

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

***TURNOVER DO CARBONO ($\delta^{13}\text{C}$) EM LINHAGENS DE
FRANGOS DE CORTE TIPO COLONIAL***

PRISCILA CAVALCA DE ARAUJO

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor, Área de concentração Nutrição e Produção animal.

BOTUCATU – SP
Agosto– 2013

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

***TURNOVER DO CARBONO ($\delta^{13}\text{C}$) EM LINHAGENS DE
FRANGOS DE CORTE TIPO COLONIAL***

PRISCILA CAVALCA DE ARAUJO
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, Área de concentração Nutrição e Produção animal.

BOTUCATU – SP
Agosto– 2013

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

Araujo, Priscila Cavalca de, 1981-
A663t Turnover do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em linhagens de frangos de corte tipo colonial / Priscila Cavalca Araujo. - Botucatu : [s.n.], 2013
xii, 106 f.: il., grafs., tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013

Orientador: Antonio Celso Pezzato
Inclui bibliografia

1. Carbono 13. 2. Frango de corte. 3. Frango de corte - Crescimento. I. Pezzato, Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

“Um não sempre você vai encontrar na sua vida. Então, se preocupe em ir atrás do SIM.”

Eliana Zagui

Ofereço

À Deus, pela sua presença constante na minha vida, por me acompanhar em toda trajetória e me confortar nas horas difíceis.

*“Cada sonho que você deixa para trás é um
pedaço do seu futuro que deixa de existir”
Steve Jobs*

Dedico

*Aos meus pais, Fatima Ap. Cavalca de Araujo e José Carlos de Araujo,
que me deram apoio nos momentos mais difíceis da minha vida, pelo
incentivo, tamanha confiança e amor.*

*Aos meus irmãos, Carla Cavalca de Araujo e Rodrigo Cavalca de Araujo,
pelo apoio, amizade e amor.*

Aos meu sobrinhos Yasmin e Leonardo pelos momentos de alegria.

*Ao meu namorado Rafael Calore Nardini, sempre presente nos piores e
melhores momentos desta trajetória, pela enorme paciência nos meus
momentos de inquietações, desânimos, pelo companheirismo, amor e
amizade.*

AGRADECIMENTOS

*“NÃO HÁ NO MUNDO EXCESSO MAIS BELO QUE O DA GRATIDÃO”
La Brayère*

Sendo assim, quero neste momento, demonstrar toda a minha gratidão às pessoas que tornaram direta ou indiretamente o processo deste trabalho, inesquecível e especial.

Quero agradecer imensamente pela oportunidade de aprendizado, pela orientação, confiança e experiência de vida ao meu orientador Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato, do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP-Botucatu, uma pessoa que demonstrou tamanha paciência durante todo o processo.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP-Botucatu, pela minha formação profissional e pessoal, oferecendo-me apoio institucional e infraestrutura necessária para o desenvolvimento das atividades de pesquisa.

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

À Fundação de Amparo e Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida Processo N°2010/51717-4 e ao financiamento da pesquisa do projeto temático Processo N°2008/57411-4.

Aos professores Prof. Dr. Carlos Ducatti, Prof.^a Juliana Célia Denadai e Prof.^a Maria Márcia Pereira Sartori, do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB/UNESP-Botucatu, pela colaboração, buscando contribuir da melhor forma.

Aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB/UNESP-Botucatu, Cibele Regina de Souza Kruliski, Silvia Regina Américo Maschette, Mariana Sasso pela ajuda nas análises laboratoriais e amizade e em especial ao Técnico de

Laboratório Evandro Tadeu da Silva pelo cuidado na realização das análises isotópicas e amizade.

Aos professores do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP-Botucatu, em especial: Prof. Dr. José Roberto Sartori; Dra. Margarida Maria Barros, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pelos ensinamentos, amizade, incentivo e exemplo de profissionalismo.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP-Botucatu, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassinelli Vieira, Aline Eliane Couto e Carlos Pazini Júnior, pela prestação de serviços nos momentos requeridos.

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP-Botucatu, Luis Carlos Fernandes e Silene Vitoratti Mamede, pela amizade, atenção e auxílio.

Aos funcionários da fábrica de ração e supervisão de fazendas da FMVZ/UNESP-Botucatu, pelos auxílios prestados.

Às minhas amigas que aqui conquistei Vanessa Cristina Pelícia, Fabiana Golin Luiggi e Ana Cristina Stradiotti, quero agradecer pelas risadas, trocas de informações e conhecimentos, pela ajuda, pelo companheirismo, pelos "almoços e jantares", por terem tornado meus momentos dentro deste laboratório inesquecíveis e mais agradáveis.

Quero agradecer em especial à minha querida amiga Vanessa Cristina Pelícia, pela colaboração em todas as fases de execução desse experimento que teve toda paciência e boa vontade em ajudar sempre! Meu eterno agradecimento.

À toda a equipe do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ/UNESP-Botucatu, Ana Cristina Stradiotti, Fabiana Golin Luiggi, Francine Vercese, Ricardo Fasanaro, Peterson Dante Gavasso Pacheco, Luciene Aparecida Madeira, Wanderley Thiago da Silva, Vanessa Cristina Pelícia, Mariana Kiyomi Maruno, Carolina Carvalho de

Miranda, Estela Siloto, Jéssica Conteçote Russo, Thaila Cristina Putarov, Ivan Mailinch Gonçalves Pereira de Souza, Guilherme Emygdio Mendes Pimenta, Guilherme Aguiar, Natani Cruz Alexandre, Nathalia Martins Guerra Causso, Lúvia Carrasco Dornelas, Mônica Megumi Aoyagi, Juliana Cristina Ramos Rezende, Vitor Barbosa Fascina pelo apoio e importante ajuda na condução do experimento, convivência e momentos de descontração. Em especial, à Renata Sena de Souza Gomes de Oliveira pela ajuda em todo período experimental que foi de grande importância na condução deste trabalho.

Aos pós-graduandos Barbara Cristina da Silva Fernandes, João Fernando Albers Koch, Alessandro Borges Amorim e Lúcio Vilela Carneiro Girão por estarem sempre prontos a ajudar e pela convivência e momentos de descontração.

À VACCINAR[®] pela doação dos suplementos vitamínico-minerais.

Aos demais colegas não citados, que eu possa ter cometido à injustiça de esquecê-los neste momento, mas que merecem igual agradecimento e respeito.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a ocorrência desta pesquisa.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.	1
Considerações Iniciais.....	1
1.Introdução.....	1
2.Isótopos estáveis do carbono.....	2
3. <i>Turnover</i> de carbono.....	5
4.Linhagens.....	7
5.Justificativa.....	10
6.Referências Bibliográficas.....	11
CAPÍTULO II.	19
<i>Turnover</i> do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento	
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	23
Resultados e Discussão.....	29
Conclusão.....	41
Referências.....	41
CAPÍTULO III.	47
<i>Turnover</i> do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento	
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introdução.....	49

Material e Métodos.....	51
Resultados e Discussão.....	56
Conclusão.....	66
Referências.....	66
CAPÍTULO IV.....	70
IMPLICAÇÕES.....	71

LISTA DE TABELAS

	Páginas
CAPÍTULO II.	19
Tabela 1. Composição centesimal, valores nutricionais calculados e valores isotópicos das rações experimentais.....	24
Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais.....	25
Tabela 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo peitoral e quilha das linhagens no início e no final dos períodos de cada grupo.....	30
Tabela 4. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do músculo peitoral.....	31
Tabela 5. Valores calculados de meia-vida (T) do carbono no músculo peitoral das diferentes Linhagens (em dias).....	31
Tabela 6. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens da quilha.....	32
Tabela 7. Valores calculados de meia-vida (T) do carbono na quilha das diferentes Linhagens (em dias).....	32
 CAPÍTULO III.	 47
Tabela 1. Composição centesimal, valores nutricionais calculados e valores isotópicos das rações experimentais.....	52
Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais.....	53
Tabela 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do plasma sanguíneo e sangue total das linhagens no início e no final dos períodos de cada grupo.....	57
Tabela 4. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do plasma sanguíneo.....	58
Tabela 5. Valores calculados de meia-vida (T) do carbono no plasma sanguíneo das diferentes Linhagens (em dias).....	59
Tabela 6. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do sangue total.....	59
Tabela 7. Valores calculados de meia-vida (T) do carbono no sangue total das diferentes Linhagens (em dias).....	60

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II.	19
Figura 1. Ajuste exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ do músculo peitoral de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119).....	34
Figura 2. Ajuste exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ da quilha de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119)	35
Figura 3. Ajuste não linear (sigmoidal) dos valores de meia vida da quilha e músculo peitoral em função da idade das diferentes linhagens Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss.....	36
CAPÍTULO III.	47
Figura 1. Ajuste exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ do plasma sanguíneo de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119).....	61
Figura 2. Ajuste exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ do sangue total de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119).....	62

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

As mudanças transcorridas no mercado de aves durante as últimas décadas têm transformado o Brasil num importante produtor e fornecedor mundial de produtos industrializados de frango. Os números satisfatórios alcançados pela indústria avícola global são resultados da intensificação da produção de frangos de corte que, para atingiro sucesso produtivo, investiu em técnicas de melhoramento genético, nutricionais e de ambiência (LIMA e NÄÄS,2005).

As empresas avícolas convencionais buscam incessantemente um produto uniforme, de qualidade e que tenha lucratividade em escala. Assim, a criação de aves em altas densidades, o controle total do ambiente de criação e o uso contínuo de medicamentos antimicrobianos nas rações são práticas rotineiras na prevenção de doenças e melhoria da produtividade, reduzindo a idade de abate (GARCIA et al., 2002; BRUMANO e GATTÁS, 2009).

No entanto, nos últimos anos, a demanda por produtos agropecuários, com características organolépticas diferenciadas e com menores impactos ambientais, tem propiciado mudanças no sistema produtivo de aves em todo o mundo (FANATICO et al., 2008). Entre estes movimentos, surgem alternativas ao frango criado em condições industriais de alto rendimento, tais como, o sistema de produção de frangos tipo Colonial/Caipira, criação de aves orgânicas, criação que visa à saúde e o bem estar animal, produção de carne de elevado valor nutricional e isenta de contaminantes (aves alimentadas com dieta isenta de farinhas de origem animal, antibióticos melhoradores de desempenho (ARENALES, 2003).

A técnica dos isótopos estáveis está sendo utilizada como ferramenta em estudos na área de nutrição animal com potencial de aplicação prática para a rastreabilidade de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte por meio da análise de seus tecidos (CARRIJO et al., 2006; GOTTMANN et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010; ARAUJO et al., 2011).

Para o processo de rastreabilidade, o tecido escolhido deve refletir a dieta precedente com a finalidade de poder detectar sinais de assimilação isotópica dos ingredientes a serem rastreados, mesmo que estes sejam fornecidos apenas em uma fase

da vida do animal. A escolha do tecido a ser analisado é importante, pois tecidos que são mais ativos metabolicamente apresentarão *turnover* mais rápido e os tecidos menos ativos metabolicamente apresentarão *turnover* mais lento (HOBSON e CLARK, 1992).

Tecidos de metabolismo lento podem conservar o sinal isotópico inicial da dieta previamente ingerida por mais tempo no organismo, possibilitando a detectar a presença de ingredientes de origem animal na dieta das aves em idade avançada, quando fornecidos na fase inicial, por exemplo. De maneira inversa, tecido de metabolismo mais rápido (que substitui o sinal da dieta mais rapidamente) pode possibilitar a detecção de ingredientes de origem animal fornecido recentemente. Porém, para o desenvolvimento dessa linha de pesquisa, há a necessidade de realização de mais estudos que contribuam para amplo conhecimento da assimilação isotópica da matéria orgânica nos tecidos das aves.

2. Isótopos estáveis do carbono

O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Sabe-se que os isótopos são átomos do mesmo elemento químico, que possuem o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons, conseqüentemente apresenta diferentes massas. Por possuírem sua camada eletrônica igual, ou seja, com o mesmo número de elétrons, pode-se dizer que os isótopos são elementos que apresentam as mesmas propriedades químicas e diferentes propriedades físicas, o que permite que eles sejam utilizados como traçadores naturais em pesquisas. A palavra *estável* significa que não emitem radiação.

Os isótopos estáveis foram usados inicialmente em estudos geológicos e arqueológicos. Nas últimas décadas têm sido aplicados de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas, ecológicas e fisiológicas e apresentam-se como alternativa promissora para estudar processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes em humanos e animais, assim como, para identificar a procedência e a qualidade de produtos de origem animal e vegetal (GANNES et al., 1998). No Centro de Isótopos Estáveis Ambientais da UNESP, Campus de Botucatu, fundamentada nesta técnica, surgiu à linha de pesquisa que visa detectar a inclusão de farinhas de origem animal na alimentação de aves de postura (DENADAI et al., 2006; DENADAI et al.,

2008), frangos de corte (CRUZ et al., 2005; CARRIJO et al., 2006; GOTTMANN et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010) e codornas (MÓRI et al., 2007; MÓRI et al., 2013, SERNAGIOTTO et al., 2013).

Estas investigações demonstraram que as composições isotópicas dos tecidos de animais dependem principalmente da alimentação, da água ingerida e dos gases inalados. Associado a isto, os efeitos dos isótopos estão ligados aos processos metabólicos (KENNEDY e KROUSE, 1990).

Há naturalmente, a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono, o carbono-12 (^{12}C) e o carbono-13 (^{13}C), com abundâncias naturais 98,89 e 1,11 átomos%, respectivamente (KENNEDY e KROUSE, 1990).

Em função da grande diferença na abundância natural dos isótopos estáveis do carbono, a mensuração da relação entre eles na maioria das amostras gera valores muito pequenos. Para converter esta relação, os valores isotópicos do carbono são expressos na terminologia dos isótopos estáveis, em delta per mil da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do produto em relação ao padrão internacional definido ($\delta^{13}\text{C}$), *Peedee Belemnite* (PDB). Segundo Friedman e O'Neill (1977), citados por Ducatti et al. (1979), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se de um carbonato sólido de *Belemnite lacretaceos*, *Belemnitela americana*, da formação Peedee do Norte da Carolina, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). No Centro de Isótopos Estáveis Ambientais da UNESP – Campus de Botucatu, é utilizada como subpadrão de trabalho, uma rocha carbonatada (mármore) com alta pureza em calcita (DUCATTI et al., 1979).

O sinal negativo no $\delta^{13}\text{C}$ indica que o material estudado apresenta menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional PDB. (SMITH e EPSTEIN, 1971; DUCATTI et al., 1979; O'LEARY, 1981; VOGEL et al., 1993; DUCATTI, 2002).

A medida da relação entre isótopos estáveis é realizada por espectrometria de massas, que detecta a concentração dos diferentes isótopos do elemento. O enriquecimento isotópico relativo é obtido pela expressão (1):

$$\delta^{13}\text{C} = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \cdot 10^3 \quad (1)$$

Na qual, a simbologia significa:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento isotópico do carbono-13 da amostra relativo ao padrão internacional PDB. Adimensional.

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão, respectivamente. Adimensional.

Plantas de ciclo fotossintético distintos, por apresentarem diferentes razões isotópicas de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, podem ser utilizadas através de seus isótopos como traçadores em dietas e tecido dos animais.

De acordo com o ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria, em dois grupos principais: plantas C_3 e C_4 , onde o primeiro composto orgânico formado é um ácido carboxílico, com três e quatro átomos de carbono, respectivamente. A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o gás carbônico atmosférico, o qual apresenta valor de $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente $-7,7\text{‰}$ (KENNEDY e KROUSE, 1990).

Nas plantas C_3 , cerca de 85% de todas as espécies de plantas da superfície terrestre possuem o ciclo C_3 de fotossíntese e essas espécies são dominantes na maioria dos ecossistemas das regiões boreais aos trópicos. O valor de $\delta^{13}\text{C}$ varia de -22 a -34‰ , dependendo da espécie e da parte da planta analisada.

