

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

**AVALIAÇÃO METABÓLICA DE DIETAS C<sub>3</sub> E C<sub>4</sub> NA  
FORMAÇÃO DO OVO (GEMA E ALBÚMEN), PELO USO DA  
TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DO CARBONO.**

JULIANA CÉLIA DENADAI

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, como parte  
das exigências para obtenção do título de  
Mestre.

BOTUCATU – SP

Julho de 2004

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

**AVALIAÇÃO METABÓLICA DE DIETAS C<sub>3</sub> E C<sub>4</sub> NA  
FORMAÇÃO DO OVO (GEMA E ALBÚMEN), PELO USO DA  
TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DO CARBONO.**

JULIANA CÉLIA DENADAI

Zootecnista

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS DUCATTI

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, como parte  
das exigências para obtenção do título de  
Mestre.

BOTUCATU – SP

Julho de 2004

## **Dedicatória**

### **A DEUS**

Pela proteção, por ter me proporcionado todas as realizações até hoje e a experiência do mestrado.

### **AOS MEUS PAIS**

**Admir Denadai** e **Alice de Souza Denadai** pelo exemplo de força e perseverança que demonstram, não deixando nunca desistir.

### **A MINHA FILHA**

**Isabela** pelo amor, carinho e por não ter uma mãe presente em todas as horas.

### **AOS MEUS IRMÃOS**

**Alexandre, Simone e Renata** pelo amor, amizade e companheirismo.

### **AO MEU NAMORADO**

**Rogério** pelo amor e compreensão pelas dificuldades encontradas e superadas durante este período.

“Bendito seja o nome de Deus para todo o sempre, porque dele é a sabedoria e a força; é ele quem muda os tempos e as horas, remove reis e estabelece reis; ele dá sabedoria aos sábios e conhecimento aos entendidos.” (Dn 2:20-21)

## **Agradecimentos**

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

À FUNDIBIO pela concessão de auxílio pesquisa.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pela orientação, apoio, confiança, amizade e incentivo durante o desenvolvimento da dissertação.

Ao Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, pelo apoio, orientação, incentivo e amizade.

Aos Profs. Dr. Alfredo Sampaio Carrijo, Dr. José Roberto Sartori Jr. pela amizade e incentivo.

Aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Evandro, Cibele e Silvia, pela amizade e auxílio na execução deste trabalho.

Aos meus amigos, Fabiana e Ricardo, pela amizade, incentivo, e auxílio na execução deste trabalho.

Aos meus amigos, Ana Cláudia, Cleusa, Sabrina, Camila, Marcos e Melissa, pela amizade, incentivo, auxílio e convívio durante este período da execução deste trabalho.

Às funcionárias da seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Posto de Serviço – Lageado, Carmen e Seila, pela amizade, atenção e auxílio prestados.

E a todos que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Lista de Tabelas Capítulo 2                                                                                                                                    | iv     |
| Lista de Figuras Capítulo 2                                                                                                                                    | v      |
| <b>CAPÍTULO 1</b>                                                                                                                                              | 1      |
| CONSIDERAÇÕES INICIAIS                                                                                                                                         | 2      |
| Referências Bibliográficas                                                                                                                                     | 6      |
| <b>CAPÍTULO 2</b>                                                                                                                                              | 8      |
| <b>Avaliação metabólica de dietas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> na formação do ovo (gema e albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono.</b> | 9      |
| Resumo                                                                                                                                                         | 10     |
| Abstract                                                                                                                                                       | 11     |
| Introdução                                                                                                                                                     | 12     |
| Material e Métodos                                                                                                                                             | 14     |
| Resultados e Discussão                                                                                                                                         | 21     |
| 1 Desempenho Produtivo e Bromatologia da Gema e Albúmen                                                                                                        | 21     |
| 2 Turnover                                                                                                                                                     | 25     |
| 3- Fracionamento Isotópico                                                                                                                                     | 37     |
| Conclusões                                                                                                                                                     | 38     |
| Referências Bibliográficas                                                                                                                                     | 39     |
| <b>CAPÍTULO 3</b>                                                                                                                                              | 41     |
| IMPLICAÇÕES                                                                                                                                                    | 42     |

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

|          | Página                                                                                                                                                |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tabela 1 | Descrição dos tratamentos utilizados no experimento                                                                                                   |
|          | 15                                                                                                                                                    |
| Tabela 2 | Composição percentual dos ingredientes utilizados, níveis nutricionais calculados e valores de $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ das dietas experimentais |
|          | 17                                                                                                                                                    |
| Tabela 3 | Desempenho produtivo de galinhas de postura ao final do período pré-experimental                                                                      |
|          | 21                                                                                                                                                    |
| Tabela 4 | Consumo (g/ave/dia) das aves experimentais, ao longo das semanas do experimento                                                                       |
|          | 22                                                                                                                                                    |
| Tabela 5 | Produção de ovos, em porcentagem, de galinhas de postura, ao longo das semanas do experimento                                                         |
|          | 23                                                                                                                                                    |
| Tabela 6 | Massa de ovos (g/ave/dia), das aves experimentais, ao longo das semanas do experimento                                                                |
|          | 24                                                                                                                                                    |
| Tabela 7 | Avaliação bromatológica do albúmen e gema (média $\pm$ desvio padrão) dos tratamentos estudados                                                       |
|          | 25                                                                                                                                                    |

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 2

|          | Página                                                                                                                                                                             |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Figura 1 | Esquema do delineamento experimental 15                                                                                                                                            |
| Figura 2 | Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio-padrão, n = 4) do sangue de poedeiras e valores de meia vida, em dias. 28               |
| Figura 3 | Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio-padrão, n = 4) do ovo (gema + albúmen) de poedeiras e valores de meia vida, em dias. 30 |
| Figura 4 | Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio-padrão, n = 4) da gema de poedeiras e valores de meia vida, em dias. 32                 |
| Figura 5 | Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio-padrão, n = 4) do albúmen de poedeiras e valores de meia vida, em dias. 34              |
| Figura 6 | Curvas de substituição do carbono na gema, ovo e albúmen do tratamento RMC <sub>3</sub> . Modelo simples de diluição isotópica 36                                                  |

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

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, bem como nos estudos de digestibilidade e metabolismo humano e animal. 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 & Krouse, 1990).

Os ecologistas têm utilizado os isótopos estáveis para traçar o fluxo energético e de nutrientes através dos ecossistemas (Peterson & Fry, 1987), assim como têm-se tornado, rapidamente, ferramenta padrão das ciências ambientais (Marino & McElroy, 1991).

As vantagens do uso dos isótopos estáveis como marcador sobre os isótopos radioativos é que podem ser utilizados sem causarem riscos à saúde humana, não contaminam o ambiente e não estão sujeitos a regulamentações para sua utilização.

Os isótopos estáveis do carbono apresentam-se como alternativa para estudar processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes, por estarem presentes em todos os nutrientes capazes de gerar energia aos animais e por representarem cerca de 50% dos elementos químicos que compõem o corpo dos animais superiores (Murray, 1990). Segundo de DeNiro & Epstein (1978) a integração da composição isotópica do carbono incorporado no corpo do animal e o que foi perdido na respiração e excreção deve ser igual à composição isotópica de carbono da dieta, isto é à base da maioria dos pressupostos dos experimentos que utilizam os isótopos estáveis do carbono.

Há naturalmente, a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono, carbono-12 ( $^{12}\text{C}$ ) e carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), com abundâncias naturais de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos%, respectivamente (Kennedy & Krouse, 1990). Os valores do delta do carbono 13 ( $\delta^{13}\text{‰C}$ ) são expressos em termos de um padrão internacional definido, Peedee Belemnite (PDB). Segundo Friedman & 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 *Belemnitela cretaceos*,

*Belemnitela americana*, da formação Peedee do Norte da Carolina, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). É utilizado como padrão de trabalho, uma rocha carbonatada (mármore) com alta pureza em calcita (Ducatti *et al.*, 1979).

Os valores do delta do carbono-13 ( $\delta^{13}\text{‰C}$ ) 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 ( $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$ ). A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o  $\text{CO}_2$  atmosférico, o qual tem valor de  $\delta^{13}\text{‰C}$  de aproximadamente -7,7‰ (Kennedy & Krouse, 1990).

