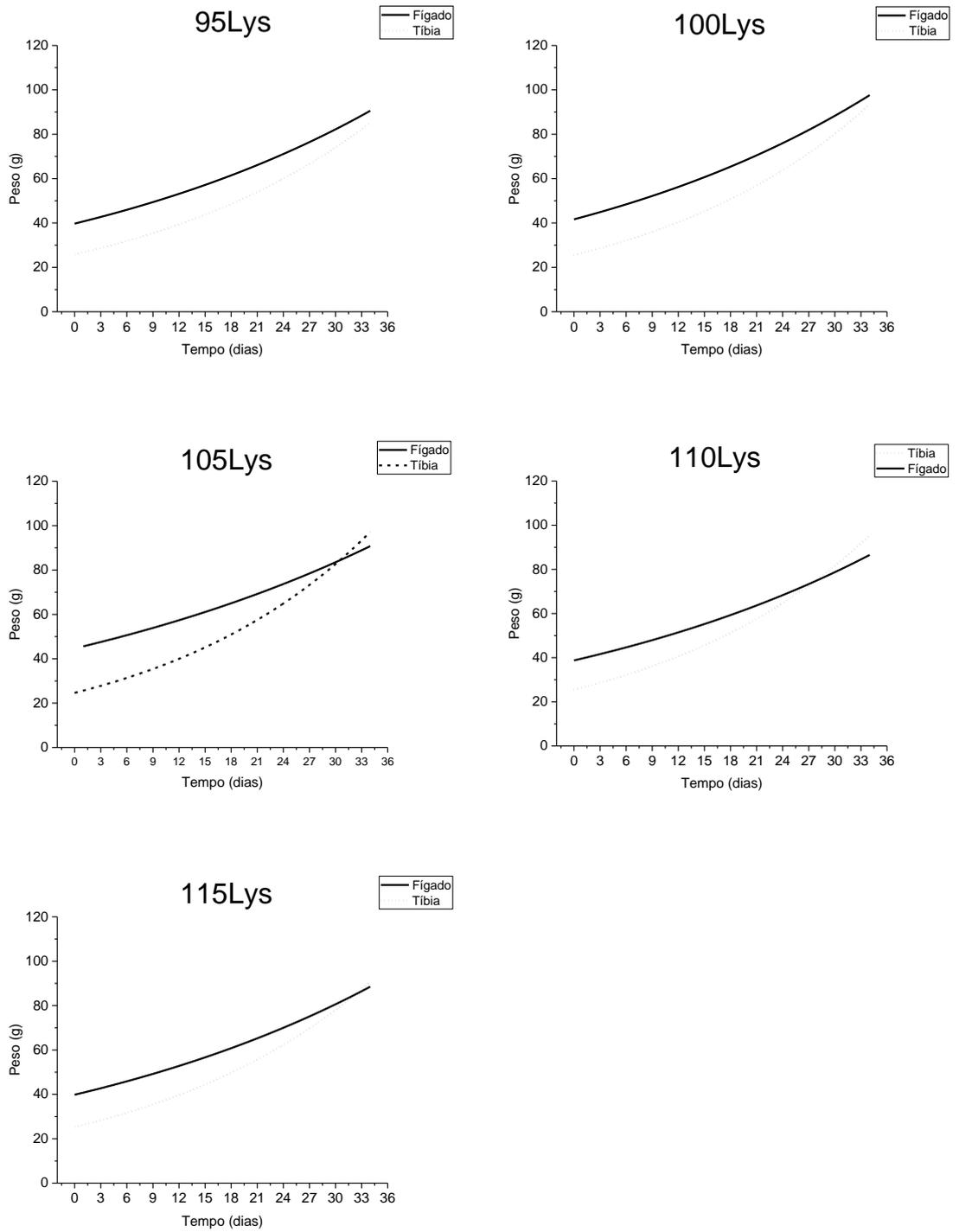
**Figura 1.** Curva de diluição isotópica de carbono do fígado, músculo do peito, músculo da coxa e da tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 55 dias de idade.