As plantas C_4 compreendem cerca de 5% de todas as espécies terrestres. São encontradas dezoito famílias em áreas geográficas restritas. Metade das plantas C_4 é gramínea de origem tropical e subtropical. Cerca de 17% da superfície terrestre é coberta por plantas C_4 , constituindo a vegetação das savanas, pântanos e mangues (salino) e pastagens naturais; 20-30% da fotossíntese global é devida às plantas C_4 . O valor de $\delta^{13}\text{C}$ nas plantas C_4 encontra-se entre -9 e -16‰ .

As plantas C_4 discriminam menos o ^{13}C e possuem maiores valores de $\delta^{13}\text{C}$ do que as plantas C_3 (valores menos negativos). Considerando-se a existência da diferença isotópica da ordem de 16‰ nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre as plantas do ciclo fotossintético C_3 e C_4 , pode-se caracterizar a dieta do animal pela análise isotópica do carbono dos tecidos (PRESTON, 1992).

Para minimizar este problema é interessante analisar vários tecidos cobrindo o tempo de *turnover*, uma vez que este tempo difere de tecido para tecido (TIESZEN et al., 1983). Portanto, quando determinado organismo se utiliza de diferentes fontes alimentares com composição isotópica distinta, deve-se levar em consideração a *memória isotópica*, ou seja, quanto tempo leva para que o carbono fixado a partir de uma fonte alimentar seja completamente substituído pela nova fonte alimentar nos

tecidos. Esta substituição é denominado de "*turnover*" isotópico (TIESZEN, et al., 1983).

3. *Turnover* de carbono

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é chamado de *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam elas metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover* (HETENYI et al., 1983).

A renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente dos isótopos, que compõem os tecidos corporais ou o organismo como todo, é denominado *turnover* isotópico. Este processo é resultado da renovação tecidual decorrente da síntese, degradação dos tecidos adultos ou pelo crescimento de tecidos em formação (diluição isotópica) (ZUANON et al., 2007).

A mensuração do *turnover* de componentes corporais e órgãos dos animais são possíveis através da utilização de dietas com assinaturas isotópicas distintas. A escolha do tecido para análise isotópica dependerá do interesse em questão, pois após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica do tecido determinado dependerá da velocidade de constituição deste (TIESZEN et al.; 1983). Para verificação de dietas consumidas recentemente, deve-se escolher tecidos metabolicamente mais ativos (plasma sanguíneos, fígado, pâncreas), pois apresentam rápido *turnover*. Para investigar dietas consumidas em longo prazo, prioriza-se a análise de tecidos metabolicamente menos ativos (colágenos de ossos, penas) devido o mais lento *turnover* (HOBSON e CLARK, 1992).

Como as plantas são consumidas pelos animais, a *impressão digital isotópica* destas fontes reflete nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo (DENIRO e EPSTEIN, 1978; GANNES et al., 1998). Esta metodologia complementa as técnicas convencionais, nas quais informações dietéticas detalhadas são necessárias e principalmente quando várias opções dietéticas estão disponíveis (HOBSON e CLARK, 1992).

Existem vantagens importantes para o uso de isótopos estáveis, que ocorrem naturalmente em indicadores dietéticos, sobre as técnicas convencionais, dentre as quais, as estimativas dietéticas isotópicas são baseadas nos alimentos assimilados e não

apenas nos alimentos ingeridos e, comparativamente podem ser obtidas informações de dietas consumidas a longos períodos (HOBSON e CLARK, 1992).

Para mensurar o *turnover* isotópico do carbono em um determinado intervalo de tempo, Ducattiet al. (2002) propuseram um modelo teórico capaz de exprimir os resultados do enriquecimento relativo de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas com sinais isotópicos diferentes. Partindo do pressuposto que o metabolismo de determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos pré-existentes, os autores chegaram a função exponencial do tempo, expressa pela equação (2):

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

Em que:

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

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

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

k = constante de troca (*turnover*) em dia^{-1}

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

A constante k engloba os processos de *turnover* metabólico de carbono (a partir da substituição) e de acréscimo de compostos de carbono (devido ao crescimento), ambos contribuem para o processo de diluição isotópica do carbono.

Para determinar a meia vida na condição de 50% e o tempo de troca total do ^{13}C do tecido pelo da dieta (considerada acima de 95% de troca), foi utilizada a equação 3:

$$t = -\frac{1}{k} \ln(1 - F) \quad (3)$$

Onde:

t = tempo de troca do carbono

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

F = fração de átomos trocados

Observação: Para F=0,5 temos a meia vida (t=T), a qual representa a troca de 50% do carbono-13 para cada tecido em análise.

Zuanon et al.(2007), avaliando o *turnover* do carbono muscular de Tilápias do Nilo em crescimento, utilizaram o modelo matemático proposto por Ducatti et al. (2002) avaliando a substituição do carbono tecidual em animais adultos, o qual mostrou adequado para animais em crescimento. De acordo com estes autores, o acréscimo de massa tecidual decorrente do crescimento é o principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual, em relação ao *turnover* metabólico, em animais jovens.

Mituo (2008) avaliando o *turnover* do carbono em diferentes tecidos de frango de corte, concluiu que, dentre os tecidos analisados, o fígado apresenta meia-vida curta, com *turnover* rápido, podendo ser indicador de dietas dadas recentemente aos frangos de corte. A tíbia apresenta meia-vida maior, com *turnover* lento, sendo indicada como o tecido que reflete por mais tempo o valor isotópico da dieta antiga. Esses trabalhos mostram que a escolha do tecido para estudo, influencia nos resultados de *turnover*.

4. Linhagens

Segundo Figueiredo (2001) tecnicamente podem ser considerados sinônimos os termos sistema orgânico, ecológico, biológico, biodinâmico, natural, sustentável, regenerativo e agroecológico, assim como, também podem ser considerados sinônimos de Frango Caipira, Frango Colonial, Frango Tipo Caipira, Frango Estilo Caipira, Frango Tipo Colonial, Frango Estilo Colonial e Frango Verde. Entretanto, deve-se levar em consideração a relação entre os termos regionais de uso mais restrito, como é o caso do Frango da Roça, Frango de Capoeira, Galinha Pé Duro, Galinha Nativa e Frango Índio que podem ser considerados sinônimos sob a denominação de galinhas nativas.

O emprego da designação Frango Caipira ou Colonial; Frango Tipo ou Estilo Caipira ou Colonial foi normatizado pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) por meio do DIPOA (Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal), Ofício Circular DOI/DIPOA número 007/99 de 19 de maio de 1999, complementado pelo Ofício Circular DOI / DIPOA número 014 / 2000 de 11 de maio de 2000.

A referida norma estabeleceu que a criação pode ser intensiva, semi-intensiva ou extensiva devendo as linhagens serem exclusivamente para este fim, criadas sem uso de medicamentos contra as doenças e parasitas, antibióticos melhoradores de

desempenho, quimioterápicos e ingredientes de origem animal na dieta, além de menor densidade de aves por metro quadrado e o abate dessas aves realiza-se com a idade mínima de 85 dias.

Segundo Albino et al., (2001) as principais raças puras utilizadas para a formação das linhagens coloniais são: Rhode Island Red (plumagem vermelho- escura), New Hampshire (plumagem vermelho-brilhante) e Plymouth Rock Barrada (plumagem branco- acinzentado ou carijó). Os mesmos autores citam que o cruzamento dessas linhagens com outras linhagens comerciais viabiliza aos produtores maior flexibilidade quanto à necessidade ou não em adquirir pintos de um dia; além de melhorar o plantel de aves coloniais típicas.

A criação de aves para produção de frango tipo colonial é um dos segmentos da avicultura alternativa que tem se mostrado promissor, tendo em vista os consumidores que demandam produtos mais saborosos, carnes mais firmes e com sabor pronunciado. Estas características correspondem a animais adultos, perto da maturidade sexual (BASTIANELLI, 2001).

É possível observar diferenças acentuadas na forma, tamanho e cores, entre as diversas linhagens coloniais, conforme seu destino de produção. Peculiaridades maiores podem ser detectadas comparando-se estas linhagens com suas raças de origem, tipo de crescimento, sendo que estas diferenças são refletidas na musculatura esquelética e desempenho (RODRIGUES et al. 2008).

Existem vários híbridos de frangos de corte com características próprias de desempenho. Alguns são mais precoces e têm crescimento acelerado na fase inicial de criação, enquanto outros são mais tardios. Desta forma, a avaliação de diferentes linhagens é essencial para obter dados atualizados acerca das características produtivas que melhor atendam as necessidades do consumidor (MOREIRA et al. 2003).

Dentre as inúmeras linhagens de frangos tipo coloniais pode-se destacar pelo tipo de crescimento de várias linhagens coloniais que são criadas no Brasil como as linhagens de crescimento lento: Label Rouge Pesadão, Label Rouge ou Pescoço pelado, Caipirinha, Carijó Barbado; Crescimento intermediário: Paraíso Pedrês, Vermelho Pesado ou Carijó Pesado, Embrapa ou Colonial 041; Crescimento rápido: Máster Griss, Caipirão e linhagem 7P (Pinto Preto Pesado de Pasto de Pescoço Pelado de Piracicaba) (COELHO e SAVINO, 2007).

Figueiredo et al. (2003) descrevem a avicultura colonial como sendo o tipo de criação em que os pintos são produzidos em incubatórios e, geralmente, vêm vacinados contra *Marek* e *Bouba*. São provenientes de matrizeiros que fazem cruzamentos industriais específicos e apresentam controle de qualidade e velocidade de crescimento médio, diferentemente do frango de corte industrial que possui alta velocidade de crescimento.

Helmeister Filho (2003), trabalhando com linhagens de frango Caipirinha e Label Rouge (ambas de crescimento lento) e Pinto Preto Pesado de Pasto Pescoço Pelado de Piracicaba (7P) e Paraíso Pedrês (ambas de crescimento rápido), observou que a idade onde os animais alcançaram 2,3kg, considerada ideal para o abate, diferiu entre as linhagens, confirmando as características citadas pelos fornecedores quanto à velocidade de crescimento, apresentando Label Rouge a idade de 83,5 dias, seguido por Caipira com 76,25 dias, 7P 62,12 dias e Paraíso Pedrês, 60,87 dias. Quanto à conversão alimentar, 7P, apresentou os melhores resultados (1,87) e Label Rouge os piores (2,46).

Comparando aves de crescimento rápido, Santoset al. (2005) observaram que à linhagem Isa Label apresentou menor potencial de crescimento em relação a linhagem Paraíso Pedrês. Segundo os autores, isso se deu em função das aves Paraíso Pedrês resultarem de cruzamentos entre aves com maior potencial para ganho de peso, mas ambas apresentaram crescimento mais lento em relação à linhagem comercial Cobb. Seguindo este padrão, Paraíso Pedrês, mantiveram o crescimento acelerado até 49 dias de idade e Isa Label até 56 dias, demonstrando Paraíso Pedrês ser a linhagem com maior capacidade de crescimento inicial, resultando menor idade ao abate.

Takahashi et al. (2006), ao trabalharem com quatro linhagens sendo, uma comercial (Ross-308) e três coloniais (Caipirinha, Pescoço Pelado e Paraíso Pedrês) e dois sistemas de criação (confinado e semi-confinado), observaram que o desempenho das linhagens coloniais não foi afetado pelo sistema de criação. Entre as linhagens, a Ross apresentou valores superiores de desempenho e rendimento que as demais e, entre as coloniais, a Paraíso Pedrês é que apresentou melhor resultado de desempenho e rendimento, sendo recomendado escolher a linhagem de acordo com o interesse do mercado, devido às diferenças entre elas.

Madeira et al. (2010) avaliaram quatro linhagens, sendo uma comercial (Ross) e três linhagens coloniais (Label Rouge, Vermelhão Pesado e Master Griss) em dois sistemas de criação (confinado e semi-confinado). Estes autores também observaram que o desempenho das linhagens coloniais não foi afetado pelo sistema de criação. Notaram que o desempenho das linhagens aves da linhagem comercial Ross apresentaram maiores rendimentos de peito e de carne de peito que as das demais linhagens coloniais Label Rouge e Vermelhão Pesado, que não diferiram entre si, sendo que o menor rendimento de peito foi verificado para a linhagem Máster Griss.

5. Justificativa

A diferença na razão isotópica de carbono presente em ingredientes utilizados na alimentação animal oferece a possibilidade de utilizá-los como traçadores nos tecidos animais. Como estes ingredientes são consumidos pelos animais, a *impressão digital isotópica* destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo. Assim, a técnica de isótopos estáveis pode ser indicada para avaliar o tempo de substituição do carbono nos tecidos animais, como traçador natural da dieta. Estas taxas de *turnover* em animais e principalmente em aves criadas para fins zootécnicos são ainda bem pouco conhecidas.

São várias as pesquisas onde a técnica dos isótopos estáveis pode ser aplicada por meio da análise de tecidos animais, como por exemplo, na rastreabilidade de ingredientes de origem animal na alimentação de aves, o que poderia possibilitar a certificação destas aves para o mercado importador.

No entanto, para esta linha de pesquisa, é necessário conhecer o tempo de substituição do carbono nos tecidos, em função das diferenças fisiológicas, nas diferentes fases de crescimento dos frangos.

O Capítulo II intitulado ***Turnover do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento.*** encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento.

O Capítulo III intitulado ***Turnover do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento.*** Encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento.

6. Referências Bibliográficas

ALBINO, L. F. T. Níveis de energia da dieta e da temperatura ambiente sobre a composição da carcaça em frangos (músculo e gordura). In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Anais...**Campinas, p. 3 - 79, 2001.

ARAÚJO, P.C.; SARTORI, J.R.; CRUZ, V. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PELÍCIA, V. C. Rastreabilidade de farinha de vísceras de aves por isótopos estáveis em penas de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (Online), v.46, p.538 - 545, 2011.

ARENALES, M. C. Produção orgânica de aves de postura e corte. **Revista Agroecologia hoje**, ano III, n.18, p.11-13, 2003.

BASTIANELLI, D.A Produção de frangos diferenciados na França: mercado, aspectos organizacionais e regulamentares. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA,p.235-254.2001.

BRASIL. Ofício Circular DOI / DIPOA n ° 007/99 de 19 de maio de 1999. Dispões sobre o Registro do Produto "Frango Caipira ou Frango Colonial" ou "Frango Tipo ou Estilo Caipira" ou "Tipo ou Estilo Colonial". *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 20, de 21/07/1999. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes - sal e salmoura. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília, 1999.

BRUMANO, G; GATTÁS, G. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento em rações de aves e suínos. **Revista Electronica Nutritime**, v.6, n.2, p. 856-875, 2009.

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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.8, p.37-42, 2006.

COELHO, A.A.D.; SAVINO, V.J.M. Nota prévia: características da carcaça e da carne de genótipos de frangos caipiras. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n.1, p. 9-15, 2007.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.12, p.133-149, 1957.

CRUZ, V.C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A.C.; PINHEIRO, D.F.; SARTORI, J.R.; CARRIJO, S.A. Influence of diet assimilation and turnover of ^{13}C in tissue of broiler chickens. **British Poultry Science**, 46 (3): 382-389. 2005.

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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.8, 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

animalmeals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.10, p.189-194, 2008.

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica Cosmochimica Acta**, v.42, p.495-506, 1978.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.51, n.2, p.275-286, 1979.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; MANCERA, P.F.A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **ScientiaAgrícola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.29-33, 2002.

FANATICO, A.C.; PILLAI, P. B.; HESTER, P.Y; FALCONE, C.; MENCH, J.A.; OWENS, C.M; EMMERT, J.L. Performance, livability, and carcass yield of slow- and fast-growing chicken genotypes fed low-nutrient or standard diets and raised indoors or with outdoor access. **Poultry Science**, v.87, p.1012–1021, 2008.

FIGUEIREDO, E. A.P. Diferentes denominações e classificação brasileira de produção alternativa de frangos. In: Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola- APINCO, Campinas, 2001. **Anais...** Campinas, p.209 -222, 2001.

FIGUEIREDO, E.A.P.; SCHMIDT, G.S.; LEDUR, M.C.; AVILA, V.S. **Raças e linhagens de galinhas para criações comerciais e alternativas no Brasil**. ComunicadoTécnico 347. EMBRAPA. 2003.

GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.