De acordo com seu ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria, em dois grupos principais: plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , onde o primeiro composto orgânico formado é um ácido carboxílico, com três e quatro átomos de carbono, respectivamente. O  $\text{CO}_2$ , ao longo do processo de produção de carboidratos, entra nas plantas através dos estômatos por difusão e dentro das células, entra para as rotas bioquímicas que resultam da formação de carboidratos. Ao longo de todas estas etapas, o carbono sofre discriminação isotópica, ocorrendo diminuição da concentração de  $^{13}\text{C}$  e aumento da concentração de  $^{12}\text{C}$ .

Nas plantas  $\text{C}_3$ , o valor de  $\delta\text{‰}$  varia de -22‰ a -34‰, dependendo da espécie e da parte da planta analisada, e nas plantas  $\text{C}_4$  este valor encontra-se entre -9‰ a -16‰. A diferença entre estes valores é devido principalmente à rota bioquímica da produção de carboidratos, diferente nestes dois tipos de plantas. O sinal negativo indica que a planta apresenta menor concentração de  $^{13}\text{C}$  que o padrão internacional PDB. (Smith & Epstein, 1971; Ducatti, 1977; Ducatti *et al.*, 1979; O'Leary, 1981; Vogel, 1993; Ducatti, 2004).

Considerando-se a existência da diferença isotópica da ordem de 16‰ nos valores em  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  entre as plantas do ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , pode-se caracterizar a dieta do animal através da análise isotópica do carbono dos tecidos (Ducatti, 2004).

O contraste existente na relação isotópica de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  das plantas de ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  é que tem possibilitado estudos na área de nutrição e metabolismo animal, utilizando como marcador o  $^{13}\text{C}$  e sua concentração natural existente nos alimentos.

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). Esta metodologia

isotópica, entretanto, não pode substituir as técnicas convencionais onde informações dietéticas detalhadas são necessárias e principalmente quando várias opções dietéticas estão disponíveis (Hobson & Clark, 1992).

Entretanto, existem vantagens importantes para o uso de isótopos estáveis, que ocorrem naturalmente como 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 & Clark, 1992).

Gannes *et al.* (1998), em revisão sobre o uso potencial da variação natural dos isótopos estáveis, destacam o papel dos fisiologistas no uso dessa ferramenta para esclarecer questões fisiológicas e ecológicas, bem como assegurar os fundamentos teóricos e experimentais para a aplicação dos isótopos estáveis em outras áreas. Dentre as diretrizes para futuras pesquisas com os isótopos estáveis destacadas por esses autores, receberam ênfase o balanço protéico, a alocação de nutrientes e o *turnover* tecidual.

Na nutrição de aves, a aplicabilidade de alguns avanços alcançados em pesquisas está diretamente ligada à disponibilidade de dados de exigências nutricionais e de composição de alimentos para aves. Nesse contexto, insere-se a técnica do isótopo estável, a qual é indicada em situações onde duas fontes dietéticas isotopicamente distintas estão disponíveis para os animais (DeNiro & Epstein, 1978).

As aves, assim como outros animais, obtêm os nutrientes a partir dos alimentos, os quais são convertidos em metabólitos no organismo e eliminados como resultado do catabolismo. Os constituintes corporais se encontram em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é geralmente chamado *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover* (Hetenyi *et al.*, 1983).

No ovo, assim como em outros produtos de origem animal (leite, fezes) não é possível calcular a taxa de renovação tecidual (*turnover*), uma vez que estes não são considerados tecidos. Entretanto, o estudo do “*turnover*” nestes produtos indica a taxa de renovação dos nutrientes para a sua formação, refletindo o metabolismo dos tecidos que geraram estes produtos.

Os estudos avícolas que usam isótopos estáveis como traçadores em suas dietas fornecem estimativas de quão rapidamente os isótopos estáveis dos tecidos são substituídos por isótopos derivados da dieta. Este *turnover* isotópico em animais e principalmente em aves criadas para fins zootécnicos são ainda bem pouco conhecidas.

A realização de trabalhos com isótopos estáveis pode dar subsídios para o entendimento do metabolismo nutricional das aves, uma vez que a alimentação constitui um dos principais fatores para o desenvolvimento eficiente e saudável dos animais.

Carrijo *et al.* (2000) em estudo detalhado do metabolismo das aves de postura em função das trocas dos ingredientes das rações, propõem a utilização do ovo, o qual apresenta taxa de substituição do carbono semelhante à do fígado e dessa maneira é possível coletar amostras múltiplas em espaço de tempo mais curto, sem que a ave seja sacrificada. Sugerem também a análise das frações do ovo, albúmen e gema, ressaltando que os resultados da razão isotópica obtida para o ovo podem ter sofrido interferência de seu valor real, uma vez que, devido ao processo fisiológico de formação do mesmo, o ovário programa uma seqüência de óvulos em diferentes estágios de desenvolvimento, para um período de mais ou menos oito dias de produção. Dessa maneira, para os ovos colhidos no início do experimento, a gema pode ter fornecido carbonos referentes à ração anterior, enquanto que, o albúmen forneceu carbonos relacionados já da nova dieta.

Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a influência das dietas à base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e ou C<sub>4</sub> nas taxas de *turnover*, na meia-vida e no tempo necessário para substituição total do carbono da gema e albúmen, do ovo (gema + albúmen) e do sangue das aves, através da variação isotópica do  $\delta^{13}\text{C}_{\text{oo}}$ . E avaliar o efeito dessas dietas quanto ao fracionamento isotópico dieta-tecido e bromatologia do albúmen e da gema.

O capítulo 2, intitulado **AVALIAÇÃO METABÓLICA DE DIETAS C<sub>3</sub> E C<sub>4</sub> NA FORMAÇÃO DO OVO (GEMA E ALBÚMEN), PELO USO DA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DO CARBONO**, apresenta-se de acordo com as normas editoriais da *Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science*.

## Referências Bibliográficas

- CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, p. 209-218, 2000.
- 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.
- DENIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.42, p. 495-506, 1978.
- DUCATTI, C. *Medidas da variação natural da relação isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  em amostras orgânicas*, Piracicaba, CENA/ESALQ, 1977, 118p. Dissertação de Mestrado.
- DUCATTI, C. *Isótopos estáveis ambientais*. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista, 138p., 2004.
- DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  em matéria orgânica e das razões  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 51, n. 2, p. 275-286, 1979.
- GANNES, L.Z.; RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.119A, n.3, p. 725-737, 1998.
- HETENYI, G.J.R.; PEREZ, G.; VRANIC, M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 63, n. 2, p. 606-667, 1983.

- HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, 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.
- MARINO, B.D.; McELROY, M.B. Isotopic composition of atmospheric  $\text{CO}_2$  inferred from carbon in  $\text{C}_4$  plant cellulose. **Nature**, v.349, p.127-131, 1991.
- MURRAY, R. K.; Biomoléculas e métodos bioquímicos. In: MURRAY, R. K., editor. Harper: Bioquímica. **Atheneu Editora, São Paulo**, p. 4-11, 1990.
- O'LEARY, M.H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry**, v.20, n.4, p.553-567, 1981.
- PETERSON, B.J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. In: **Annual Review Ecology Systematics**, v.18, p. 293-320, 1987.
- 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.
- VOGEL, J.C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. IN: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D., editors. Stable isotopes and plant carbon-water relations. **San Diego: Academic Press Inc.**, p. 29-46, 1993.

**Avaliação metabólica de dietas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> na formação do ovo (gema e albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono.**

**Metabolic evaluation of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> diets on egg formation (yolk and albumen), by carbon stable isotopes method**

Juliana Célia Denadai<sup>1</sup>, Carlos Ducatti<sup>2</sup>, Antonio Celso Pezzato<sup>3</sup>, Alfredo Sampaio Carrijo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Nutrição e Produção Animal – FMVZ – UNESP, *Campus* de Botucatu;

<sup>2</sup>Professor Assistente Doutor, Coordenador do Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências – UNESP, *Campus* de Botucatu.

<sup>3</sup>Professor Assistente Doutor, do Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, *Campus* de Botucatu.

<sup>4</sup>Professor Adjunto, do Departamento de Produção Animal da Universidade de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande.