**Figura 2.** Curva de crescimento exponencial músculo do peito e do músculo da coxa de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 56 dias de idade.





**Figura 3.** Curva de crescimento exponencial do fígado e da tíbia de frangos de corte dos tratamentos experimentais de 22 a 56 dias de idade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abimorad EG, Ducatti C, Castellani D, Jomori RK, Portella MC, Carneiro DJ. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein *turnover* and amino acids utilization in pacu *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. *Aquaculture* 2014; 433:119-24.

Causso NMG. *Turnover* tecidual, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de metionina digestível. 2015. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.

Cruz VC, Pezzato AC, Ducatti C, Pinheiro DF, Sartori JR, Gonçalves JC. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. *Poultry Science* 2004; 83: 1376-81.

Cruz VC, Ducatti C, Pezzato AC, Pinheiro DF, Sartori JR, Carrijo SA. Influence of diet assimilation and *turnover* of <sup>13</sup>C in tissue of broiler chickens. *British Poultry Science* 2005, 46 (3):382-389.

Dozier WA, Corzo A, Kidd MT, Tillman PB, Purshwell JL, Kerr BJ. Digestible lysine responses of male broiler from 14-28 days of age subjected to different environmental conditions. *Journal Applied Poultry Research* 2009; 18: 690-8.

Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. *Scientia Agrícola* 2001; 59 (1): 29-33.

Leclercq B. Specific effects of lysine on broiler production: Comparison with threonine and valine. *Poultry Science* 1998; 77: 118–23.

Maruno, M. K. Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo *turnover* de isótopos estáveis de carbono. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

Microcal Software Origin® 2016 Professional. Origin Data Analysis and Technical Graphics 2016, Microcal Software Inc.

Pelícia VC, Zavarize KC, Ducatti C, Stradiotti AC, Pezzato AC, Araujo PC, Mituo MAO, Madeira LA, Sartori JR. Nucleotídeos nas dietas de frangos de corte e seus efeitos sobre a taxa de *turnover* da mucosa intestinal, antes e após lesões causadas por coccidiose. *Ciência Rural* 2011; 41(9): 1652-59.

Pizauro Jr JM. Estrutura e função do tecido ósseo. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. In: Macari, M. editor. Fisiologia aviária aplicada à frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP-UNESP; 2002. p. 375.

Rodrigues KF, Rodrigues PB, Freitas RTF, Fialho ET, Beterchini AG, Nagata AK. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte no período de 22 a 42 dias de

idade alimentados com dieta contendo diferentes relações de lisina digestível. Revista Brasileira de Zootecnia 2008; 37(4): 645-52.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3 ed. Viçosa, MG: UFV; 2011. p. 252.

Safamehr A, Azgani A, Mehmanna-Vaz Y. Effect of lysine-HCL supplementation on performance and carcass characteristics of Ross broilers. Research Journal of Biological Sciences 2008; 3(10): 1197-201.

SAS Institute Inc., User Installation Guide for the SAS® System, Version 9 for Microsoft® Windows®, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

Siqueira JC, Sakomura, NK, Doringam JCP, Mendonça GG, Costa FGP, Fernandes JBK, Dourado LRB, Nascimento, DCN. Níveis de lisina em rações para frangos de corte determinados com base e uma abordagem econômica. Revista Brasileira de Zootecnia 2011; 40(10): 2178-85.

Swatson HK, Gous R, Iu PA, Zarrinkalam R. Effects of dietary protein level amino acid balance and feeding level on growth, gastrointestinal tract and mucosa structure of the small intestine in broiler chickens. Animal Resource 2002; 51:501-15.

Tesseraud S, Peresson R, Lopes J, Chagneau AM. Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein *turnover* in growing chickens. British Journal of Nutrition 1996; 75: 853-65.