GARCIA, R.G.; CALDARA, F.R.; ABREU, A.P.N.; DEMATTÊ FILHO, L.C.D.; PEROSA, J.M.Y. **Perspectivas de mercado do frango certificado alternativo no Estado de São Paulo**. Projeto da disciplina de Tópicos em Sistemas de Gestão Agroalimentar, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu, 2002.

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

HETENYI, G.J.R.; PEREZ, G.; VRANIC, M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. **Physiological Reviews**, v.63, n.2, p.606-667, 1983.

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

KENNEDY, B.V.; KROUSE, H.R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology**, v.68, p.960-972, 1990.

LIMA, A.M.C.; NÄÄS, I.A. Evaluating two systems of poultry production: conventional and free-range. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.7, n.4, p.215-220, 2005.

MADEIRA, L.A.; SARTORI, J.R.; ARAUJO, P.C.; PIZZOALANTE, C.C.; SALDANHA, E.P.B.; PEZZATO, A.C. Avaliação do desempenho e do rendimento de carcaça de quatro linhagens de frangos de corte em dois sistemas de criação. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.39, n10, p.2214-2221, 2010.

MICROCAL SOFTWARE *ORIGINPRO*[®] 8.0 Professional. **Origin Data Analysis and Technical Graphics**.USA, Microcal Software Inc., 2007.

MITUO, M.A.O. **Turnover do carbono-13 nos tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

MOREIRA, J.; MENDES, A.A.; GARCIA, E.A.; OLIVEIRA, R.P.; GARCIA, R.G.; ALMEIDA, I.C.L. Avaliação de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne do peito de frangos de linhagens de conformação versus convencionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1663-1673, Suplemento. 1, 2003.

MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J.C.; PELICIA, K.; GOTTMANN, R.; MITUO, M.A.O.; BORDINHON, A.M. Traceability of Animal Byproducts in Quail (*Coturnixcoturnix japonica*) Tissues using Carbon (¹³C/¹²C) and Nitrogen (¹⁵N/¹⁴N) Stable Isotopes. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, n. 4, p.263 - 269, 2007.

MÓRI C.; DUCATTI C.; PIZZOLANTE C.C.; KAKIMOTO S.K.; DENADAI J.C. Traceability of animal meals in Japanese quail eggs using the technique of ¹³C e ¹⁵N stable isotopes **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.15,n.1, P. 59-64, 2013.

O'LEARY, M.H. Carbon isotope fractionation in plants.**Phytochemistry**, v.20, n.4, p.553-567, 1981.

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 of different tissues. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, p. 13-20, 2010.

PRESTON, T. The measurement of stable isotope natural abundance variations. In: Plant, cell and environment. V.15, p. 1091-1097, 1992.

RODRIGUES, K.F.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Relação lisina digestível:proteína bruta em dietas para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.450-457, 2008.

SANTOS, A.L.; SAKAMURA, N.K.; FREITAS, E.R.; FORTES, C.M.L.S.; CARRILHO, E.N.V.M.; FERNANDES, J.B.K. Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1589-1598, 2005.

SERNAGIOTTO, E.S.; 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 Isotopes for the Detection of Poultry Offal Meal in Meat-Type Quail Feeds. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.15,n.1, P. 65-70, 2013.

SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of higher plants. **Plant Physiology**, v.47, p.380-384, 1971.

TAKAHASHI, S.E.; MENDES, A.A.; SALDANHA, E.S.P.B.; PIZZOLANTE, C.C.; PELÍCIA, K.; GARCIA, R.G.; PAZ, I.C.L.A.; QUINTEIRO, R.R. Efeito do sistema de criação sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte tipo colonial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p. 624-632, 2006.

TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W.; TESDAHL, K.G.; SLADE, N.A. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. **Oecologia**, Berlin, v.57, p.32-37, 1983.

VOGEL, J.C.; EHLERINGER, J. R.; HALL; A. E.; FAQUHAR, G. D. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: **Stable isotopes and plant carbon-water relations**. San Diego: Academic Press Inc., p.29-46, 1993.

ZUANON, J.A.S.; PEZZATO A.C.; DUCATTI C.; BARROS M.M.; PEZZATO, L.E.; PASSOS, J.R.S. Muscle delta ¹³C change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed on C₃ or C₄ cycle plants grain-base diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.761-765, 2007.

CAPÍTULO II

***Turnover* do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento**

Resumo -Este trabalho teve como objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento. Foram alojados 768 pintos de um dia de idade, divididos em 6 grupos (G). Para avaliar o *turnover* nos tecidos, o grupo G0-21 recebeu dieta composta predominantemente por plantas do ciclo C₃, os demais grupos tiveram a dieta C₄ substituída pela dieta C₃ aos 7 (G7-35), 14(G14-49); 21(G21-63), 28 (G28-84) e 35(G35-119) dias de idade. Foram coletadas amostras de músculo peitoral e quilha de 4 aves/grupo nos dias de coleta das aves tiveram suas dietas previamente substituídas para a determinação das razões isotópicas de carbono em espectrômetro de massa. Para mensurar a velocidade de substituição do carbono depois de determinado intervalo de tempo (*turnover*), foi empregada função exponencial de tempo obtida através do método de equações exponenciais de primeira ordem do *softwareOriginPro*^{®8} *Professional*. A Linhagem Label Rouge, apresenta maior *turnover* do carbono nos tecidos analisados comparado com as demais linhagens. A idade e os tecidos analisados influenciaram o *turnover* de carbono-13, variando seus valores em função da atividade metabólica do tecido. A quilha e o músculo peitoral apresentaram rápida taxa de metabolismo na primeira semana de vida das aves, com valores de meias-vidas muito próximas, enquanto que nas aves mais velhas apresentaram taxas metabólicas consideravelmente diminuídas.

Termos para indexação: desenvolvimento, Label Rouge, Máster Griss, metabolismo e Vermelhão Pesado

Carbon-13 turnover in pectoral muscle and keel of colonial broiler chickens strains at different stages of growth

Abstract -This study aimed to assess the carbon-13 turnover in pectoral muscle and keel of three colonial broiler chicken strains, Máster Griss (MG), Vermelhão Pesado (VP), and Label Rouge (LR) at different stages of growth. Were housed 768 one-d-old chicks, and distributed into 6 groups (G). To assess the tissue turnover, the group G0-21 received a diet consisting primarily of C₃ plants cycle, the other groups had the diet replaced by C₄ to C₃ diet at 7 (G7-35), 14 (G14-49), 21 (G21 -63), 28 (G28-84), and 35 (G35-119) days of age. Pectoral muscle and keel samples were collected from 4 birds/group in several consecutive days the birds have their diets previously substituted for the determination of carbon isotope ratios in the mass spectrometer. To measure the speed of carbon substitution after a certain time interval (*turnover*) was employed exponential function of time obtained through the method of the first order exponential equations of software OriginPro[®]8 Professional. The Label Rouge strain has a higher carbon turnover in the tissues analyzed compared with the other strains. The age and tissues analyzed affected the carbon-13 turnover, varying their values depending of the metabolic function of the tissue. The keel and pectoral muscle showed fast metabolism rate in the first week of bird life, with values of half-lives very close, whereas in older birds showed significantly decreased metabolic rates.

Index terms: development, Label Rouge, Máster Griss, metabolism and Vermelhão Pesado

Introdução

A criação de aves para produção de frango tipo colonial é um dos segmentos da avicultura alternativa que tem se mostrado promissor, tendo em vista os consumidores que demandam produtos mais saborosos, textura da carne mais firme e com sabor pronunciado. Estas características correspondem a animais adultos, perto da maturidade sexual (Bastianelli, 2001).

É possível observar diferenças acentuadas na forma, tamanho e cores entre as diversas linhagens coloniais, conforme seu destino de produção. Peculiaridades maiores podem ser detectadas comparando-se linhagens com suas raças de origem e tipo de crescimento, sendo que estas diferenças são refletidas na musculatura esquelética e desempenho (Rodrigues et al., 2008).

O crescimento das aves é influenciado por diversos fatores, tais como linhagem, temperatura, manejo, nutrição, sexo e idade das aves. Dependendo da condição ambiental que estão sendo criados os animais, a genética irá influenciar a produção, o comportamento e as condições fisiológicas (Furlan et al., 1999, Castelline et al., 2002; Seroglu et al., 2009).

Entretanto, é interessante escolher a linhagem de acordo com o interesse do mercado devido às diferenças encontradas entre elas. Em função da preocupação dos consumidores pela qualidade dos alimentos, vêm crescendo a demanda por carnes oriundas de sistemas de produção que garantam a segurança alimentar (alimentação isenta de farinhas de origem animal, antibióticos, promotores de crescimento), além da preocupação com o bem-estar animal (Arenales, 2003).

O desenvolvimento de métodos de análises diretas dos produtos de interesse pode fornecer aos consumidores informações sobre a qualidade dos produtos, sendo que

sistema de rastreabilidade eficaz contribui para a prevenção de fraudes e aumenta a confiança do consumidor.

O uso da técnica dos isótopos estáveis de carbono apresenta potencial de aplicação prática na nutrição animal, utilizando como marcador o ^{13}C e sua concentração natural existente nos alimentos, sendo alternativa para estudar processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo dos animais (DeNiro & Epstein, 1978).

Para o processo de rastreabilidade, o tecido escolhido deve refletir a dieta precedente com a finalidade de poder detectar sinais de assimilação isotópica dos ingredientes a serem rastreados, mesmo que estes sejam fornecidos apenas em uma fase da vida do animal. A escolha do tecido a ser estudado é importante, pois tecidos que são mais ativos metabolicamente no organismo apresentaram taxas de *turnover* mais rápidas, como o fígado, músculo e sangue, e os tecidos menos ativos apresentaram menores taxas de *turnover*, como o colágeno e o osso (Hobson & Clark, 1992; Gannes et al., 1998).

Avaliando o *turnover* de carbono no tecido muscular de Tilápias do Nilo, Zuanon et al., (2007) verificaram que o modelo matemático proposto por Ducatti et al., (2002) para avaliar a substituição do carbono tecidual em animais adultos, é adequado para animais em crescimento, já que a constante de diluição isotópica de carbono obtida, integra o efeito do crescimento do tecido, adição de tecido e do *turnover* metabólico. Assim o acréscimo de massa tecidual decorrente do crescimento é o principal fator na determinação da velocidade do *turnover* metabólico em animais jovens. Estas taxas de *turnover* em animais e principalmente em aves criadas para fins zootécnicos são ainda bem pouco conhecidas.

Desta forma, este trabalho objetivou avaliar o *turnover* do carbono-13 no músculo peitoral e quilha de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na UNESP, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP - Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves. Foram utilizadas 768 aves de frango tipo colonial, sendo 256 da linhagem Máster Griss, 256 da linhagem Vermelhão Pesado e 256 da linhagem Label Rouge, criadas em sistema intensivo evacinados no incubatório contra as doenças de *Gumboro*, *Marek*, *Bouba Aviária* e *Coccidiose*.

As aves foram alojadas com um dia de idade, sendo que a água e ração eram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. A temperatura e ventilação foram controladas a fim de manter-se na zona de conforto térmico durante todo o período de criação.

O programa de arraçamento foi dividido em três fases, sendo utilizadas as seguintes rações: inicial de 1-28 dias, crescimento de 29-56 dias e final de 56-119 dias de idade. As composições e os valores nutricionais calculados e sinal isotópico analisado das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 1, atendendo as exigências nutricionais das aves segundo recomendações de Figueiredo et al. (2003).

Tabela 1. Composição centesimal, valores nutricionais calculados e valores isotópicos das rações experimentais.

INGREDIENTES	INICIAL		CRESCIMENTO		FINAL	
	C ₃	C ₄	C ₃	C ₄	C ₃	C ₄
Milho, fubá	-	58,53	-	66,28	-	67,34
Arroz, quirela	59,23	-	66,21	-	67,30	-
Trigo, farelo	4,90	6,00	2,70	3,17	6,76	7,26
Soja, farelo	31,08	31,12	25,99	26,16	20,98	21,14
Soja, óleo	0,43	-	0,66	-	0,67	-
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Calcário calcítico	1,10	1,16	1,17	1,26	1,25	1,34
Fosfato bicálcico	1,91	1,83	1,85	1,73	1,55	1,44
DL-metionina	0,08	0,11	0,08	0,11	0,08	0,11
L-treonina	0,13	0,10	0,21	0,17	0,28	0,25
Colina, cloreto	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04
Supl. vitamínico e mineral	0,60 ⁽¹⁾	0,60 ⁽¹⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores Calculados						
EM, kcal/kg	2800	2799	2900	2900	2900	2900
Proteína bruta,	20,00	20,00	18,00	18,00	16,50	16,50
Ca,	1,00	1,00	1,00	1,00	0,95	0,95
P disponível,	0,46	0,46	0,43	0,43	0,38	0,38
Metionina,	0,40	0,40	0,38	0,38	0,35	0,35
AAS,	0,72	0,74	0,67	0,69	0,63	0,65
Lisina	1,05	1,03	0,92	0,90	0,80	0,78
Treonina	0,86	0,86	0,86	0,86	0,85	0,86
Potássio	0,68	0,60	0,60	0,66	0,51	0,58
Sódio	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Cloro	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Ácido linoléico	0,64	0,64	0,76	0,79	0,76	0,77
Valores isotópicos(‰)⁽³⁾	-27,96	-18,97	-28,69	-17,60	-29,48	-17,06

¹Premix para aves de corte inicial (kg/produto) Vaccinar: Ácido fólico (125mg/kg); ácido pantotênico (2000mg/kg); BHT (1000mg/kg); biotina (4,17mg/kg); cobre (1,667mg/kg); colina(50g/kg); ferro (8,334mg/kg); fitase (83,33ftu/kg); iodo (142mg/kg); manganês (11,67g/kg); niacina (5,883mg/kg); selênio (50mg/kg); vitamina A (1333500UI/kg); vitamina B1 (250mg/kg); vitamina B12 (2000mcg/kg); vitamina B2 (833mg/kg); vitamina B6 (467mg/kg); vitamina D3 (333500UI/kg); vitamina E (2500UI/kg); vitamina K3 (300mg/kg); zinco (10g/kg).

²Premix para aves de corte em crescimento (kg/produto) Vaccinar: Ácido fólico (117mg/kg); ácido pantotênico (1667mg/kg); BHT (1000mg/kg); biotina (2,5mg/kg); cobre (1,667mg/kg); colina(42g/kg); ferro (8,333mg/kg); fitase (83,33ftu/kg); iodo (142mg/kg); manganês (11,67g/kg); niacina (5000mg/kg); selênio (30mg/kg); vitamina A (1133330UI/kg); vitamina B1 (167mg/kg); vitamina B12 (1667mcg/kg); vitamina B2 (667mg/kg); vitamina B6 (333mg/kg); vitamina D3 (250000UI/kg); vitamina E (2000UI/kg); vitamina K3 (266mg/kg); zinco (10g/kg).

³Valores isotópico analisados expresso em $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao padrão *PeeDeeBelemnte* (PDB).

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas por grãos de plantas do ciclo fotossintético C₄, que ao nascerem, possuíam em seus tecidos corporais valores isotópicos (19,50‰) de carbono-13 semelhantes ao destas dietas.

Para avaliar a taxa de *turnover* nos tecidos, as aves do grupo G0-21 receberam dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C₃, desde a chegada das aves. O grupo G7-35 teve sua dieta substituída pela dieta C₃ no 7º dia de idade das aves; o grupo G14-49 passou a receber dieta C₃ no 14º dia de idade; o grupo G21-63 teve sua dieta substituída no 21º dia, o grupo G28-84 no 28º dia, o grupo G35-119 a mudança ocorreu no 35º dia de idade das aves, como demonstra Tabela 2. A substituição semanal permitirá avaliar o *turnover* tecidual em várias fases de crescimento da ave, já que no período inicial o metabolismo da ave é mais rápido, podendo haver troca total dos sinais isotópicos na primeira semana de vida dependendo do tecido analisado. A primeira coleta de cada grupo foi realizada sempre no momento anterior à troca das dietas para detecção do sinal isotópico inicial dos tecidos.

Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais.