Correspondência:

Juliana Célia Denadai

CIE – Instituto de Bionciências

UNESP – *Campus* de Botucatu

CEP. 18618-000 – Botucatu – SP

e-mail: [juliana.denadai@bol.com.br](mailto:juliana.denadai@bol.com.br)

**Título curto:** Isótopos estáveis do carbono em estudo nutricional de aves de postura

**Área do conhecimento:** Nutrição

**Categoria do trabalho:** Artigo Científico

**Observações:** Dissertação de Mestrado em Zootecnia do primeiro autor.

## RESUMO

Estudos avícolas usando isótopos estáveis como traçadores em suas dietas fornecem estimativas de quão rapidamente os isótopos estáveis dos tecidos são substituídos por isótopos derivados da dieta. Estabeleceu-se taxas de *turnover*, meia-vida e substituição total do  $^{13}\text{C}$  no sangue, ovo (albúmen + gema), albúmen e gema de aves de postura, pela troca de dietas compostas de plantas dos ciclos fotossintéticos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ . E avaliou o efeito das dietas quanto ao fracionamento isotópico dieta-tecido e bromatologia do albúmen e da gema. O *turnover* é influenciado pela qualidade da dieta oferecida a ave. A comparação entre as meias-vidas do sangue, ovo, gema e albúmen, respectivamente, mostra que a dieta  $\text{RC}_4$  apresentou valores de meia-vida maiores que os outros tratamentos ( $\text{RC}_4 = 13,3; 4,8; 5,5$  e  $5,2\text{d}$ ;  $\text{RC}_3 = 5,3; 3,8; 4,5$  e  $2,5\text{d}$ ;  $\text{RMC}_4 = 10,5; 3,8; 4,8$  e  $3,2\text{d}$  e  $\text{RMC}_3 = 9,2; 3,5; 4,6$  e  $1,5\text{d}$ ). Os tecidos estudados, pelo fato de apresentarem baixo fracionamento isotópico ( $\Delta_{\text{dieta-tecido}} = 0,1 \pm 0,5\text{‰}$ ), refletem bem a dieta consumida. Quanto a bromatologia da gema e albúmen não encontrou diferença significativa.

**Unitermos:** albúmen, carbono-13, gema, poedeiras, plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ , sangue, ovo

## ABSTRACT

Poultry studies using stable isotopes as tracers in their diets supply information of how fast the stable isotopes from tissues are replaced by those diet-derived. Established *turnover* rates, half-life and  $^{13}\text{C}$  total replacement in blood, egg (albumen + yolk), albumen and egg yolk from lay hens, through exchanging diets composed of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  photosynthetic cycle plants. It also evaluated the effect of diets with regard to diet-tissue isotopic fractionation and bromatology of albumen and egg yolk. *Turnover* is influenced by quality of the diet used to feed the hens. The comparison among the half-lives of the blood, egg, yolk and albumen, respectively, shows that the diet RC4 presented half-life values higher than the other treatments (RC4 = 13,3; 4,8; 5,5 and 5,2days; RC3 = 5,3; 3,8; 4,5 and 2,5days; RMC4 = 10,5; 3,8; 4,8 and 3,2days and RMC3 = 9,2; 3,5; 4,6 and 1,5days). The studied tissues, due to the fact of presenting low isotopic fractionation ( $\Delta_{\text{diet-tissue}} = 0,1 \pm 0,5\text{‰}$ ), reflect well the diet intook. With relation to the albumen and yolk bromatology, none significant difference was found.

**Keywords:** albumen, carbon-13, yolk, lay hens,  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plants, blood, egg

## INTRODUÇÃO

O termo isótopo foi criado por Sir. Frederick Soddy e vem do grego ISO (mesmo ou igual) e TOPOS (lugar), referindo-se ao fato de que os isótopos ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Os isótopos podem ser definidos como átomos do mesmo elemento, que apresentam o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons, portanto diferem em número de massa. Como a eletrosfera do átomo é comum a todos os isótopos, ela mascara o conteúdo do núcleo do átomo, enganando o processo seletivo da membrana biológica vegetal ou animal, e devido a isso funcionam como excelentes traçadores. O termo estável refere-se a átomos que não emitem radiação (Ducatti, 2004).

Análises da variação natural da abundância de isótopos estáveis representam uma ferramenta potencialmente poderosa para as pesquisas em fisiologia (Gannes *et al.* 1998), uma vez que a razão isotópica dos elementos do corpo dos consumidores geralmente assemelha-se a suas dietas (DeNiro & Epstein, 1978; Hobson & Clark, 1992a, 1992b).

A escolha de qual tecido ou órgão do animal deve ser coletado para análise pode influenciar sobremaneira nas conclusões sobre a dieta, devido à variação significativa nos valores do  $\delta^{13}\text{‰C}$  entre as frações bioquímicas e entre os diferentes tecidos dentro do organismo animal (DeNiro & Epstein, 1978). Análises de fezes, conteúdo ruminal ou intestinal, fornecem indicativos da dieta ingerida durante um curto período, variando de poucas horas, no caso de insetos, até vários dias para mamíferos herbívoros de grande porte (Tieszen *et al.*, 1983); assim como, a avaliação isotópica de ovo e fígado fornece dados sobre as rações recentemente ingeridas por aves (Carrijo *et al.*, 2000). Porém, outros tecidos do animal ou frações bioquímicas de tecidos teriam, presumivelmente, valores do  $\delta^{13}\text{‰C}$  que indicariam a quanto tempo ocorreu integração do carbono dietético referente aos alimentos consumidos.

O período sobre o qual as concentrações isotópicas do tecido refletirão a assinatura isotópica da dieta dependerá, em parte, do *turnover* do carbono neste tecido. Tecidos com rápido metabolismo indicam dietas recentes enquanto aqueles com taxa de substituição lenta indicam médias dietéticas de alimentos ingeridos anteriormente. De modo geral, os tecidos mais ativos metabolicamente (fígado, pâncreas e tecido

gorduroso) apresentam *turnover* mais rápidas que os tecidos menos ativos metabolicamente, como o colágeno dos ossos. A escolha do tipo de tecido para a análise isotópica dependerá, então, da questão de interesse (Hobson & Clark, 1992a). A composição isotópica do corpo, como um todo, deve ser analisada quando se trabalha com organismos pequenos (DeNiro & Epstein, 1978).

Ducatti *et al.* (2002), fundamentados em resultados da literatura, 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 de  $\delta^{13}\text{‰C}$  contrastantes à animais adultos. Partindo do pressuposto que o metabolismo de determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos de carbono provenientes da dieta e da taxa de substituição dos compostos pré-existentes, o modelo é adequado para determinar o tempo de substituição total ou parcial (meia-vida) de carbono nos tecidos em estudos com aves e animais de pequeno porte.

Hobson & Clark (1992a) estabeleceram as taxas de *turnover* e as curvas de substituição isotópica em tecidos de codornas japonesas adultas, pela mudança de dieta à base de trigo ( $\text{C}_3$ ) para outra à base de milho ( $\text{C}_4$ ), com assinaturas isotópicas diferentes. A dieta  $\text{C}_4$  era, substancialmente, mais enriquecida em  $^{13}\text{C}$  que a dieta  $\text{C}_3$ , o que a tornava conveniente traçador natural em experimentos, envolvendo troca de dietas. Os resultados obtidos mostraram que o *turnover* do carbono dietético variou amplamente entre os tecidos examinados. Estes dados estão de acordo com os encontrados por Tieszen *et al.* (1983), que desenvolveram um experimento similar em *gerbils*.

Carrijo *et al.* (2000), tendo como diretriz os estudos de Hobson & Clark (1992a), estabeleceram taxas de movimentação, curvas e tempo de substituição isotópica do  $^{13}\text{C}$  no ovo e fígado de aves de postura adultas, pela troca de dieta à base de arroz e soja ( $\text{C}_3$ ) para outra à base de milho e glúten de milho ( $\text{C}_4$ ) e o inverso para a outra metade do grupo experimental, durante 50 dias. Concluíram que, a dieta  $\text{C}_3$  apresenta *turnover* mais rápido que a dieta  $\text{C}_4$ , tanto no fígado quanto no ovo total, confirmando os dados encontrados por Hobson & Clark (1992a) em codornas japonesas.