Tesseraud S, Temin S, Le Bihan-Duval, E Chagneau AM. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of Pectoralis major muscle protein *turnover* in broiler selected on breast development. Journal of Animal Science 2001; 79: 927-33.

Tesseraud S, Everaert N, Boussaid-Om Ezzine S, Collin A, Métayer-Coustard S, Berri C. Manipulating tissue metabolism by amino acids. World's Poultry Science Journal 2011; 67(2): 243-51.

Trindade-Neto MA, Takeara P, Toledo AL, Kobashigawa E, Albuquerque R, Araújo LF. Níveis de lisina digestível para frangos de corte machos no período de 27 a 49 dias de idade. Revista Brasileira de Zootecnia 2009; 38(3): 508-14.

Trindade-Neto MA, Toledo AL, Takeara P, Kobashigawa E, Donato DCZ, Albuquerque R. Dietary levels of lysine for male broilers from 23-36 days of age: performance and body composition. Revista Brasileira de Zootecnia 2011; 40(3): 609-15.

Urdaneta-rincon M, Lesson S. Muscle (Pectoralis major) protein *turnover* in young broiler chickens fed graded levels of lysine and crude protein. Poultry Science 2004; 83:1897-903.

Viola TH, Kessler AM, Ribeiro AML, Viola ES, Trevizan L, Gonçalves TA. Desempenho e frações corporais, na suplementação crescente de lisina, dos 19 aos 40 dias de idade em frangos de corte. Ciência Rural 2009; 39(2): 515-21.

Zuanon JAS, Pezzato AC, Ducatti C, Barros MM, Pezzato LE, Passos JRS. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed  $\text{C}_3$  or  $\text{C}_4$ -cycle plants grain based diets. *Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular Integrative Physiology* 2007, 147(3): 761-766.

# CAPÍTULO IV

## IMPLICAÇÕES

A aplicação da técnica dos isótopos estáveis em estudos envolvendo nutrição animal é de considerável importância, devido à grande precisão dos resultados obtidos a partir das análises isotópicas dos tecidos ou frações corporais dos animais. O emprego desta técnica tem gerado resultados bastante satisfatórios em estudos envolvendo a rastreabilidade de ingredientes de origem animal na alimentação das aves. Também tem sido utilizada em ensaios envolvendo *turnover* tecidual, promovendo assim melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na fisiologia e metabolismo das aves.

As informações existentes na literatura a respeito de *turnover* tecidual utilizam metodologias com o emprego de compostos radioativos com implicações envolvendo questões de biossegurança. A avaliação através da metodologia dos isótopos estáveis exclui o uso desses compostos ou de compostos marcados, com consequente redução de custos, além de ter proporcionado resultados satisfatórios.

Pôde-se notar que neste estudo, que os diferentes níveis de lisina utilizados influenciaram o desempenho e rendimento de carcaça na fase inicial, observados no ensaio com aplicação da técnica de dose e resposta. Além do mais, através da técnica de isótopos estáveis, também foi constatada diferença na taxa de troca isotópica de  $^{13}\text{C}$  nos tecidos analisados, fornecendo informações referentes ao metabolismo e crescimento dos tecidos analisados, evidenciando as suas diferenças de acordo com a idade da ave e período de criação. O ensaio utilizando a técnica dos isótopos estáveis, juntamente com o ensaio de dose-resposta permitiu melhor compreensão da relação entre nutrição, metabolismo e taxa de troca isotópica.

O principal ingrediente proteico utilizado na alimentação das aves, farelo de soja, possui alto teor de lisina em sua composição, devido a este fato, deficiência nutricional severa de lisina é pouco provável de acontecer na produção de frangos nacional.

Estudos que relacionem taxa de troca isotópica de nitrogênio-15 e níveis nutricionais envolvendo aminoácidos para frangos de corte são escassos. Dessa forma, estudos abrangendo suplementação e/ou deficiência de aminoácidos deverão ser conduzidos para obtenção de informações complementares relacionadas ao desempenho e *turnover* isotópico tecidual.