Grupos	Substituição das dietas C ₄ pela C ₃	Período avaliado, dias	Coleta das amostras (dias)
G0-21	0*	0 a 21	0, 1, 2, 3, 5, 8, 11, 14 e 21
G7-35	7	7 a 35	7, 8, 9, 12, 16, 21, 28 e 35
G14-49	14	14 a 49	14, 15, 16, 19, 23, 28, 35, 42 e 49
G21-63	21	21 a 63	21, 22, 23, 26, 30, 35, 42, 49, 56 e 63
G28-84	28	28 a 84	28, 29, 30, 33, 37, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84
G35-119	35	35 a 119	35, 36, 37, 40, 44, 49, 56, 63, 70, 77, 84; 91, 98, 112 e 119

*Dia 0 = considerado o momento de alojamento dos pintos de corte;

Para as análises isotópicas, nos dias de coleta foram tomados aleatoriamente quatro aves por grupo, sendo que cada uma delas considerada uma repetição. O número de coleta das amostras foi mais concentrado nos primeiros dias após a substituição da dieta, devido a maior velocidade na diluição isotópica do carbono no tecido durante essa fase (Hobson & Clark, 1992).

As amostras foram colhidas do músculo peitoral, obtidas a partir de uma fatia de 5cm do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo, para obtenção das amostras de quilha, foi retirado o prolongamento cartilaginoso do esterno e aparada a inserção com o osso por um corte transversal, formando um ângulo reto com a sua superfície dorsal, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e imediatamente congeladas a -20°C até a sua preparação e posteriores análises isotópicas.

As análises isotópicas das amostras de músculo peitoral, quilha e dietas experimentais foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, *Campus* de Botucatu. Inicialmente as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e lavadas com água destilada para retirada de qualquer contaminação de penas ou sangue, após, foram cortadas e secas em estufa de ventilação a 56°C por um período de 48 horas. Posteriormente moídas em moinho criogênico (*Spex-modo 6750 freezer/mill*, Metuchen, EUA), à -196°C por um período de 5 minutos para músculo peitoral e dietas experimentais e 8 minutos para a quilha, com rotação de 920 rpm em alta frequência, para obtenção de material homogêneo, com aspecto microscópico.

Para a realização das análises isotópicas, as amostras foram introduzidas em cápsulas de estanho e pesadas (50-70 μg) em balança analítica de alta sensibilidade,

com precisão de seis casas decimais. Para determinação da composição isotópica das amostras com abundância natural, foi utilizado o espectrômetro de massa de razões isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific, Alemanha*) acoplado ao Analisador Elementar (*Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*) no qual, em presença de oxigênio (O₂) e óxido de cobre (CuO), a amostra é queimada quantitativamente para obtenção de CO₂. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas.

Os resultados obtidos foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$, em relação ao padrão *PeedeeBelemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação 1:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{amostra, padrão})} = \left[\left(\frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} \right) - 1 \right] \times 10^3 \quad (1)$$

Onde:

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

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar a velocidade de substituição do carbono das dietas no tecido depois de determinado intervalo de tempo foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (Ducatti et al., 2002), obtida utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do *software OriginPro^{®8} Professional* (Microcal Software, 2007).

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

Onde:

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

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

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

k = constante de troca (*turnover*) em dia^{-1}

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

A constante k engloba os processos de *turnover* metabólico de carbono (a partir da substituição) e de acréscimo de compostos de carbono (devido ao crescimento), ambos contribuem para o processo de diluição isotópica do carbono.

Para determinar a meia vida na condição de 50% foi utilizada a equação 3:

$$t = -\frac{1}{k} \ln(1 - F) \quad (3)$$

Onde:

t = tempo de troca do carbono

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

F = fração de átomos trocados

Observação: Para $F=0,5$ temos a meia vida ($t=T$), a qual representa a troca de 50% do carbono-13 para cada tecido em análise.

Para determinar a porcentagem de átomos trocados (F) foi utilizada a equação 4:

$$F = 1 - e^{-kt} \quad (4)$$

F = fração de átomos trocados

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

t = tempo de troca do carbono

Os valores do fracionamento isotópico dos tecidos ao final do período experimental em relação à dieta foram calculados de acordo com DeNiro & Epstein (1978) pela equação 5:

$$\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}} \quad (5)$$

Onde:

Δ = fator de fracionamento entre o tecido e a dieta, em parte per mil (‰);

δ_{tecido} = enriquecimento relativo do tecido em questão, em parte per mil (‰);

δ_{dieta} = enriquecimento relativo médio da respectiva dieta, em parte per mil (‰);

Resultados e Discussão

As análises das razões isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ das dietas C_3 resultaram em valores de -27,96‰ para a ração inicial; -28,69‰ para ração de crescimento e -29,49‰ para a ração final. Os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ para as dietas formuladas do ciclo fotossintético C_4 foram de -18,97‰ para a ração inicial, -17,60‰ para a ração de crescimento e -17,06‰ para a ração final.

Apesar de cada tecido do animal apresentar assinatura isotópica e *turnover* distintos, o animal é aquilo que consome isotopicamente $\pm 1\text{‰}$ para ^{13}C , segundo DeNiro & Epstein (1978). Como as plantas são consumidas pelos animais, a *impressão digital isotópica* destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo (DeNiro & Epstein, 1978; Gannes et al., 1998). Portanto, como foi verificado neste estudo, a mudança do valor $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos (músculo peitoral e quilha) ocorreu ao longo do tempo em conjunto com o crescimento da ave, atingindo valores próximos ao da dieta (Tabela 3). Os resultados obtidos de *turnover* nos tecidos foram explicitados pela equação exponencial em função do tempo. As equações estão de acordo com os modelos propostos por Ducatti et al. (2002), que avaliaram a substituição de carbono tecidual em poedeiras adultas, e também por

Zuanon et al. (2007) que afirmaram que o modelo pode ser utilizado para animais em crescimento.

Tabela 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo peitoral e quilha das linhagens no início e no final dos períodos de cada grupo.

Grupos	Idade	$\delta^{13}\text{C}$, (‰)					
		Músculo Peitoral			Quilha		
		¹ LR	² VP	³ MG	¹ LR	² VP	³ MG
G0-21	0	-19,50	-19,69	-19,62	-18,45	-19,37	-18,54
	21	-26,45	-26,72	-26,69	-25,82	-25,84	-25,87
G7-35	7	-20,72	-20,56	-20,34	-18,64	-18,55	-18,49
	35	-26,28	-26,50	-26,55	-25,77	-25,81	-25,88
G14-49	14	-20,46	-20,52	-20,51	-18,34	-18,56	-18,17
	49	-26,80	-27,69	-26,38	-25,67	-25,73	-25,49
G21-63	21	-20,71	-20,46	-20,65	-17,80	-17,79	-17,62
	63	-28,63	-29,27	-29,54	-26,26	-25,85	-25,87
G28-84	28	-22,97	-23,01	-22,80	-18,19	-18,22	-18,22
	84	-29,75	-29,80	-29,84	-25,58	-25,61	-25,56
G35-119	35	-23,04	-22,97	-22,86	-17,67	-17,20	-17,27
	119	-28,85	-28,68	-28,43	-26,30	-26,36	-26,28

¹LR= Label Rouge; ²VP=Vermelhão Pesado; ³MG= Máster Griss

As equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem(%) de átomos trocados e os valores de fracionamentos isotópicos (diferença entre o δ do tecido e o da dieta ao final dos períodos de cada grupo), do músculo peitoral e quilha das linhagens Label Rouge (LR), Vermelhão Pesado (VP) e Máster Griss (MG), para cada fase de criação, obtidas nos diferentes grupos estudados encontram-se nas Tabelas 4 e 6 e os valores calculados de meia vida (T) do ^{13}C , representada pelo tempo necessário para 50% da troca do carbono dos tecidos ou 50% de incorporação do ^{13}C da dieta nos tecidos, encontram-se nas Tabelas 5 e 7, respectivamente.

Tabela 4. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do músculo peitoral.

Grupos	¹ Linhagens	Equações	r^2	% átomos trocados	Δ
G0-21	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,50 - 7,35 e^{-0,3751t}$	0,97	99,9	1,46
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,75 - 7,55 e^{-0,3244t}$	0,96	99,9	1,21
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,56 - 7,82 e^{-0,3528t}$	0,96	99,9	1,40
G7-35	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,11 - 5,60 e^{-0,1966t}$	0,97	99,6	2,58
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,31 - 5,82 e^{-0,1912t}$	0,99	99,5	2,38
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,35 - 3,75 e^{-0,1887t}$	0,98	99,5	2,34
G14-49	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,67 - 6,40 e^{-0,1421t}$	0,98	99,3	2,02
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,89 - 6,55 e^{-0,1298t}$	0,98	98,9	0,80
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,56 - 6,09 e^{-0,1363t}$	0,98	99,1	2,13
G21-63	LR	$\delta^{13}\text{C} = -28,58 - 7,40 e^{-0,0742t}$	0,95	95,6	0,91
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -28,95 - 8,13 e^{-0,0685t}$	0,96	94,4	0,54
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -29,27 - 8,53 e^{-0,0850t}$	0,98	99,9	0,22
G28-84	LR	$\delta^{13}\text{C} = -29,56 - 6,79 e^{-0,0692t}$	0,97	97,9	0,07
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -30,79 - 7,77 e^{-0,0515t}$	0,95	94,4	1,30
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -30,34 - 7,42 e^{-0,0631t}$	0,98	97,1	0,85
G35-119	LR	$\delta^{13}\text{C} = -28,15 - 4,76 e^{-0,0628t}$	0,96	99,5	1,34
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -28,06 - 5,17 e^{-0,0450t}$	0,94	97,7	1,43
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -27,52 - 4,71 e^{-0,0528t}$	0,92	98,8	1,97

¹LR= Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; r^2 = coeficientes de determinação

Tabela 5. Valores calculados de meia-vida T do carbono no músculo peitoral das diferentes Linhagens (em dias).

Grupos	G0-21	G7-35	G14-49	G21-63	G28-84	G35-119
¹ Linhagens	T	T	T	T	T	T
LR	1,84	3,53	4,87	9,33	10,01	11,04
VP	2,13	3,62	5,34	10,12	13,45	15,40
MG	1,96	3,67	4,70	8,15	10,98	13,13

¹LR= Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; T= meia vida do carbono - 50% de incorporação de ^{13}C da dieta nos tecidos;

Tabela 6. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens da quilha.

Grupos	¹ Linhagens	Equações	r^2	% átomos trocados	Δ
G0-21	LR	$\delta^{13}\text{C} = -25,95 - 8,05 e^{-0,3064t}$	0,97	99,8	2,01
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -25,96 - 7,50 e^{-0,3088t}$	0,93	99,8	2,00
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,17 - 8,19 e^{-0,2490t}$	0,96	99,5	1,79
G7-35	LR	$\delta^{13}\text{C} = -25,43 - 6,43 e^{-0,1679t}$	0,98	99,1	3,26
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -25,73 - 6,97 e^{-0,1520t}$	0,96	98,6	2,96
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -25,48 - 6,37 e^{-0,1489t}$	0,97	98,5	3,21
G14-49	LR	$\delta^{13}\text{C} = -25,65 - 7,43 e^{-0,1094t}$	0,99	97,8	3,04
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -25,85 - 7,47 e^{-0,0999t}$	0,98	97,0	2,84
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -25,74 - 7,52 e^{-0,1028t}$	0,99	97,3	2,95
G21-63	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,42 - 8,70 e^{-0,0681t}$	0,97	94,3	3,07
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,36 - 8,77 e^{-0,0740t}$	0,97	95,5	3,13
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,63 - 9,28 e^{-0,0760t}$	0,98	95,9	2,86
G28-84	LR	$\delta^{13}\text{C} = -25,47 - 7,80 e^{-0,0645t}$	0,98	97,3	4,02
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,01 - 8,04 e^{-0,0604t}$	0,99	96,6	3,48
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -25,75 - 7,80 e^{-0,0652t}$	0,98	97,4	3,74
G35-119	LR	$\delta^{13}\text{C} = -25,90 - 8,40 e^{-0,0681t}$	0,97	99,7	3,59
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,09 - 8,71 e^{-0,0528t}$	0,99	98,8	3,43
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -25,73 - 8,44 e^{-0,0528t}$	0,99	98,8	3,76

¹LR= Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; r^2 = coeficientes de determinação

Tabela 7. Valores calculados de meia-vida T do carbono da quilha das diferentes Linhagens (em dias).

Grupos	G0-21	G7-35	G14-49	G21-63	G28-84	G35-119
¹ Linhagens	T	T	T	T	T	T
LR	2,25	4,13	6,34	10,17	10,75	10,18
VP	2,24	4,56	6,93	9,37	11,48	13,13
MG	2,78	4,66	6,74	9,12	10,63	13,13

¹LR= Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; T= meia vida do carbono - 50% de incorporação do ^{13}C da dieta nos tecidos;

Notou nas Tabelas 4 e 6 que os valores obtidos demonstram que o fracionamento ocorre de maneira distinta entre os tecidos avaliados e entre as fases de desenvolvimento. Existe uma pequena alteração no fracionamento entre as fases de desenvolvimento em um mesmo tecido, porém, de maneira geral, os valores permanecem semelhantes, sendo claramente visível a diferença entre os tecidos. A variação isotópica entre os tecidos pode estar refletindo a variação na composição bioquímica destes (proteínas, carboidratos, lipídeos). DeNiro & Epstein (1978) demonstraram em seus estudos que essas frações bioquímicas apresentam sinais isotópicos distintos, sugerindo que estas alterações decorrem das inúmeras vias metabólicas que permitem a conversão de um isótopo de carbono de uma fração bioquímica a outro. Sendo assim as diferenças nos valores de fracionamento dos tecidos estão relacionados com a composição química de cada um. Tecidos como músculo e fígado são enriquecidos em $\delta^{13}\text{C}$ em 1-2‰ em relação ao valor médio dos tecidos da dieta, enquanto o colágeno dos tecidos ósseos em geral possui valores de $\delta^{13}\text{C}$ 4-5‰ mais altos do que aqueles encontrados na dieta Koch (2007). É importante, portanto, levar em consideração o tecido analisado ao se compararem valores obtidos de diferentes fontes.

As Figuras 1 e 2 ilustram o ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ^{13}C do músculo peitoral e da quilha das diferentes linhagens em cada grupo estudado.