Codornas que sofreram troca de ração, por uma dieta enriquecida em  $^{13}\text{C}$ , mostraram resposta positiva e rápida de aumento do  $\delta^{13}\text{‰C}$  nas suas gemas, albúmens, membrana da casca, e carbonato da casca. O albúmen, as membranas da casca e

carbonato da casca alcançaram novo equilíbrio isotópico entre 3 e 5 dias depois da troca da ração e a gema levou aproximadamente 8 dias (Hobson, 1995).

De acordo com Carrijo *et al.* (2000) a utilização de períodos de no máximo 28 dias é suficiente para ocorrer troca de sinal isotópico em ovos de aves de postura, quando se utiliza dois componentes dietéticos (grãos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>) distintos.

Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a influência das dietas à base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e ou C<sub>4</sub> nas taxas de *turnover*, na meia-vida e no tempo necessário para substituição total do carbono da gema e albúmen, do ovo (gema + albúmen) e do sangue das aves, através da variação isotópica do  $\delta^{13}\text{C}_{\text{‰}}$ . E avaliar o efeito dessas dietas quanto ao fracionamento isotópico dieta-tecido e bromatologia do albúmen e da gema.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Câmara Bioclimática localizada na Fazenda Experimental Lageado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, *Campus* de Botucatu.

As aves foram alojadas em gaiolas metálicas, dispostas em quatro fileiras com as seguintes dimensões: 1,00 m de comprimento x 0,45 m de profundidade e 0,40 m de altura. As gaiolas apresentavam dois compartimentos internos, onde foram alojadas 4 aves por compartimento, totalizando 8 aves por gaiola. Os comedouros utilizados são do tipo independentes, localizados frontalmente e os bebedouros tipo nipple. As aves receberam água à vontade e ração duas vezes ao dia.

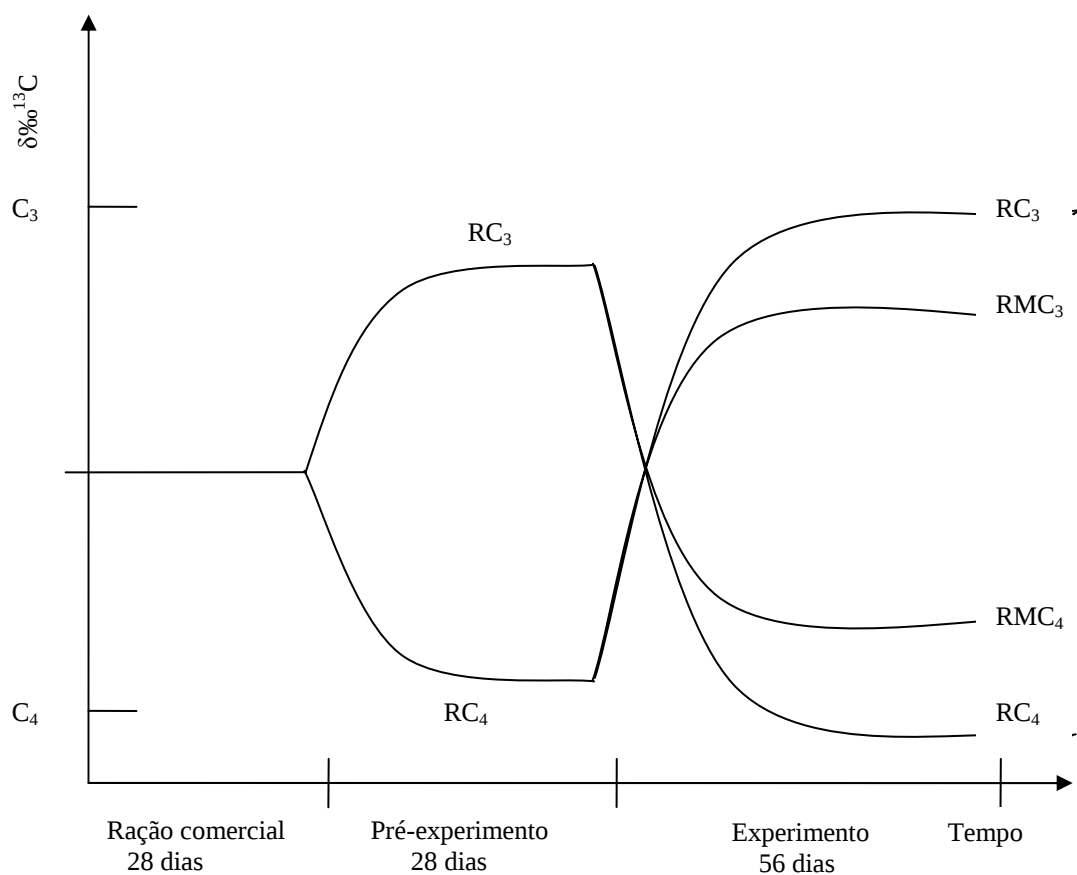
O programa de iluminação artificial adotado foi de 17 horas de luz/dia, com intensidade de 22 lux/m<sup>2</sup>.

Foram utilizadas 96 aves, da linhagem Hy Line W36, com 120 semanas de idade, que estavam consumindo em média 101,56 g/ave/dia de ração comercial (base de milho, farelo de soja e farelo de trigo), com sinal isotópico desta ração de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{‰}} = -16,06 \pm 0,23$  (n = 2) e com produção de ovos de 52,14%. A baixa produção de ovos destas aves é devido ao final da vida produtiva. Estas aves passaram por um período de adaptação às novas instalações de 28 dias.

As aves foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos experimentais ( $n = 24$ ), recebendo quatro diferentes dietas isocalóricas e isoprotéicas, com valores isotópicos distintos, de acordo com a Tabela 1. O delineamento experimental está esquematizado na Figura 1.

**TABELA 1-** Descrição dos tratamentos utilizados no experimento

| Tratamentos      | Período pré-experimental                     | Período experimental                                              |
|------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| RC <sub>4</sub>  | Ração C <sub>3</sub> pura (RC <sub>3</sub> ) | Ração C <sub>4</sub> pura (RC <sub>4</sub> )                      |
| RC <sub>3</sub>  | Ração C <sub>4</sub> pura (RC <sub>4</sub> ) | Ração C <sub>3</sub> pura (RC <sub>3</sub> )                      |
| RMC <sub>4</sub> | Ração C <sub>3</sub> pura (RC <sub>3</sub> ) | Ração 67% C <sub>4</sub> + 33% C <sub>3</sub> (RMC <sub>4</sub> ) |
| RMC <sub>3</sub> | Ração C <sub>4</sub> pura (RC <sub>4</sub> ) | Ração 67% C <sub>3</sub> + 33% C <sub>4</sub> (RMC <sub>3</sub> ) |



**FIGURA 1** – Esquema do delineamento experimental

As dietas utilizadas foram:

Tratamento 1 (RC<sub>4</sub>) - Ração composta de grãos de plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub>.

Tratamento 2 (RC<sub>3</sub>) - Ração composta de grãos de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub>.

Tratamento 3 (RMC<sub>4</sub>) - Ração mista C<sub>4</sub>, composta 67% de grãos C<sub>4</sub> e 33% de grãos C<sub>3</sub>.

Tratamento 4 (RMC<sub>3</sub>) - Ração mista C<sub>3</sub>, composta 67% de grãos C<sub>3</sub> e 33% de grãos C<sub>4</sub>.

As dietas mistas foram utilizadas a fim de obter valores intermediários de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  das dietas puras RC<sub>3</sub> e RC<sub>4</sub>, com a finalidade de avaliar a influências das dietas mistas, com a possibilidade de melhorar a qualidade da dieta exclusivamente C<sub>4</sub>.

Os ingredientes utilizados no preparo das rações experimentais tiveram seus valores de proteína, cálcio, fósforo, energia metabolizável e aminoácidos, estimados por Rostagno *et al.* (2000).

As exigências nutricionais das aves foram estabelecidas de acordo com as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno *et al.* (2000).

A composição percentual, níveis nutricionais estimados e valores de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  das dietas experimentais podem ser observados na Tabela 2.