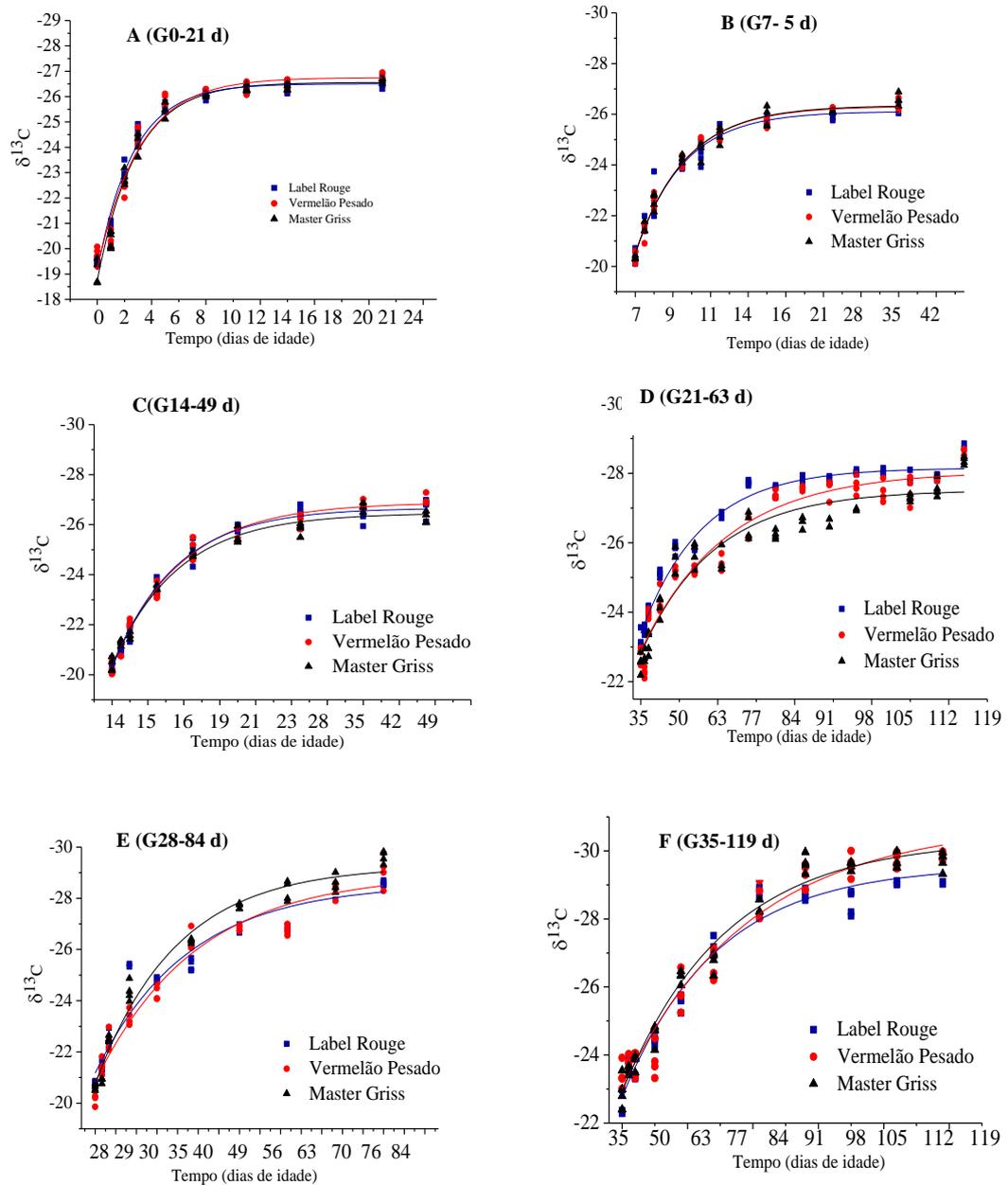


Figura 1. Ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ^{13}C do músculo peitoral de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119).

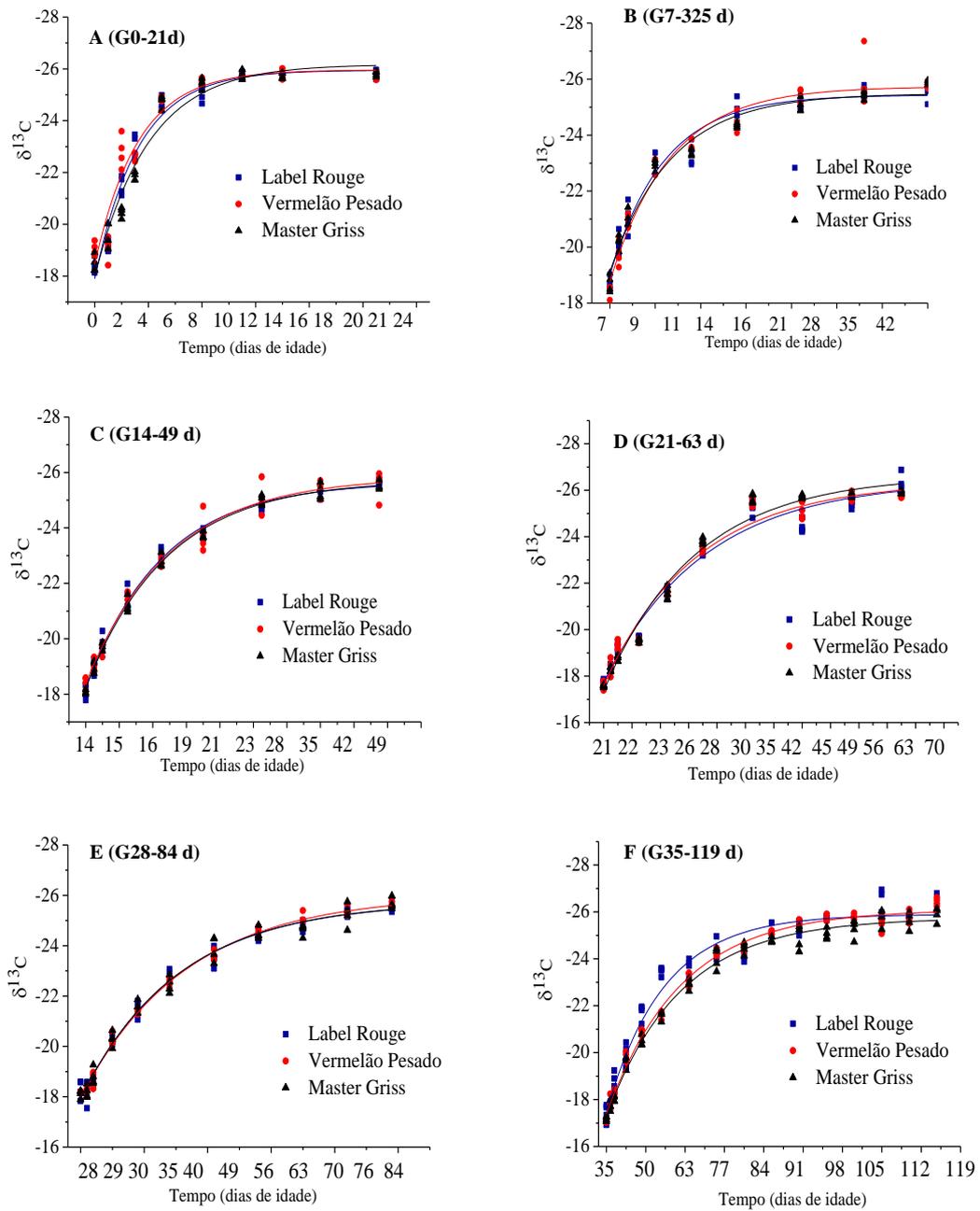


Figura 2. Ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ^{13}C da quilha de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21) dias; B (G7-35); C (G14-49); D (G21-63); E (G28-84); e F (G35-119).

Como pode-se observar nas Figuras 1 e 2, o músculo peitoral e a quilha atingiram o patamar de equilíbrio isotópico em todos os grupos analisados.

Na Figura 3 foi avaliado o ajuste não linear dos valores de meia vida em função da idade das aves, mostrando que os valores de meia vida dos tecidos aumentaram em função da idade de maneira sigmoideal, onde o desenvolvimento corporal dos animais após o nascimento pode ser representado por uma curva sigmoide (Hammond et al., 1983).

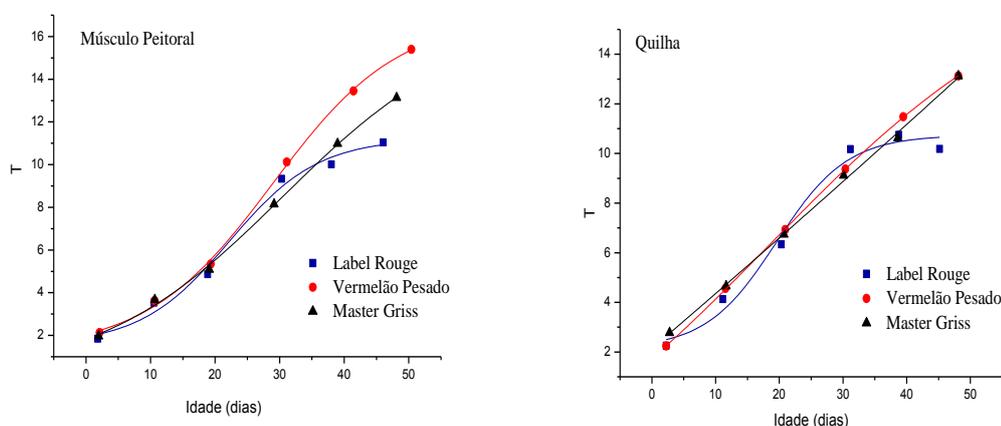


Figura 3. Ajuste não linear (sigmoideal) dos valores de meia vida da quilha e músculo peitoral em função da idade das diferentes linhagens Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss.

Analisando a Figura 3 foi possível observar que nos tecidos do músculo peitoral e da quilha, os valores de meia-vida nas linhagens Vermelhão Pesado e Máster Griss continuam aumentando com o avanço da idade, ou seja, as aves continuam crescendo, sendo que na linhagem Label Rouge nota-se uma tendência de haver uma estabilidade no seu crescimento.

Com o avançar da idade das aves a diferença entre os processos anabólicos e catabólicos vai diminuindo e o tecido praticamente cessa o crescimento, existindo apenas *turnover* tecidual, fenômeno onde a síntese e degradação na mesma proporção,

pois a síntese e degradação ocorrem ao mesmo tempo desde o nascimento (Gonzales & Sartori, 2002), conseqüentemente, a velocidade de troca de carbono vai diminuindo, aumento da meia-vida e tempo para troca total até se tornar constante.

Com base nos resultados desse estudo, presume-se que até a idade avaliada, a aves continuaram crescendo, onde a taxa de anabolismo é maior que a de catabolismo, já que as meias-vidas e o tempo necessário para troca total continuou aumentando.

Notou nas Tabelas 5 e 7 que tanto o músculo peitoral como a quilha apresentou aumento nos valores de meia-vida e troca total de carbono a cada período avaliado. Destaca-se também pelos valores observados, que o desenvolvimento da quilha acompanhou o do músculo peitoral até o grupo G14-49, uma vez que a quilha tem a função de sustentação do músculo peitoral. A partir dessa fase de crescimento (G14-49) a quilha passou a sofrer troca de carbono de maneira lenta, o que pode ser explicado pelo fato dela ser tecido que tem crescimento lento em relação ao músculo, iniciando após esse período o processo de calcificação, fato corroborado por Pelícia et al. (2012) ao analisar frango de corte da linhagem comercial *Cobb*.

Na Tabela 5, observa-se que o *turnover* do ^{13}C da quilha diminuiu à medida que as aves foram se tornando adultas, aumentando o tempo de troca do carbono neste tecido, fato esse confirmado por Mituo (2008) que observou em frangos de corte da linhagem comercial *Cobb*, que o tempo do *turnover* da quilha diminuiu conforme a idade da ave.

A deposição dos tecidos segue sequencia, ondeo primeiro a ser depositado é o tecido nervoso, a seguir vem o tecido ósseo, depois o muscular e por último o tecido adiposo (Lehninger,1995). Portanto no inicio da fase de vida dos animais o crescimento

ósseo é mais acelerado, o que explica o rápido *turnover* da quilha observados nos grupos G0-21, G7-35 e G14-49 na Figura 1.

Segundo Correia (1977), a quilha por ser cartilagem que está localizada ao fim do osso esterno é composta principalmente por fibras de colágeno, a qual não possui vasos sanguíneos, portanto o transporte de substâncias para a mesma é feita através da matriz extracelular. Essa característica torna este tecido elástico e resistente, tendo a função de proteger a extremidade óssea. As fibras de colágeno sofrem degradação diferente dos outros tecidos e das outras cartilagens, causando *turnover* lento em função do avanço da idade, e comportamento sigmoide não tão pronunciado. Rezende (2013) observou esse mesmo comportamento ao analisar a quilha de codornas de corte.

O *turnover* da Label Rouge foi o mais lento no grupo G21-63, intermediário nos grupos G0-21 e G28-84, porém para as demais fases, foi mais rápido. Com relação a linhagem Vermelhão Pesado, o *turnover* da quilha foi rápido no grupo G0-21, lento no G14-49 e G28-84 e para as demais fases o *turnover* foi intermediário. Pode-se também verificar que a linhagem Máster Griss teve o *turnover* rápido nos grupos G21-63 e G28-84, crescimento intermediário no G14-49 e lento nas demais fases (Tabela 5).

Com relação ao músculo peitoral, observou-se que o mesmo mostrou baixos valores de meia-vida e troca total no primeiro período avaliado (G0-21) e após esse período, apresentou aumento crescente nos valores de meia-vida e troca dos átomos de carbono, indicando que com o avanço da idade da ave, nas linhagens estudadas, o *turnover* tornou-se lento, aumentando o tempo de troca do carbono neste tecido. Efeito corroborado por Mituo (2008) que analisou a troca do carbono-13 no tecido do peito em frangos de corte em função do tempo, onde as meias vidas aumentaram com o avanço da idade da ave. Macari (2002) também cita que durante o crescimento as aves tem

inicialmente um incremento tecidual rápido, diminuindo com o passar do tempo até atingir o pleno desenvolvimento do tecido, quando então se torna nulo esse crescimento.

Analisando o comportamento das linhagens por meio da meia vida de carbono-13 no músculo peitoral das aves, (Tabela 7) o *turnover* do músculo peitoral das diferentes linhagens, no qual o *turnover* da Linhagem Label Rouge foi menor na fase inicial (G0-21 e G7-35). Com relação à linhagem Vermelhão Pesado, observou-se o *turnover* intermediário no grupo G7-35, e foi mais lento nos demais grupos e na linhagem Máster Griss, teve o *turnover* intermediário entre nas fases G0-21; G14-49; G28-84 e G35-119, sendo apenas mais rápido no grupo de G21-63.

Com relação ao desempenho zootécnico em diferentes linhagens de frango, Madeira et al. (2010) avaliaram quatro linhagens, sendo uma comercial (Ross) e três linhagens coloniais (Label Rouge, Vermelhão Pesado e Master Griss). As aves da linhagem comercial *Ross* apresentaram maiores rendimentos de peito e carne de peito que as das demais linhagens coloniais Label Rouge e Vermelhão Pesado, que não diferiram entre si e o menor rendimento de peito foi verificado para a linhagem Máster Griss.

No presente estudo foi possível observar que tanto na quilha quanto no músculo peitoral, a linhagem Label Rouge apresentou o metabolismo acelerado entre as três linhagens estudadas, expresso numa troca dos átomos de carbono rápida nos tecidos analisados, sugerindo ser linhagem com potencial de crescimento rápido, enquanto que as linhagens Vermelhão Pesado e Máster Griss, mostraram ter metabolismo lento, pois necessitaram de mais tempo para troca do carbono dos tecidos.

Estes diferentes comportamentos entre as linhagens estudadas em função da troca total de carbono-13 e meia vida, se deve, provavelmente, em função das diferenças genéticas envolvidas na obtenção dessas linhagens. Segundo Moreira et al. (2003), as

linhagens alternativas que existem hoje no mercado são de alto rendimento de carcaça, porém existem diferenças entre elas, pois o resultado final depende da seleção genética aplicada, que varia de acordo com a importância dessas características para o mercado a que se destina.

Michelam Filho & Souza (2001) afirmaram que, desde 1948, linhagens de frango de corte tem sido submetido a intenso processo de seleção e cruzamentos, descaracterizando as raças e originando linhagens específicas, com características próprias.

De acordo com os resultados obtidos de meia-vida e troca total do carbono deste estudo foram verificadas diferenças entre os tecidos do músculo peitoral e da quilha, onde pode-se constatar que o músculo peitoral foi o tecido que se mostrou metabolicamente mais ativo, apresentando rápida taxa metabólica. Pois no tecido muscular se concentram maior quantidade de proteínas do tecido animal, além deste ser fonte de glicogênio, fosfolipídios e colesterol. Em situação de deficiência ou desbalanço de aminoácidos, esse tecido é prontamente degradado para suprir outros tecidos considerados mais vitais, portanto, em função dessas características, pode-se caracterizar o músculo como um tecido metabolicamente ativo (Macari et al., 2002) como foi comprovado no presente estudo.

A quilha, quando comparado com o tecido do músculo, apresenta taxa metabólica lenta, e diminui consideravelmente com o avanço da idade das aves. A quilha por fazer parte da estrutura de sustentação e proteção ao músculo peitoral, também é tecido metabolicamente ativo e multifuncional e a exemplo dos tecidos ósseos, é constantemente sintetizado ao longo da vida por processo de *turnover* (Macari et al., 2002).

Em função dessas características no comportamento isotópico de meia vida e troca total de átomos de carbono, esses tecidos podem trazer informações sobre a dieta no processo de rastreabilidade, sendo a técnica dos isótopos estáveis uma ferramenta importante para a certificação de produtos avícolas, pois os isótopos estáveis servem como traçadores naturais na investigação de programas de alimentação (Tyrrell et al., 1984; DeNiro & Epstein, 1978).

Conclusão

- Nas condições do presente trabalho, a linhagem Label Rouge, apresenta menor tempo de troca dos átomos de carbono nos tecidos analisados, caracterizando-se uma linhagem de metabolismo mais rápido que a linhagem Máster Griss e Vermelhão Pesado.

- A idade e os tecidos analisados das aves influenciam o *turnover* de carbono-13, variando seus valores em função da função metabólica do tecido. O músculo peitoral apresenta maior taxa de metabolismo quando comparado a quilha em todas fases de vida das linhagens estudadas, sendo que ambos os tecidos apresentam taxas mais lentas com o avançar da idade. Em estudos de rastreabilidade a escolha do tecido dependerá da fase de crescimento das aves.

Referências

ARENALES, M.C. Produção orgânica de aves de postura e corte. **Revista Agroecologia Hoje**, ano III, n.18, p.11-13, 2003.

BASTIANELLI, D.A. Produção de frangos diferenciados na França: mercado, aspectos organizacionais e regulamentares. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...**Campinas: FACTA, p. 235-254.2001.

CORREIA, A.A.D. Bioquímica Animal. Lisboa: Fundação Calouste Gulbernkiam, p.914, 1977

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica Cosmochimica Acta**, v.42, p.495-506, 1978.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.29-33, 2002.

FIGUEIREDO, E.A.P.; SCHMIDT, G.S.; LEDUR, M.C.; AVILA, V.S. **Raças e linhagens de galinhas para criações comerciais e alternativas no Brasil.** Comunicado Técnico 347. EMBRAPA. 2003

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; MORAES, V.M.B. Alterações hematológicas egasométricas em diferentes linhagens de frangos de corte submetidos a estresse calórico agudo. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.1, n.1, p. 77-84, 1999.

GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.135-141, 2002.

HAMMOND J. BOWMAN J.R., ROBINSON T.J. Hammond's farm animals, 1983. p.1-305.

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

KOCH, P.L (2007) Isotopic study of the biology of modern and fossil vertebrates. In: Michener R, Lajtha K (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. 2nd edition. Blackwell Publishing, Boston, MA, pp. 99–154.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M.; **Principios de bioquímica**. Traduzido por Arnaldo Antônio Simões e Wilson Roberto Navega Lodi. 2ed, São Paulo: Savier, 1995.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.375, 2002.

MADEIRA, L.A.; SARTORI, J.R.; ARAUJO, P.C.; PIZZOALANTE, C.C.; SALDANHA, E.P.B.; PEZZATO, A.C. Avaliação do desempenho e do rendimento de carcaça de quatro linhagens de frangos de corte em dois sistemas de criação. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.39, n10, p.2214-2221, 2010.

MICHELAN FILHO, T.; SOUZA, E.M. Formação e características das linhagens atuais de frango. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas, SP. *Anais...* Campinas: FACTA, 2001. v.2. p.24-31.

MICROCAL SOFTWARE *ORIGINPRO*[®] 8.0 Professional. **Origin Data Analysis and Technical Graphics**.USA, Microcal Software Inc., 2007.

MITUO, M.A.O. **Turnover do carbono-13 nos tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

MOREIRA, J.; MENDES, A.A.; GARCIA, E.A.; OLIVEIRA, R.P.; GARCIA, R.G.; ALMEIDA, I.C.L. Avaliação de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne do peito de frangos de linhagens de conformação versus convencionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1663-1673, Suplemento. 1, 2003.

PELÍCIA, V.C.; ARAUJO, P.C.; STRADIOTTI, A.C.; MIRANDA, C.C.; LUIGGI, F. G.; FASANARO, R.; SARTORI, J.R.; SARTORI, M.M.P.; SILVA, E.T.; KRULISKI,

C.S.; DENADA, J.C.; PUTAROV, T.C.; PIMENTA, G.E.; DUCATTI, C. Pectoral muscle turnover in the broiler chicks by means of isotopic tracers In: **POULTRY SCIENCE ASSOCIATION ANNUAL MEETINGS** – PSA. Athens, 2012.

REZENDE, J.C.R. *Turnover isotópico do carbono-13 em diferentes tecidos de codornas de corte*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

RODRIGUES, K.F.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Relação lisina digestível: proteína bruta em dietas para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.450-457, 2008.

SEROGLU, A.; DEMIR, E. SARICA, M. ULUTAS, Z. Effects of housing systems on growth performance, blood plasma constituents and meat fatty acids in broiler chicks. **Pakistan journal of biological sciences**, v. 12, n.8, p.631-636, 2009.

TYRRELL, H.F.; PELLETIER, G.; CHEVALIER, R.; HILLAIRE-MARCELL, C.; GAGNON, M. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, suppl., p. 127-129, 1984.

CAPÍTULO III

***Turnover* do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de linhagens de frangos tipo colonial em diferentes fases de crescimento**

Resumo -Este trabalho teve por objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento. Foram alojados 768 pintos de um dia de idade, divididos em 6 grupos (G). Para avaliar o *turnover* nos tecidos, o grupo G0-21 recebeu dieta composta predominantemente por plantas do ciclo C₃, os demais grupos tiveram a dieta C₄ substituída pela dieta C₃ aos 7 (G7-35), 14 (G14-49) 21(G21-63), 28 (G28-84) e 35(G35-119) dias de idade. Foram coletadas amostras de sangue total e plasma sanguíneo de 4 aves/grupo em vários dias consecutivos das aves tiverem suas dietas previamente substituídas para a determinação das razões isotópicas de carbono em espectrômetro de massa. Para mensurar a velocidade de substituição do carbono depois de determinado intervalo de tempo (*turnover*), foi empregada função exponencial de tempo obtida através do método de equações exponenciais de primeira ordem do *software OriginPro*^{®8} *Professional*. A linhagem Label Rouge, apresenta taxa metabólica maior na troca de carbono-13 nos tecidos analisados comparada com as demais linhagens. O tecido animal influencia o *turnover* de carbono-13, dependendo da velocidade com que o mesmo é metabolizado, onde o plasma sanguíneo apresenta rápida taxa de metabolismo, com valores de meias-vidas muito próximas e o sangue apresenta uma taxa de metabolismo mais lento.

Termo para indexação: isótopos estáveis, Label Rouge, Máster Griss, metabolismo e Vermelhão Pesado

Carbon-13 turnover in whole blood and blood plasma of colonial broiler chickens strains at different stages of growth

Abstract - This study aimed to assess the carbon-13 turnover in blood and blood plasma of three colonial broiler chicken strains, Máster Griss (MG), Vermelhão Pesado (VP), and Label Rouge (LR) at different stages of growth. Were housed 768 one-d-old chicks, and distributed into 6 groups (G). To assess the tissue turnover, the group G0-21 received a diet consisting primarily of C₃ plants cycle, the other groups had the diet replaced by C₄ to C₃ diet at 7 (G7-35), 14 (G14-49), 21 (G21 -63), 28 (G28-84), and 35 (G35-119) days of age. Whole blood and blood plasma samples were collected from 4 birds/group in several consecutive days the birds have their diets previously substituted for the determination of carbon isotope ratios in the mass spectrometer. To measure the speed of carbon substitution after a certain time interval (turnover) was employed exponential function of time obtained through the method of the first order exponential equations of software OriginPro[®] 8 Professional. The Label Rouge strain has a higher carbon turnover in the tissues analyzed compared with the other strains. The animal tissue influences the carbon-13 turnover, depending of the speed with which it is metabolized, where the blood plasma exhibits fast metabolism rate, with half-lives values very close, and the whole blood has a slower metabolism rate.

Index terms: Label Rouge, Máster Griss, metabolismo, stable isotopes and Vermelhão Pesado

Introdução

A técnica de avaliação da variação natural dos isótopos estáveis representa potencial ferramenta para as pesquisas com animais na área da nutrição, fisiologia e rastreabilidade, uma vez que a composição isotópica dos elementos químicos do tecido dos animais assemelha-se ao de suas dietas (DeNiro & Epstein, 1978; Hobson & Clark, 1992). Segundo DeNiro & Epstein (1978) a incorporação da composição isotópica do carbono ao organismo animal e o que foi perdido na respiração e excreção deve ser igual à composição isotópica de carbono da dieta, base da maioria dos pressupostos dos experimentos dessa natureza.

A técnica dos isótopos estáveis é particularmente apropriada para determinar a diluição relativa de duas fontes isotopicamente distintas de matéria orgânica na dieta animal (Hobson & Clark, 1992) possibilitando, por exemplo, a rastreabilidade de ingredientes de origem animal nas dietas (Oliveira et al., 2010), além de fornecer informação do tempo de assimilação dos isótopos do alimento ingerido (Tieszen et al., 1983). Sendo assim, as diferenças naturais nos valores isotópicos do carbono entre espécies de plantas de diferentes ciclos fotossintéticos (C_3 e C_4) oferecem a possibilidade de utilizar os isótopos dessas plantas como traçadores em animais (Tyrrel et al., 1984).

A velocidade com que os isótopos estáveis dos tecidos são substituídos pelos isótopos da dieta (*turnover* isotópico) fornecem estimativas da taxa de renovação metabólica dos tecidos (Hobson & Clark, 1992). Essas taxas variam entre espécies, tecidos, frações bioquímicas e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (Kennedy & Krouse, 1990).

A escolha do tecido a ser estudado é importante, pois tecidos que são ativos metabolicamente no organismo apresentam taxas de *turnover* mais rápidas, como o plasma sanguíneo, fígado, músculo e sangue, e os tecidos menos ativos apresentam menores taxas de *turnover*, como o colágeno, penas e o osso (Hobson & Clark, 1992; Gannes et al., 1998).

Segundo Pearson et al. (2003), o plasma sanguíneo fornece informações de curto prazo (cerca de 1-4 dias) e o sangue fornece informações a longo prazo porque suas células têm maior longevidade que os constituintes do plasma tendo ritmo mais lento no *turnover*.

Com a crescente proibição, pelo mercado exportador, da utilização ingrediente de origem animal nas dietas dos animais, faz-se necessário a segurança alimentar e o desenvolvimento de técnicas capazes de detectar tais inclusões possibilitando a certificações de nossos produtos.

A segurança alimentar é a característica mais valorizada pelo consumidor no processo de escolha de determinado produto. Eles estão interessados em saber como e onde os animais são criados, querem informações sobre sua alimentação, seu sistema de criação, entre outras. Desse modo tem havido interesse em alternativas ao frango criado em condições industriais de alto rendimento, tais como, o sistema de produção de frangos tipo Colonial/Caipira, criação de aves orgânicas, criação que visa à saúde e o bem estar animal, produção de carne de elevado valor nutricional e isenta de contaminantes, aves alimentadas com dieta isenta de farinhas de origem animal e antibióticos melhoradores de desempenho (Arenales, 2003).

A escolha de tecidos como sangue e plasma sanguíneo permite colher amostras nas diversas etapas de criação, podendo compor estratégias de amostragem sem

necessidade de sacrifício das aves, servindo como ferramenta de apoio às auditorias e certificação de criações de frangos isenta de proteínas de origem animal na dieta.

Em função do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 no sangue total e plasma sanguíneo de três linhagens de frango tipo colonial Máster Griss, Vermelhão Pesado e Label Rouge, em diferentes fases de crescimento.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na UNESP na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves.

Foram utilizados 768 aves de frango tipo colonial, sendo 256 da linhagem Máster Griss, 256 da linhagem Vermelhão Pesado e 256 da linhagem Label Rouge, criadas em sistema intensivo e vacinados no incubatório contra as doenças de *Gumboro*, *Marek*, *Bouba Aviária* e *Coccidiose*.

As aves foram alojadas com um dia de idade, sendo que a água e ração eram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. A temperatura e ventilação foram controladas a fim de manter-se na zona de conforto térmico durante todo o período de criação.

O programa de arraçamento foi dividido em três fases, sendo utilizadas as seguintes rações: inicial de 1-28 dias, crescimento de 29-56 dias e final de 56-119 dias de idade. As composições e os valores nutricionais das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 1, atendendo as exigências nutricionais das aves segundo recomendações de Figueiredo et al. (2003).

Tabela 1. Composição centesimal, valores nutricionais calculados e valores isotópicos das rações experimentais.

INGREDIENTES	INICIAL		CRESCIMENTO		FINAL	
	C ₃	C ₄	C ₃	C ₄	C ₃	C ₄
Milho, fubá	-	58,53	-	66,28	-	67,34
Arroz, quirela	59,23	-	66,21	-	67,30	-
Trigo, farelo	4,90	6,00	2,70	3,17	6,76	7,26
Soja, farelo	31,08	31,12	25,99	26,16	20,98	21,14
Soja, óleo	0,43	-	0,66	-	0,67	-
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Calcário calcítico	1,10	1,16	1,17	1,26	1,25	1,34
Fosfato bicálcico	1,91	1,83	1,85	1,73	1,55	1,44
DL-metionina	0,08	0,11	0,08	0,11	0,08	0,11
L-treonina	0,13	0,10	0,21	0,17	0,28	0,25
Colina, cloreto	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04
Supl. vitamínico e mineral	0,60 ⁽¹⁾	0,60 ⁽¹⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾	0,60 ⁽²⁾
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores Calculados						
EM, kcal/kg	2800	2799	2900	2900	2900	2900
Proteína bruta,	20,00	20,00	18,00	18,00	16,50	16,50
Ca,	1,00	1,00	1,00	1,00	0,95	0,95
P disponível,	0,46	0,46	0,43	0,43	0,38	0,38
Metionina,	0,40	0,40	0,38	0,38	0,35	0,35
AAS,	0,72	0,74	0,67	0,69	0,63	0,65
Lisina	1,05	1,03	0,92	0,90	0,80	0,78
Treonina	0,86	0,86	0,86	0,86	0,85	0,86
Potássio	0,68	0,65	0,60	0,66	0,51	0,58
Sódio	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Cloro	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Ácido linoléico	0,64	0,62	0,76	0,69	0,73	0,77
Valor isotópico(‰) ⁽³⁾	-27,96	-18,97	-28,69	-17,60	-29,48	-17,06

¹Premix para aves de corte inicial (kg/produto) Vaccinar: Ácido fólico (125mg/kg); ácido pantotênico (2000mg/kg); BHT (1000mg/kg); biotina (4,17mg/kg); cobre (1,667mg/kg); colina(50g/kg); ferro (8,334mg/kg); fitase (83,33ftu/kg); iodo (142mg/kg); manganês (11,67g/kg); niacina (5,883mg/kg); selênio (50mg/kg); vitamina A (13335000UI/kg); vitamina B1 (250mg/kg); vitamina B12 (2000mcg/kg); vitamina B2 (833mg/kg); vitamina B6 (467mg/kg); vitamina D3 (333500UI/kg); vitamina E (2500UI/kg); vitamina K3 (300mg/kg); zinco (10g/kg).

²Premix para aves de corte em crescimento (kg/produto) Vaccinar: Ácido fólico (117mg/kg); ácido pantotênico (1667mg/kg); BHT (1000mg/kg); biotina (2,5mg/kg); cobre (1,667mg/kg); colina(42g/kg); ferro (8,333mg/kg); fitase (83,33ftu/kg); iodo (142mg/kg); manganês (11,67g/kg); niacina (5000mg/kg); selênio (30mg/kg); vitamina A (1133330UI/kg); vitamina B1 (167mg/kg); vitamina B12 (1667mcg/kg); vitamina B2 (667mg/kg); vitamina B6 (333mg/kg); vitamina D3 (250000UI/kg); vitamina E (2000UI/kg); vitamina K3 (266mg/kg); zinco (10g/kg).

³Valor isotópico analisado expresso em $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao padrão *PeeDeeBelemnte* (PDB).

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C₄ (a base de milho e soja), que ao nascerem, estes possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ -19,50‰) de carbono-13 semelhantes ao destas dietas.