O experimento teve duração de 84 dias (Figura 1), correspondendo a 28 dias de período pré-experimental onde as aves foram divididas em dois grupos de 48 aves. O primeiro grupo recebeu a dieta RC<sub>3</sub>, enquanto que o outro foi alimentado com dieta RC<sub>4</sub>, com o objetivo de substituir o carbono da ração comercial por àqueles destas rações. Segundo Carrijo *et al.* (2000) este período de 28 dias é suficiente para que ocorra a troca de carbonos do ovo pelos da nova dieta. Ao término do período de adaptação foi efetuada a substituição das dietas. As aves que estavam recebendo RC<sub>3</sub> foram subdivididas em dois tratamentos, ou seja, dieta RC<sub>4</sub> e RMC<sub>4</sub>. As poedeiras que estavam sendo alimentadas com dieta RC<sub>4</sub> também foram subdivididas em dois tratamentos, passando a receber RC<sub>3</sub> e RMC<sub>3</sub>. As quatro dietas foram ministradas durante o período experimental de 56 dias.

**TABELA 2** – Composição percentual dos ingredientes utilizados, níveis nutricionais calculados e valores de  $\delta^{13}\text{C}$  das dietas experimentais

| Ingredientes, %:                     | Dietas                                 |                                        |                                                            |                                                            |
|--------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
|                                      | RC <sub>3</sub><br>100% C <sub>3</sub> | RC <sub>4</sub><br>100% C <sub>4</sub> | RMC <sub>3</sub><br>67% C <sub>3</sub> +33% C <sub>4</sub> | RMC <sub>4</sub><br>67% C <sub>4</sub> +33% C <sub>3</sub> |
| Arroz, quirera                       | 62.86                                  | -                                      | 42.12                                                      | 20.74                                                      |
| Soja, farelo                         | 23.50                                  | -                                      | 15.75                                                      | 7.76                                                       |
| Milho moído                          | -                                      | 62.15                                  | 20.51                                                      | 41.64                                                      |
| Glúten de milho                      | -                                      | 17.00                                  | 5.61                                                       | 11.39                                                      |
| Caulim                               | -                                      | 8.50                                   | 2.81                                                       | 5.70                                                       |
| Calcário calcítico                   | 9.25                                   | 9.50                                   | 9.33                                                       | 9.42                                                       |
| Fosfato bicálcico                    | 1.70                                   | 1.65                                   | 1.68                                                       | 1.67                                                       |
| DL - metionina                       | 0.14                                   | 0.05                                   | 0.11                                                       | 0.08                                                       |
| L - lisina                           | -                                      | 0.60                                   | 0.20                                                       | 0.40                                                       |
| Sal comum                            | 0.35                                   | 0.35                                   | 0.35                                                       | 0.35                                                       |
| Óleo                                 | 2.00                                   | -                                      | 1.34                                                       | 0.66                                                       |
| Supl. mineral <sup>1</sup>           | 0.10                                   | 0.10                                   | 0.10                                                       | 0.10                                                       |
| Supl. vitamínico <sup>2</sup>        | 0.10                                   | 0.10                                   | 0.10                                                       | 0.10                                                       |
| <b>Níveis Nutricionais Calculado</b> |                                        |                                        |                                                            |                                                            |
| EM, kcal/g                           | 2.76                                   | 2.76                                   | 2.76                                                       | 2.76                                                       |
| PB, %                                | 15.98                                  | 16.00                                  | 16.00                                                      | 16.00                                                      |
| Ca, %                                | 4.05                                   | 4.04                                   | 4.05                                                       | 4.04                                                       |
| P disp., %                           | 0.37                                   | 0.37                                   | 0.37                                                       | 0.37                                                       |
| Met, %                               | 0.44                                   | 0.40                                   | 0.43                                                       | 0.41                                                       |
| Met+Cis, %                           | 0.68                                   | 0.69                                   | 0.68                                                       | 0.68                                                       |
| Lis, %                               | 0.81                                   | 0.80                                   | 0.80                                                       | 0.80                                                       |
| Trp, %                               | 0,22                                   | 0,08                                   | 0,18                                                       | 0,13                                                       |
| Na, %                                | 0.20                                   | 0.20                                   | 0.20                                                       | 0.20                                                       |
| <b>Valores Isotópicos.</b>           |                                        |                                        |                                                            |                                                            |
| $\delta^{13}\text{C}$                | -26,70±0,04                            | -12,36±0,10                            | -22,40±0,02                                                | -17,22±0,11                                                |

<sup>1</sup> Composição por kg do suplemento mineral:

Cobre: 8.000mg; Ferro: 50.000mg; Manganês: 70.000mg; Zinco: 50.000mg; Iodo: 1.200mg; Selênio: 200mg; Veículo QSP: 1.000g

<sup>2</sup> Composição por kg do suplemento vitamínico:

Vitamina A: 7.000.000 UI; Vitamina D<sub>3</sub>: 2.000.000 UI; Vitamina E: 5.000 mg; Vitamina K<sub>3</sub>: 1.600mg; Vitamina B<sub>2</sub>: 3.000mg; Vitamina B<sub>12</sub>: 8.000mcg; Niacina: 20.000mg; Ácido Patotênico: 5.000mg; Antioxidante: 15.000mg; Veículo QSP: 1.000g

Inicialmente foi identificado o enriquecimento isotópico das dietas, expresso em delta per mil da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , relativo ao padrão internacional PDB (Peedee Belemnite). Os valores mensurados de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  foram os seguintes:  $\text{RC}_3 = -26,70 \pm 0,04$ ;  $\text{RC}_4 = -12,36 \pm 0,10$ ;  $\text{RMC}_3 = -22,40 \pm 0,02$  e  $\text{RMC}_4 = -17,22 \pm 0,11$  ( $n = 2$ ).

Foram tomados aleatoriamente oito ovos por tratamento, para a coleta das amostras de gema, albúmen e ovo (gema + albúmen). Quatro ovos foram utilizados para a amostragem de gema e albúmen separados e quatro homogeneizados em liquidificador para amostragem de ovo (gema + albúmen). As amostras foram identificadas e congeladas a  $-18^\circ\text{C}$  para armazenagem.

Amostras de sangue de quatro aves por tratamento foram tomadas aleatoriamente. O sangue foi coletado da veia da asa, com seringa e agulha descartável, armazenado em tubo de plástico descartável, identificado e congelado a  $-18^\circ\text{C}$  para armazenagem.

As colheitas de amostras de ovo e sangue foram efetuadas nos seguintes dias: 0, 1, 2, 4, 7, 11, 16, 21, 28, 35, 42, 49 e 56. A amostragem foi concentrada nos primeiros dias, devido à maior velocidade de troca dos carbonos. Entende-se como dia zero, o dia da troca da ração, onde a colheita acontece anteriormente a esta troca. A colheita no dia zero tem por objetivo expressar a composição isotópica da ração fornecida no período pré-experimental.

Para a realização das análises isotópicas, as amostras de ovo e gema, foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada (Marconi - modelo MA 035) a  $56^\circ\text{C}$  por um período de 48 horas. Para albúmen e sangue o período de secagem foi de 24 horas. Todas as amostras foram moídas em moinho criogênico (Spex-modelo 6700 freezer/mill), à  $-190^\circ\text{C}$ . Neste moinho, cada amostra foi colocada em um tubo diferente e cada material foi moído por três minutos, para se obter material homogêneo, com aspecto de talco (Licatti, 1997; Ducatti, 2004).

Após a moagem, as amostras de ovo e gema foram desengorduradas em éter etílico através do aparelho de Soxhlet, durante 4 horas. Estas amostras foram moídas novamente, para que ocorresse homogeneização.

Para a determinação da composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massa DELTA-S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar EA 1108 CHN, do Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências da UNESP,

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

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

onde:

$\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  = enriquecimento relativo da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  da amostra em relação ao padrão PDB.

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

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono das dietas nas aves, depois de determinado intervalo de tempo, foi empregada a função exponencial do tempo expressa por:  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}(t) = \delta\text{‰}^{13}\text{C}(f) + [\delta\text{‰}^{13}\text{C}(i) - \delta\text{‰}^{13}\text{C}(f)]e^{-kt}$ , na qual a simbologia empregada significa;

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

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

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

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

t = tempo (em dias) desde a substituição da ração (Ducatti *et al.*, 2002).