Para avaliar a taxa de *turnover* nos tecidos, as aves do grupo G0-21 receberam dietas compostas por plantas do ciclo C₃ (arroz e soja), desde a chegada das aves. O grupo G7-35 teve sua dieta substituída por dieta predominantemente C₃ no 7º dia de idade das aves; o grupo G14-49 passou a receber dieta C₃ no 14º dia de idade; o grupo G21-63 teve sua dieta substituída no 21º dia, o grupo G28-84 no 28º dia, o grupo G35-119 a mudança ocorreu no 35º dia de idade das aves, como demonstra Tabela 2.

A substituição semanal permitirá avaliar como se comporta o *turnover* tecidual em várias fases de crescimento da ave, já que no período inicial o metabolismo da ave é mais rápido, podendo haver troca total dos sinais isotópicos na primeira semana de vida dependendo do tecido analisado. A primeira coleta de cada grupo foi realizada sempre no momento anterior à troca das dietas para detecção do sinal isotópico inicial dos tecidos.

Tabela 2. Distribuição dos grupos experimentais.

Grupos	Substituição das dietas C ₄ pela C ₃	Período avaliado, dias	Coleta das amostras (dias)
G0-21	0*	0 a 21	0, 1, 2, 3, 5, 8, 11, 14 e 21
G7-35	7	7 a 35	7, 8, 9, 12, 16, 21, 28 e 35
G14-49	14	14 a 49	14, 15, 16, 19, 23, 28, 35, 42 e 49
G21-63	21	21 a 63	21, 22, 23, 26, 30, 35, 42, 49, 56 e 63
G28-84	28	28 a 84	28, 29, 30, 33, 37, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84
G35-119	35	35 a 119	35, 36, 37, 40, 44, 49, 56, 63, 70, 77, 84; 91, 98, 105, 112 e 119

*Dia 0 = considerado o momento de alojamento dos pintos de corte;

Para as análises isotópicas, nos dias de coleta foram tomados aleatoriamente quatro aves por grupo, sendo que cada uma delas foi considerada uma repetição. O número de coleta das amostras foi concentrado nos primeiros dias após a substituição da dieta, devido a maior velocidade na diluição isotópica do carbono no tecido durante essa fase (Hobson & Clark, 1992).

As amostras de sangue foram coletadas no momento da sangria, em tubos de ensaio previamente heparinizados, em seguida uma parte foi centrifugada para obtenção do plasma. Posteriormente, para melhor preservação as amostras foram liofilizadas.

As amostras foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Campus de Botucatu.

As amostras das dietas experimentais foram moídas em moinho criogênico (*Spex-modo 6750 freezer/mill*, Metuchen, EUA), à -196°C por cinco minutos, com rotação de 920 rpm em alta frequência, para obtenção de material homogêneo, com aspecto microscópico.

Após a liofilização as amostras foram pesadas (50-70 μg) em cápsulas de estanho em balança analítica de alta sensibilidade, com precisão de seis casas decimais. Para determinação da composição isotópica, foi utilizado o espectrômetro de massa de razões isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS*, Thermo Scientific, Alemanha) acoplado ao Analisador Elementar (*Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*) no qual, em presença de oxigênio (O_2) e óxido de cobre (CuO), a amostra foi queimada quantitativamente para obtenção de CO_2 . Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas.

Os resultados foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$, em relação ao padrão *PeedeeBelemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação 1:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{amostra, padrão})} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3 (1)$$

Onde:

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

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar a velocidade de substituição do carbono das dietas no tecido depois de determinado intervalo de tempo foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (Ducatti et al., 2002), obtida utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do *software OriginPro^{®8} Professional* (Microcal Software, 2007).

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

Onde:

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

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

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

k = constante de troca (*turnover*) em dia^{-1}

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

Para determinar a meia vida na condição de 50% foi utilizada a equação 3:

$$t = -\frac{1}{k} \ln (1 - F) \quad (3)$$

Onde:

t = tempo de troca do carbono

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

F = fração de átomos trocados

Observação: Para F=0,5 temos a meia vida (t=T), a qual representa a troca de 50% do carbono-13 para cada tecido em análise.

Para determinar a porcentagem de átomos trocados (F) foi utilizada a equação 4:

$$F = 1 - e^{-kt} \quad (4)$$

F = fração de átomos trocados

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

t = tempo de troca do carbono

Os valores do fracionamento isotópico dos tecidos ao final do período experimental em relação à dieta foram calculados de acordo com DeNiro & Epstein (1978) pela equação 5:

$$\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}} \quad (5)$$

Onde:

Δ = fator de fracionamento entre o tecido e a dieta, em parte per mil (‰);

δ tecido = enriquecimento relativo do tecido em questão, em parte per mil (‰);

δ dieta = enriquecimento relativo médio da respectiva dieta, em parte per mil (‰);

Resultados e Discussão

As análises das razões isotópicas de ^{13}C das dietas C_3 resultaram em valores de -27,96‰ para a ração inicial; -28,69‰ para ração de crescimento e -29,49‰ para a ração final. Os valores isotópicos do ^{13}C para as dietas formuladas do ciclo fotossintético C_4 foram de -18,97‰ para a ração inicial, -17,60‰ para a ração de crescimento e -17,06‰ para a ração final.

Apesar de cada tecido do animal apresentar assinatura isotópica e *turnover* distintos, o animal é aquilo que consome isotopicamente $\pm 1\%$ para ^{13}C , segundo DeNiro & Epstein (1978). Como as plantas são consumidas pelos animais, a *impressão digital isotópica* destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo (Deniro & Epstein, 1978; Gannes et al., 1998). Portanto como verificado neste estudo houve a mudança do valor $\delta^{13}\text{C}$ do sangue total e plasma sanguíneo ocorreu ao longo do tempo em conjunto com o crescimento da ave, atingindo valores próximos ao da dieta (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do sangue total e plasma sanguíneo das linhagens no início e no final dos períodos de cada grupo.

Grupos	Idade	‰					
		Sangue			Plasma Sanguíneo		
		¹ LR	² VP	³ MG	¹ LR	² VP	³ MG
G0-21	0	-19,89	-19,78	-19,75	-19,21	-19,23	-19,13
	21	-26,57	-26,55	-26,53	-26,36	-26,66	-26,44
G7-35	7	-21,50	-21,49	-21,55	-18,79	-18,77	-18,71
	35	-26,69	-26,70	-26,76	-26,67	-26,77	-27,03
G14-49	14	-20,82	-20,58	-20,61	-18,92	-19,00	-18,98
	49	-26,87	-26,85	-27,53	-26,96	-26,97	-26,93
G21-61	21	-20,90	-20,87	-20,99	-18,95	-18,98	-18,89
	63	-27,49	-27,56	-27,59	-27,92	-27,97	-27,95
G28-84	28	-20,39	-20,77	-20,84	-19,44	-19,65	-19,41
	84	-27,05	-27,04	-27,16	-27,21	-27,14	-27,16
G35-119	35	-20,22	-20,22	-20,05	-18,64	-18,62	-18,80
	119	-27,42	-27,31	-27,31	-26,81	-26,861	-26,82

¹LR= Label Rouge; ²VP=Vermelho Pesado; ³MG= Máster Griss

As equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2) e a % de átomos trocados do plasma sanguíneo e sangue das linhagens Label Rouge (LR), Vermelhão Pesado (VP) e Máster Griss (MG), para cada fase de criação, obtidas nos diferentes grupos estudados encontram-se na Tabela 4 e 6 e os valores calculados de meia vida do ^{13}C (T) dos tecidos, encontram-se na Tabela 5 e 7, respectivamente.

Tabela 4. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do plasma sanguíneo.

Grupos	¹ Linhagens	Equações	r^2	% átomos trocados	Δ
G0-21	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,26 - 6,94 e^{-0,4105t}$	0,98	99,9	1,70
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,55 - 7,42 e^{-0,4533t}$	0,95	99,9	1,41
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,15 - 7,21 e^{-0,4756t}$	0,96	99,9	1,81
G7-35	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,18 - 7,11 e^{-0,5782t}$	0,95	99,9	2,51
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,47 - 7,60 e^{-0,5615t}$	0,98	99,9	2,22
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,47 - 7,69 e^{-0,5341t}$	0,98	99,9	2,22
G14-49	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,72 - 7,50 e^{-0,6682t}$	0,97	99,9	1,97
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,66 - 7,46 e^{-0,6386t}$	0,97	99,9	2,03
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,68 - 7,51 e^{-0,5777t}$	0,96	99,9	2,01
G21-63	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,24 - 7,86 e^{-0,4418t}$	0,98	99,9	2,24
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,24 - 7,86 e^{-0,3680t}$	0,96	99,9	2,24
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -27,28 - 7,93 e^{-0,3691t}$	0,97	99,9	2,20
G28-84	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,85 - 7,45 e^{-0,4210t}$	0,97	99,9	2,63
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,95 - 6,97 e^{-0,3680t}$	0,97	99,9	2,53
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,86 - 6,87 e^{-0,3766t}$	0,97	99,9	2,62
G35-119	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,98 - 7,75 e^{-0,3434t}$	0,97	99,9	2,50
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,86 - 7,68 e^{-0,3227t}$	0,97	99,9	2,62
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,82 - 7,60 e^{0,3506t}$	0,9742	99,9	2,66

¹LR=Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; R^2 = coeficientes de determinação

Tabela 5. Valores calculados de meia-vida Tdo carbono no plasma das diferentes Linhagens (em dias).

Grupos	G0-21	G7-35	G14-49	G21-63	G28-84	G35-119
¹ Linhagens	T	T	T	T	T	T
LR	1,69	1,34	1,04	1,57	1,65	2,02
VP	1,53	1,23	1,09	1,88	1,88	2,15
MG	1,46	1,30	1,20	1,88	1,84	1,98

¹LR=Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; T= meia vida do carbono - 50% de incorporação do ¹³C da dieta nos tecidos.

Tabela 6. Equações resultantes das análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$, os coeficientes de determinação (r^2), porcentagem (%) de átomos trocados e fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta das diferentes Linhagens do sangue total.

Grupos	¹ Linhagens	Equações	r^2	% átomos trocados	Δ
G0-21	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,04 - 7,51 e^{-0,1486t}$	0,99	95,6	0,92
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,13 - 7,79 e^{-0,1455t}$	0,97	95,3	0,83
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,72 - 7,34 e^{-0,1662t}$	0,98	96,9	1,24
G7-35	LR	$\delta^{13}\text{C} = -26,70 - 6,26 e^{-0,1394t}$	0,98	97,9	1,99
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -26,61 - 6,17 e^{-0,1690t}$	0,98	99,2	2,08
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -26,79 - 6,57 e^{-0,1543t}$	0,99	98,7	1,90
G14-49	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,40 - 6,56 e^{-0,0902t}$	0,99	95,7	1,29
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,41 - 6,65 e^{-0,0929t}$	0,98	96,1	1,28
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -27,94 - 7,06 e^{-0,0741t}$	0,99	92,5	0,75
G21-63	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,98 - 6,86 e^{-0,0648t}$	0,98	93,4	1,51
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -28,29 - 7,06 e^{-0,0584t}$	0,98	91,4	1,20
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -28,02 - 6,88 e^{-0,0707t}$	0,99	94,9	1,47
G28-84	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,47 - 6,53 e^{-0,0693t}$	0,95	97,9	2,02
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,56 - 6,27 e^{-0,0604t}$	0,98	96,6	1,93
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -27,37 - 6,23 e^{-0,0641t}$	0,98	97,2	2,12
G35-119	LR	$\delta^{13}\text{C} = -27,28 - 7,16 e^{-0,0719t}$	0,98	99,7	2,21
	VP	$\delta^{13}\text{C} = -27,24 - 7,14 e^{-0,0713t}$	0,99	99,7	2,25
	MG	$\delta^{13}\text{C} = -27,27 - 7,11 e^{-0,0662t}$	0,99	99,6	2,22

¹LR= Label Rouge; VP=Vermelhão Pesado; MG= Máster Griss; R²= coeficientes de determinação

Tabela 7. Valores calculados de meia-vida Tdo carbono no sangue total das diferentes Linhagens (em dias).

Grupos	G0-21	G7-35	G14-49	G21-63	G28-84	G35-119
¹ Linhagens	T	T	T	T	T	T
LR	4,66	4,97	7,68	10,70	10,00	9,64
VP	4,76	4,10	7,46	11,87	11,48	9,72
MG	4,17	4,49	9,35	9,80	10,81	10,47

¹LR= *Label Rouge*; VP=*Vermelhão Pesado*; MG= *Máster Griss*; T= meia vida do carbono - 50% de incorporação do ¹³C da dieta nos tecidos;

Notou nas Tabelas 4 e 6 que os valores obtidos demonstram que o fracionamento ocorre de maneira distinta entre os tecidos avaliados e entre as fases de desenvolvimento. Existe uma pequena alteração no fracionamento entre as fases de desenvolvimento em um mesmo tecido, porém, de maneira geral, os valores permanecem semelhantes, sendo claramente visível a diferença entre os tecidos. A variação isotópica entre os tecidos pode estar refletindo a variação na composição bioquímica destes (proteínas, carboidratos, lipídeos). DeNiro & Epstein (1978) demonstraram em seus estudos que essas frações bioquímicas apresentam sinais isotópicos distintos, sugerindo que estas alterações decorrem das inúmeras vias metabólicas que permitem a conversão de um isótopo de carbono de uma fração bioquímica a outro. Sendo assim as diferenças nos valores de fracionamento dos tecidos estão relacionados com a composição química de cada um.

As Figuras 1 e 2 trazem o ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ¹³C do sangue total e plasma sanguíneo das diferentes linhagens em cada grupo.

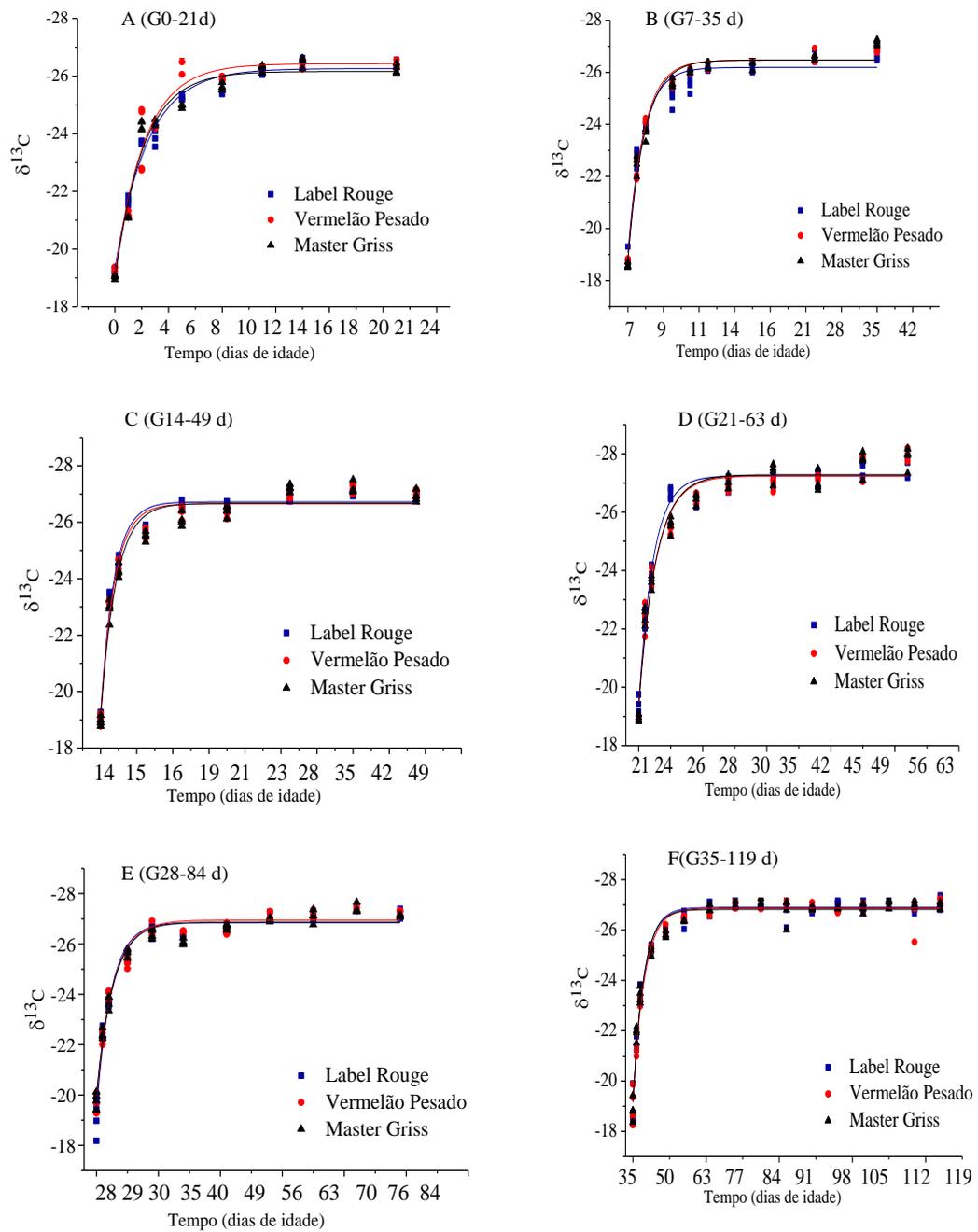


Figura 1. Ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ^{13}C do plasma sanguíneo de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelhão Pesado e Máster Griss nas fases analisadas: A (G0-21 dias) dias; B (G7-35 dias); C (G14-49 dias); D (G21-63 dias); E (G28-84 dias); e F (G35-119 dias).

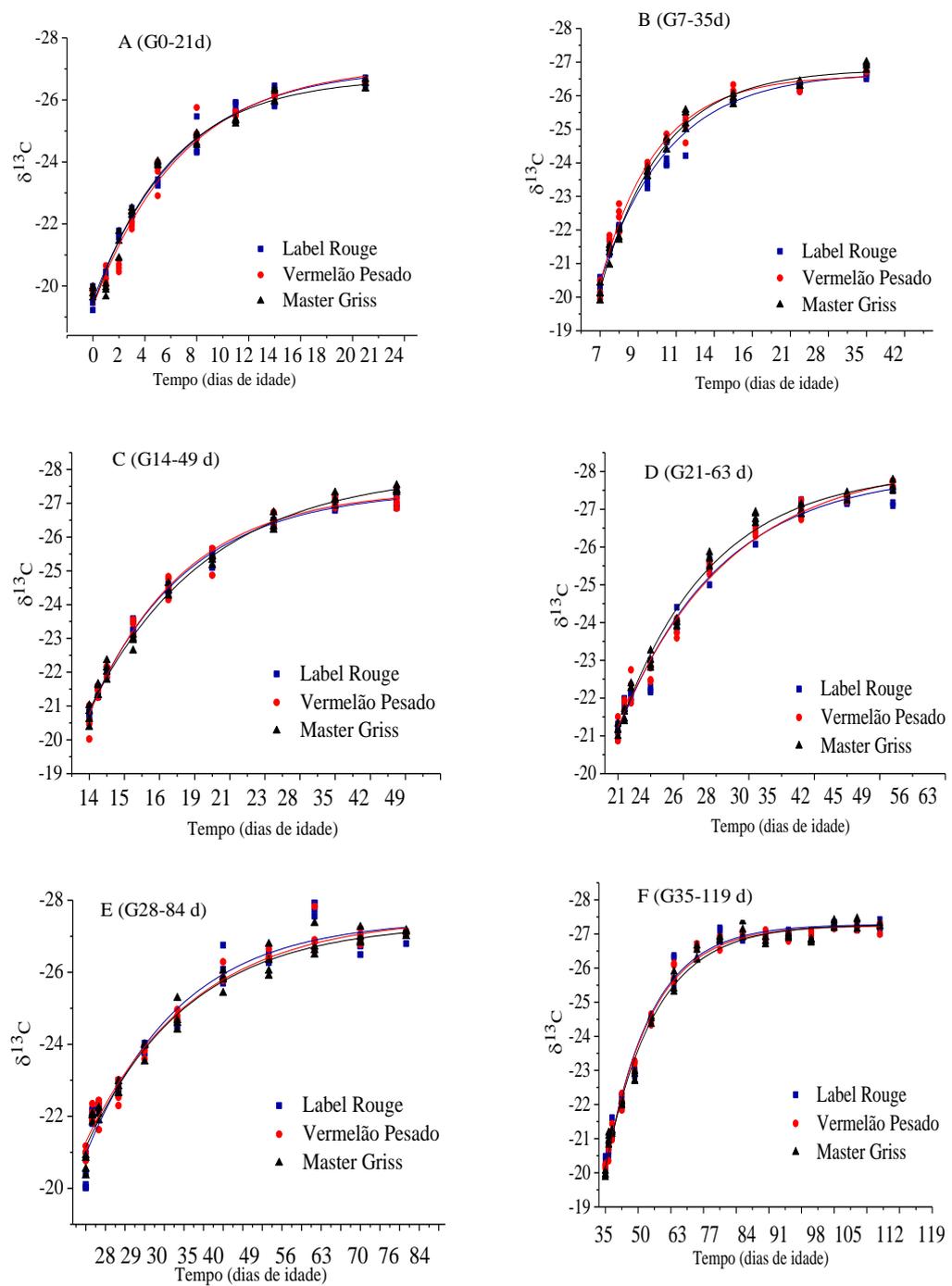


Figura 2. Ajuste exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do ^{13}C do sangue total de frangos da linhagem Label Rouge, Vermelão Pesado e Máster Griss, nas fases analisadas: A (G0-21dias) dias; B (G7-35 dias); C (G14-49 dias); D (G21-63 dias); E (G28-84 dias); e F (G35-119 dias).

Observa-se nas Figuras 1 e 2, o plasma sanguíneo e o sangue total atingiram o patamar de equilíbrio isotópico em todos os grupos analisados, ou seja, dentro do período de coleta que abrangeu de 1 a 119 dias de idade.

Na Tabela 5, observa-se que o *turnover* do ^{13}C do plasma sanguíneo teve uma troca mais rápida nas fases de maior crescimento (G7-35 e G14-49), quando comparada com todos os grupos, inclusive com o G0-21, e foi aumentando sutilmente o tempo necessário para troca de carbono nos demais grupos, observando-se valores muito próximos, fato corroborado por Pelícia (2013) ao analisar frango de corte da linhagem comercial *Cobb*.

O plasma sanguíneo apresenta um metabolismo rápido, com valores de meia-vida entre 1 e 2 dias. Essa oscilação entre os grupos analisados deve se pelo motivo do plasma sanguíneo ser responsável pela homeostase corporal dos animais, sendo encarregado pelo transporte entre os tecidos, de proteínas, sais inorgânicos e hormônios, com a finalidade de manter as atividades consideradas mais vitais do organismo em funcionamento normal (Macari et al., 2002). Essa função do plasma no organismo pode ser constatada no presente estudo pela troca mais rápida dos átomos de carbono-13 nesse tecido (Macari et al., 2002). Para Pearson et al. (2003), o *turnover* é importante para determinar como a assinatura isotópica da dieta de um animal é incorporada em seus tecidos. Em seus estudos estes autores indicaram que o plasma sanguíneo, em função do rápido *turnover*, fornece informações de curto prazo, cerca de 1 a 4 dias.

Quando analisado o comportamento das linhagens em relação ao *turnover* no plasma nas diferentes fases estudadas foi possível observar que o *turnover* do plasma sanguíneo da linhagem Label Rouge foi menor na fase inicial (G0-21 e G7-35), entretanto para as demais fases, o *turnover* do plasma foi maior. Com relação à

linhagem Vermelhão Pesado, esta apresentou o *turnover* mais rápido na fase inicial (G7-35), e o mais lento na final de crescimento (G21-63, G28-84 e G35-119). Finalmente, na linhagem Máster Griss, esta teve o *turnover* do plasma sanguíneo intermediário em relação às demais linhagens estudadas (Tabela7).

Analisando o *turnover* do ^{13}C do sangue entre as diferentes linhagens de aves estudadas, pode-se verificar que os valores de meia vida aumentaram à medida que as aves foram se tornando adultas, e conseqüentemente, foi aumentando o tempo de troca do carbono neste tecido.

Segundo Pearson et al. (2003), o sangue total no organismo é composto de 55% de plasma, 1% de glóbulos brancos e plaquetas e 44% de glóbulos vermelhos, e fornece informações a longo prazo, pois suas células têm maior longevidade que os constituintes do plasma (componente líquido do sangue), tendo um ritmo mais lento no *turnover*.

Analisando o comportamento das linhagens em relação ao *turnover* do carbono no sangue das aves, verificou-se que o *turnover* de todas as linhagens oscilou entre fases e entre as linhagens consideravelmente, sendo que a linhagem Label Rouge segue a tendência de apresentar *turnover* mais rápido em relação às outras linhagens estudadas.

A linhagem Label Rouge apresentou metabolismo mais acelerado entre as três linhagens e com troca do carbono mais rápida nos tecidos analisados, sugerindo ser uma linhagem com potencial de crescimento mais rápido, enquanto que as linhagens Vermelhão Pesado e Máster Griss, necessitaram de mais tempo para troca do carbono dos tecidos. Esses resultados observados entre as linhagens estudadas se deve, provavelmente, em função das diferenças genéticas envolvidas na obtenção dessas linhagens. Segundo Moreira et al. (2003), as linhagens alternativas que existem hoje no mercado são de alto rendimento de carcaça, porém existem diferenças entre elas, pois o

resultado final depende da seleção genética aplicada, que varia de acordo com a importância dessas características para o mercado a que se destina.

Michelam Filho e Souza (2001) afirmaram que, desde 1948, linhagens de frango de corte tem sido submetido a intenso processo de seleção e cruzamentos, descaracterizando as raças e originando linhagens específicas, com características próprias.

De acordo com os resultados de meia-vida e troca total do carbono, valores mostrados nas Tabelas 5 e 7 deste estudo, verificou-se diferenças entre os tecidos do sangue total e plasma sanguíneo, sendo que o plasma apresentou taxa metabólica mais intensa e os valores de meia-vida sofreram pouca alteração (meia-vida entre 1 e 2 dias). Esse tecido mostrou-se em todos os períodos analisados ser de rápido metabolismo e por outro lado, verificou-se que o sangue teve um aumento significativo na meia-vida com o avançar da idade. Uma explicação para este resultado, segundo Pelícia (2013), pode ser o fato de o sangue receber, além dos nutrientes da dieta, nutrientes provenientes de outros tecidos que sofreram catabolismo em função de maior demanda de um tecido específico por determinado nutriente. Esse nutriente proveniente de outros tecidos podem apresentar valores isotópicos distintos do da dieta, interferindo na velocidade de troca de sinal do sangue. Pelícia (2013) ao analisar a troca do carbono-13 no sangue e plasma sanguíneo em linhagem comercial *Cobb*, observou o mesmo comportamento. Hahn et al., (2012) em estudo com aves aquáticas e herbívoras também encontraram diferença no tempo de *turnover* entre o plasma sanguíneo e as células sanguíneas.

Conclusão

- Nas condições do presente trabalho, a linhagem Label Rouge, apresenta uma taxa metabólica maior na troca de carbono-13 nos tecidos analisados quando comparada com as demais linhagens, caracterizando-se como uma linhagem de metabolismo rápido.

- A idade das aves e os tecidos do plasma e do sangue influenciam o *turnover* de carbono-13. Em estudos de rastreabilidade, o plasma sanguíneo é o mais indicado para rastrear informações à curto prazo em todas as fases de vida das linhagens estudadas.

Referências

ARENALES, M.C. Produção orgânica de aves de postura e corte. **Revista Agroecologia hoje**, ano III, n.18, p.11-13, 2003.

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica Cosmochimica Acta**, v.42, p.495-506, 1978.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; MANCERA, P.F.A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.59, n.1, p.29-33, 2002.

FIGUEIREDO, E.A.P.; SCHMIDT, G.S.; LEDUR, M.C.; AVILA, V.S. **Raças e linhagens de galinhas para criações comerciais e alternativas no Brasil**. Comunicado Técnico 347. EMBRAPA. 2003.

GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.

HAHNN S., HOYE B.J., KOTHDS H., KLAASSEN M. From food to offspring down: tissue-specific discrimination and turn-over of stable isotopes in herbivorous water birds and other avian foraging guilds. *PloSOne*, 2012.v.7, p.1.

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

KENNEDY, B.V.; KROUSE, H.R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology** v. 68, p. 960-972, 1990.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.375, 2002.

MICHELAN FILHO, T.; SOUZA, E.M. Formação e características das linhagens atuais de frango. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas, SP. *Anais...*, Campinas: FACTA, 2001. v.2. p.24-31.

MICROCAL SOFTWARE *ORIGINPRO*[®] 8.0 Professional . **Origin Data Analysis and Technical Graphics**.USA, Microcal Software Inc., 2007.

MOREIRA, J.; MENDES, A.A.; GARCIA, E.A.; OLIVEIRA, R.P.; GARCIA, R.G.; ALMEIDA, I.C.L. Avaliação de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne do peito de frangos de linhagens de conformação versus convencionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1663-1673, Suplemento. 1, 2003.

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 of different tissues. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, p. 13-20, 2010.

PEARSON, D.F.; LEVEY, D.J.; GREENBERG, C.H, MARTINEZ DEL-RIO, C. Effects of elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon isotopic signatures in an omnivorous songbird. **Oecologia**, v.135, p.516-523, 2003.

PELÍCIA, V.C.; FERNANDES, B.C.S.; SARTORI, J.R.; LUIGGI, F.G.; DUCATTI, C.; ARAUJO, P.C.; STRADIOTTI, A.C.; *Turnover* do carbono-13 no plasma sanguíneo de frangos de corte In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA**, Campinas 2013.

TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W.; TESDAHL, K.G.; SLADE, N.A. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. **Oecologia**, Berlin, v. 57, p. 32-37, 1983.

TYRRELL, H.F.; PELLETIER, G.; CHEVALIER, R.; HILLAIRE-MARCELL, C.;
GAGNON, M. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of
Animal Science**, Ottawa, suppl., p. 127-129, 1984.

CAPÍTULO IV

IMPLICAÇÕES

Consumidores estão cada vez mais exigentes em relação à qualidade dos alimentos aumentando a procura pelos chamados frangos verdes e orgânicos. Estas aves são alimentadas com dieta isenta de aditivos químicos e antibióticos e ingredientes de origem animal, algo que vem sendo exigido pelos mercados importadores da carne de frango brasileira. A técnica dos isótopos estáveis apresenta potencial aplicação prática para detecção do uso de ingredientes de origem animal nas dietas por meio da análise dos tecidos de aves, podendo ser utilizada futuramente para a certificação dos nossos produtos. Porém é necessário o conhecimento da taxa de renovação dos tecidos (*turnover*) para posteriores estudos de rastreabilidade.

Neste estudo foi avaliado o *turnover* do carbono-13 nos tecidos (músculo peitoral, quilha, plasma e sangue), sendo que o tempo de avaliação de 119 dias foi suficiente para atingir o patamar de equilíbrio isotópico em todas as fases de crescimento. O plasma, por apresentar rápido *turnover*, pode ser utilizado para a rastreabilidade de ingredientes de origem animal em dietas fornecidas recentemente ao contrário da quilha, cuja análise pode informar se houve inclusão destes ingredientes em dietas fornecidas há mais tempo. Porém, para a rastreabilidade em tecidos cartilagosos, bem como os musculares e ósseos há a necessidade de as aves terem sido abatidas. Sendo assim, outros tecidos, que possam ser analisados com a ave ainda viva, como as penas e unhas, devem ser estudadas.

Também observamos neste estudo que o *turnover* dos tecidos analisados não condiz com o tipo de crescimento das linhagens (lento, intermediário e rápido). Esses resultados poderiam ser melhores discutidos se fossem colhidos dados sobre o peso dessas aves no momento da coleta dos tecidos.

Outros trabalhos poderão ser conduzidos para obter mais informações sobre fatores que podem influenciar no tempo de *turnover* nos tecidos, como por exemplo, fatores relacionados à fisiologia do animal.