A meia-vida do  $^{13}\text{C}$  para ovo, gema, albúmen e sangue, na condição de 50% de cada dieta em  $t = T$ , foi calculada pela equação  $T = \ln 2/k$ , onde, T representa a meia-vida em dias, ln é o logaritmo niperiano e a constante k apresenta unidade de tempo<sup>-1</sup>, fornecendo uma idéia de “velocidade” no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (Tieszen *et al.*, 1983; Hobson & Clark, 1992a; Ducatti *et al.*, 2002; Ducatti, 2004).

A equação de substituição total, expressa por:  $st = nT$ . Na qual T é o valor de meia-vida do tecido estudado e n é o valor numérico (n = 7), para que ocorra substituição de 99,22% dos carbonos (Ducatti *et al.*, 2002).

Os dados obtidos para a análise isotópica foram analisados através do método de equações de regressão do software Origin® 6.0 Professional (Microcal Software, 1999).

Os dados de desempenho foram monitorados a fim fornecer subsídios para a discussão dos resultados das avaliações isotópicas. Foi utilizado o delineamento

experimental inteiramente ao acaso, quatro tratamentos, com três parcelas, onde a unidade experimental foi de oito aves (uma gaiola).

Para cálculo de desempenho foram anotados diariamente o número e peso dos ovos de cada gaiola. A quantidade de ração fornecida era pesada semanalmente e a sobra destas também. As aves mortas durante o período experimental também eram anotadas.

A produção de ovos foi obtida dividindo-se o número médio de ovos postos por ave na semana pelo número médio de aves, multiplicado por sete e o resultado multiplicado por 100.

O consumo de ração por ave foi determinado semanalmente através da diferença entre a quantidade fornecida diariamente e as sobras existentes no final de cada período de sete dias, dividido por sete. O resultado foi dividido pelo número médio de aves de cada parcela e expresso em gramas por ave por dia.

O peso médio foi obtido dividindo-se o peso total dos ovos pelo seu número e o resultado expresso em gramas.

A massa de ovos foi obtida multiplicando-se o peso médio dos ovos pelo número de ovos produzidos no período e o resultado dividido pela multiplicação do número de aves da gaiola por sete. O valor obtido foi expresso em gramas de ovos por ave por dia.

Para a avaliação bromatológica da gema e do albúmen foram coletados quatro ovos de cada tratamento. Pesados individualmente, quebrados e pesados separadamente, seu albúmen e gema, seco em estufa a 60°C durante três dias. O material seco foi então analisado no Laboratório de Análises Bromatológicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, *Campus* de Botucatu, para determinação de seus teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas. Estes valores de proteína bruta, extrato etéreo e cinzas foram corrigidos para 100% de matéria seca.

Os resultados foram analisados pelo pacote de programa computacional SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética) desenvolvido por Euclides (1997). Foi utilizado o teste *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade para comparar os resultados significantes. A interação de tratamento estudado e semana de experimento foi realizada através de análise de regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1 - DESEMPENHO PRODUTIVO E BROMATOLOGIA DA GEMA E ALBÚMEN

Os resultados de desempenho produtivo ao final do período pré-experimental podem ser observados na Tabela 3. As aves que foram alimentadas com a dieta RC<sub>4</sub> (tratamento dois e quatro), terminaram este período em pior condição produtiva. Isto pode ser devido a esta dieta ser não palatável e conter desbalanço de aminoácidos.

**TABELA 3** – Desempenho produtivo de galinhas de postura ao final do período pré-experimental

| Tratamentos          | CM     | PO    | PMO   | MO    |
|----------------------|--------|-------|-------|-------|
| 1 - RC <sub>4</sub>  | 97,26  | 51,19 | 67,42 | 34,51 |
| 2 - RC <sub>3</sub>  | 93,81  | 23,81 | 65,69 | 15,64 |
| 3 - RMC <sub>4</sub> | 100,83 | 42,86 | 67,27 | 28,83 |
| 4 - RMC <sub>3</sub> | 84,01  | 31,29 | 67,24 | 21,11 |

CM = Consumo médio das aves (g/ave/dia); PO = produção de ovos (%); PMO = peso médio dos ovos (g) e MO = massa de ovos (g/ave/dia)

O consumo médio das aves (em g/ave/dia) no período experimental total (média do período) teve diferença significativa (Tabela 4). As aves do tratamento RC<sub>4</sub> tiveram o menor consumo, as aves dos tratamentos RC<sub>3</sub> e RMC<sub>3</sub> o maior consumo e as aves do tratamento RMC<sub>4</sub>, consumo intermediário.

No tratamento RC<sub>4</sub> ao final do período pré-experimental as aves estavam consumindo em média 97,26 g/ave/dia de ração, após a troca da ração passaram a consumir 84,23 g/ave/dia. Para o tratamento RC<sub>3</sub> e RMC<sub>3</sub>, acontece o inverso do tratamento RC<sub>4</sub>, as aves estavam consumindo em média, 93,81 e 84,01 g/ave/dia e após a troca passaram a consumir 141,67 e 142,69 g/ave/dia, respectivamente. O consumo do tratamento RC<sub>4</sub> manteve-se estável e abaixo do indicado no manual da linhagem (95-110 g/ave/dia) durante todo o período experimental, já para o tratamento RC<sub>3</sub> e RMC<sub>3</sub> o aumento exagerado no consumo que ocorreu na primeira semana é diminuído ao longo do experimento ( $p < 0,05$ ), chegando próximo ao indicado no manual da

linhagem. Esta observação pode ser devido à baixa palatabilidade da dieta RC<sub>4</sub> que continha alto teor de glúten de milho e desbalanço nutricional desta dieta. As aves que vinham da dieta RC<sub>4</sub> no período pré-experimental e passaram para as dietas RC<sub>3</sub> e RMC<sub>3</sub>, aumentaram exageradamente seu consumo (aumento de 51,02% e 69,85%, respectivamente), e ao contrário, as que estavam se alimentando da dieta RC<sub>3</sub> e passaram para a RC<sub>4</sub>, reduziram drasticamente o consumo (redução de 13,40%). No tratamento RMC<sub>4</sub>, o consumo médio no período pré-experimental era de 100,83 g/ave/dia, e passou para 105,61 g/ave/dia na primeira semana. Para este tratamento pode ser que a quantidade de glúten de milho contido na ração não foi o suficiente para tornar a ração não palatável, então a ave não restringiu o consumo como aconteceu com o tratamento RC<sub>4</sub>. Ao longo de todo período experimental o consumo neste tratamento manteve-se constante.

**TABELA 4** – Consumo (g/ave/dia) das aves experimentais, ao longo das semanas do experimento

| Semanas      | Tratamentos     |                 |                  |                  |
|--------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
|              | RC <sub>4</sub> | RC <sub>3</sub> | RMC <sub>4</sub> | RMC <sub>3</sub> |
| 1            | 84,23c          | 141,67aA        | 105,61b          | 142,69aA         |
| 2            | 80,95b          | 119,05aB        | 108,67a          | 116,84aB         |
| 3            | 86,19b          | 110,12aB        | 109,95a          | 116,92aB         |
| 4            | 85,12b          | 106,55aB        | 107,46a          | 110,47aB         |
| 5            | 84,61b          | 106,04aB        | 105,40a          | 107,14aB         |
| 6            | 92,46b          | 117,06aB        | 112,93a          | 110,88aB         |
| 7            | 87,84b          | 119,63aB        | 114,97a          | 113,61aB         |
| 8            | 81,63b          | 112,24aB        | 112,24a          | 109,78aB         |
| <b>Média</b> | <b>85,38c</b>   | <b>116,54a</b>  | <b>109,65b</b>   | <b>116,04a</b>   |

Letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

Letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

Para a produção de ovos, em porcentagem (Tabela 5), a média do período experimental total diferiu para todos os tratamentos (p<0,05), onde o tratamento RC<sub>4</sub> teve a pior produção e o tratamento RMC<sub>3</sub> a melhor. Ao longo do período experimental, as aves do tratamento RC<sub>4</sub> sofreram redução de 36,22% em sua produção de ovos. Esta

redução não foi sentida logo no início do período experimental, isto pode ser devido ao processo de formação do ovo. O ovário programa uma seqüência de óvulos, para um período de aproximadamente oito dias de produção. Dessa maneira, os ovos postos na primeira semana já estavam em processo de formação da gema e a queda então somente aconteceu na semana seguinte. O inverso disto aconteceu para o tratamento RC<sub>3</sub>, onde estava com produção baixa (23,81%) devido ao baixo consumo do período pré-experimental. Com o início do experimento, as aves receberam dieta mais palatável, aumentando o consumo, e conseqüentemente a produção após a segunda semana de experimento aumentou. Já para o tratamento RMC<sub>4</sub> a produção de ovos manteve-se constante, isto pode ser devido ao consumo não ter sido alterado, entre o período pré-experimental e experimental. A produção de ovos do tratamento RMC<sub>3</sub> seguiu a mesma tendência do tratamento RC<sub>3</sub>.

**TABELA 5** – Produção de ovos, em porcentagem, de galinhas de postura, ao longo das semanas do experimento

| Semanas      | Tratamentos     |                 |                  |                  |
|--------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
|              | RC <sub>4</sub> | RC <sub>3</sub> | RMC <sub>4</sub> | RMC <sub>3</sub> |
| 1            | 51,79abA        | 39,88abC        | 41,67abB         | 37,67bE          |
| 2            | 20,24cC         | 56,55abA        | 42,26bB          | 68,62abB         |
| 3            | 27,38dB         | 60,12bA         | 45,24cAB         | 73,81aA          |
| 4            | 39,29bAB        | 47,62abB        | 44,07bAB         | 59,55abC         |
| 5            | 28,15cB         | 47,36bB         | 49,92aA          | 60,54aC          |
| 6            | 28,28bB         | 49,44aAB        | 40,82aB          | 49,57aC          |
| 7            | 31,76cB         | 53,39aA         | 39,46bB          | 44,47abD         |
| 8            | 32,65cB         | 47,62bB         | 46,94bAB         | 54,85aC          |
| <b>Média</b> | <b>32,44d</b>   | <b>50,25b</b>   | <b>43,80c</b>    | <b>56,14a</b>    |

Letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

Letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

O peso médio dos ovos, em gramas, no período experimental, não variou significativamente ao longo das semanas. Para o período experimental total, as médias foram de 63,21; 69,89; 68,31 e 68,95 para os tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>

respectivamente. As aves do tratamento RC<sub>4</sub> produziram ovos menores e os outros tratamentos não tiveram diferença entre si ( $p < 0,05$ ).

Para massa de ovos (g/ave/dia), no período experimental total (Tabela 6), todas as médias dos tratamentos diferiram entre si ( $p < 0,05$ ). A massa de ovos variou de acordo com a produção de ovos, isto porque para o cálculo leva-se em consideração a produção e o peso médio e apenas a produção de ovos variou. O tratamento RC<sub>4</sub> apresenta o pior desempenho e o tratamento RMC<sub>3</sub> o melhor.

**TABELA 6** – Massa de ovos (g/ave/dia), das aves experimentais, ao longo das semanas do experimento

| Semanas      | Tratamentos     |                 |                  |                  |
|--------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
|              | RC <sub>4</sub> | RC <sub>3</sub> | RMC <sub>4</sub> | RMC <sub>3</sub> |
| 1            | 34,03A          | 28,09C          | 28,86B           | 26,16E           |
| 2            | 8,93cC          | 40,58aA         | 29,15bB          | 46,73aB          |
| 3            | 18,33cB         | 42,83aA         | 30,95bAB         | 51,85aA          |
| 4            | 26,24bAB        | 33,66aB         | 29,84bAB         | 41,65aB          |
| 5            | 18,46bB         | 32,55aB         | 33,50aA          | 41,67aB          |
| 6            | 18,58bB         | 34,42aB         | 28,02aB          | 33,62aC          |
| 7            | 20,52cB         | 36,22aAB        | 26,61bB          | 30,28abD         |
| 8            | 21,46cB         | 32,76bB         | 32,40bA          | 37,91aC          |
| <b>Média</b> | <b>20,82d</b>   | <b>35,14b</b>   | <b>29,91c</b>    | <b>38,73a</b>    |

Letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Os valores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas, corrigidos para 100% de matéria seca, do albúmen e da gema estão na Tabela 7. Não houve diferença significativa para os tratamentos ( $p > 0,05$ ), isto porque a ave produz o ovo visando a nutrição do pintinho, que necessita do perfeito balanceamento dos nutrientes para o seu desenvolvimento. Mesmo que a dieta esteja deficiente em algum nutriente, para a produção do ovo a ave mobiliza estes das suas reservas.

**TABELA 7** - Avaliação bromatológica do albúmen e gema (média  $\pm$  desvio padrão) dos tratamentos estudados

| Variáveis |         | Tratamentos      |                  |                  |                  |
|-----------|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|           |         | RC <sub>4</sub>  | RC <sub>3</sub>  | RMC <sub>4</sub> | RMC <sub>3</sub> |
| MS        | Albúmen | 11,63 $\pm$ 0,42 | 12,08 $\pm$ 1,69 | 10,75 $\pm$ 0,01 | 12,95 $\pm$ 2,76 |
|           | Gema    | 47,82 $\pm$ 0,88 | 49,08 $\pm$ 1,07 | 47,81 $\pm$ 0,11 | 49,79 $\pm$ 1,40 |
| PB        | Albúmen | 83,69 $\pm$ 3,61 | 80,72 $\pm$ 3,69 | 84,86 $\pm$ 0,63 | 83,03 $\pm$ 2,23 |
|           | Gema    | 33,37 $\pm$ 2,75 | 34,19 $\pm$ 0,94 | 33,33 $\pm$ 1,69 | 32,94 $\pm$ 0,82 |
| EE        | Albúmen | 0,58 $\pm$ 0,40  | 0,91 $\pm$ 1,07  | 0,22 $\pm$ 0,04  | 0,50 $\pm$ 0,12  |
|           | Gema    | 59,65 $\pm$ 1,94 | 57,91 $\pm$ 0,98 | 51,11 $\pm$ 7,34 | 57,76 $\pm$ 0,58 |
| MM        | Albúmen | 4,58 $\pm$ 0,69  | 5,01 $\pm$ 1,42  | 4,40 $\pm$ 0,09  | 5,75 $\pm$ 1,28  |
|           | Gema    | 3,28 $\pm$ 0,32  | 3,29 $\pm$ 0,31  | 3,09 $\pm$ 0,55  | 3,30 $\pm$ 0,49  |

MS = matéria seca; PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo e MM = matéria mineral. Expressos em porcentagem.

## 2 - TURNOVER

Os resultados das análises isotópicas do  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  das rações experimentais podem ser observados na Tabela 2 juntamente com a composição percentual dos ingredientes utilizados e níveis nutricionais calculados.

As Figuras 2, 3, 4 e 5 ilustram o comportamento do *turnover* no sangue, ovo, gema e albúmen, respectivamente.

A mudança no valor do  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  dos tecidos ao longo do tempo acontece gradativamente até alcançar o novo equilíbrio. No início do período experimental as aves do tratamento RC<sub>4</sub> apresentavam razões isotópicas de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  de -25,58‰ para o sangue, -26,92‰ para o ovo (gema + albúmen), -28,00‰ para a gema e -25,78‰ para o albúmen, e após cinquenta e seis dias de experimento, esses valores passaram a ser de -11,95‰, -13,10‰, -13,01‰ e -12,30‰, respectivamente.

Para as aves do tratamento RC<sub>3</sub>, as razões isotópicas de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  que eram de -14,01‰ para o sangue, -11,41‰ para o ovo (gema + albúmen), -10,43‰ para a gema e -11,60‰ para o albúmen, no final do experimento, esses valores passaram a ser de -26,15‰, -26,36‰, -27,13‰ e -26,14‰ respectivamente.

No tratamento RMC<sub>4</sub>, as razões isotópicas de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  que eram de -25,58‰ para o sangue, -27,24‰ para o ovo (gema + albúmen), -27,64‰ para a gema e -25,92‰ para o albúmen, após cinquenta e seis dias, esses valores passaram a ser de -17,43‰, -17,41‰, -17,67‰ e -17,06‰ respectivamente.

E finalmente, no tratamento RMC<sub>3</sub>, as razões isotópicas de  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  que eram de -14,03‰ para o sangue, -12,47‰ para o ovo (gema + albúmen), -12,54‰ para a gema e -9,94‰ para o albúmen, no final do experimento, esses valores passaram a ser de -21,90‰, -21,89‰, -22,50‰ e -21,20‰ respectivamente.

Os valores médios do  $\delta\text{‰}^{13}\text{C}$  em função do tempo, a meia-vida, o tempo total de substituição e suas respectivas equações, para o sangue de aves de postura podem ser observados na Figura 2. Verificou-se que, para as aves do tratamento RC<sub>3</sub> a meia-vida do carbono no sangue foi de 5,3 dias, enquanto que para as do tratamento RC<sub>4</sub> foi de 13,3 dias. Estes resultados estão de acordo com Carrijo *et al.* (2000), que avaliando o *turnover* do fígado e ovo de poedeiras, encontraram valores de meia-vida muito maiores quando se substituía a ração C<sub>3</sub> por C<sub>4</sub> do que o inverso. A diferença encontrada nos valores da meia-vida do sangue em função da troca das dietas de ciclos fotossintéticos distintos (de C<sub>3</sub> para C<sub>4</sub>), da ordem de 2,5 vezes mais lenta, pode ser explicada, em parte, pela redução drástica no consumo das aves (Tabela 4), uma vez que o glúten de milho pode ter reduzido a palatabilidade da ração.

Gonzalez (2002) afirma que a oferta de água muito doce (20% de sacarose) ou com substâncias amargas são normalmente rejeitadas pelas aves. Isto também é verdadeiro para alimento sólido, as aves rejeitam alimentos muito doce ou amargo (Balog & Millar, 1989).

Além disso, o balanço de aminoácidos da dieta RC<sub>3</sub> diferiu em relação à dieta RC<sub>4</sub> (Tabela 2), onde apenas os níveis de exigência de metionina e lisina foram corrigidos. Em função disso, os níveis de triptofano da dieta RC<sub>4</sub> ficaram aquém das exigências nutricionais das aves, onde a exigência de triptofano para aves de postura nesta fase é de 0,18%, e o nível de triptofano calculado da dieta RC<sub>4</sub> foi de 0,08%. Onde este desbalanço pode também ter causado queda no consumo.

Estudos têm demonstrado que a ave pode controlar o consumo de alimento com base na quantidade e qualidade da sua proteína. Além disso, a quantidade e balanceamento entre os aminoácidos são fatores determinantes. A teoria de regulação da

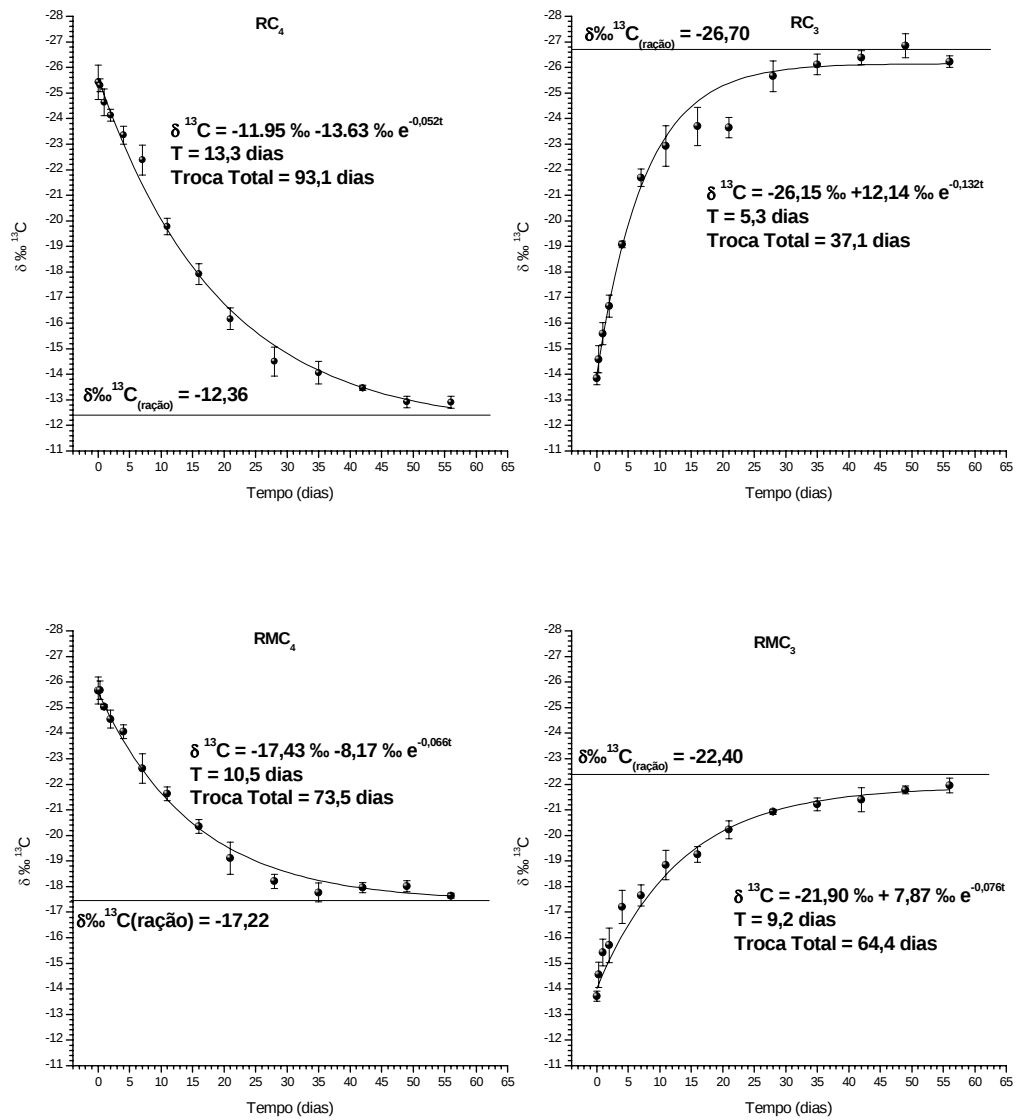
ingestão de alimento, por proteína dietética, parte do princípio de que ocorre ativação de sistemas de controle, no sistema nervoso central, baseados na detecção dos níveis plasmáticos de aminoácidos e, particularmente, daqueles nutricionalmente essenciais (Gonzalez, 2002).

O mecanismo da regulação da ingestão de alimentos seria essencialmente homeostático, com variações no consumo de alimento dependendo da qualidade e quantidade protéica da ração. O alimento com grave desbalanceamento de aminoácidos induziria a decréscimo acentuado do consumo. Já o desbalanceamento não severo poderia provocar aumento do consumo do alimento (Boorman, 1979). Entretanto, um animal alimentado com ração de baixo nível protéico apresenta baixa intensidade de metabolização de nitrogênio, o que resulta em menor habilidade de catabolizar a fonte desbalanceada em aminoácidos. Assim, mesmo que o alimento apresente desbalanceamento de aminoácidos não severo, o fato de ter nível protéico baixo induz ao menor consumo desse alimento.

Estes fatores podem ter contribuído para redução do metabolismo da ave, e conseqüentemente, do *turnover* do carbono do sangue.

Para o sangue das poedeiras dos tratamentos intermediários, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, os valores de meia-vida do carbono encontrados foram de 10,5 dias e 9,2 dias, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Hobson & Clark (1992a), que trabalhando com a substituição de dieta predominante C<sub>3</sub> por C<sub>4</sub> em codornas, obtiveram meia-vida do carbono do sangue de 11,4 dias. Era esperado que esses valores de meia-vida fossem mais próximos ao encontrado para o tratamento RC<sub>3</sub>, pois o consumo destes três tratamentos foram próximos e o balanço de triptofano provavelmente seria menos prejudicial às aves em relação a dieta exclusivamente C<sub>4</sub>, porque a interferência da dieta no metabolismo animal deve estar mais relacionado ao atendimento das exigências nutricionais do que ao tipo de ciclo fotossintético das plantas que originam as dietas.

Os tempos de substituição de 99,22% dos átomos de carbono do sangue pelos das novas dietas (dietas experimentais), foram de 93,1; 37,1; 73,5 e 64,4 dias para os tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub> respectivamente.

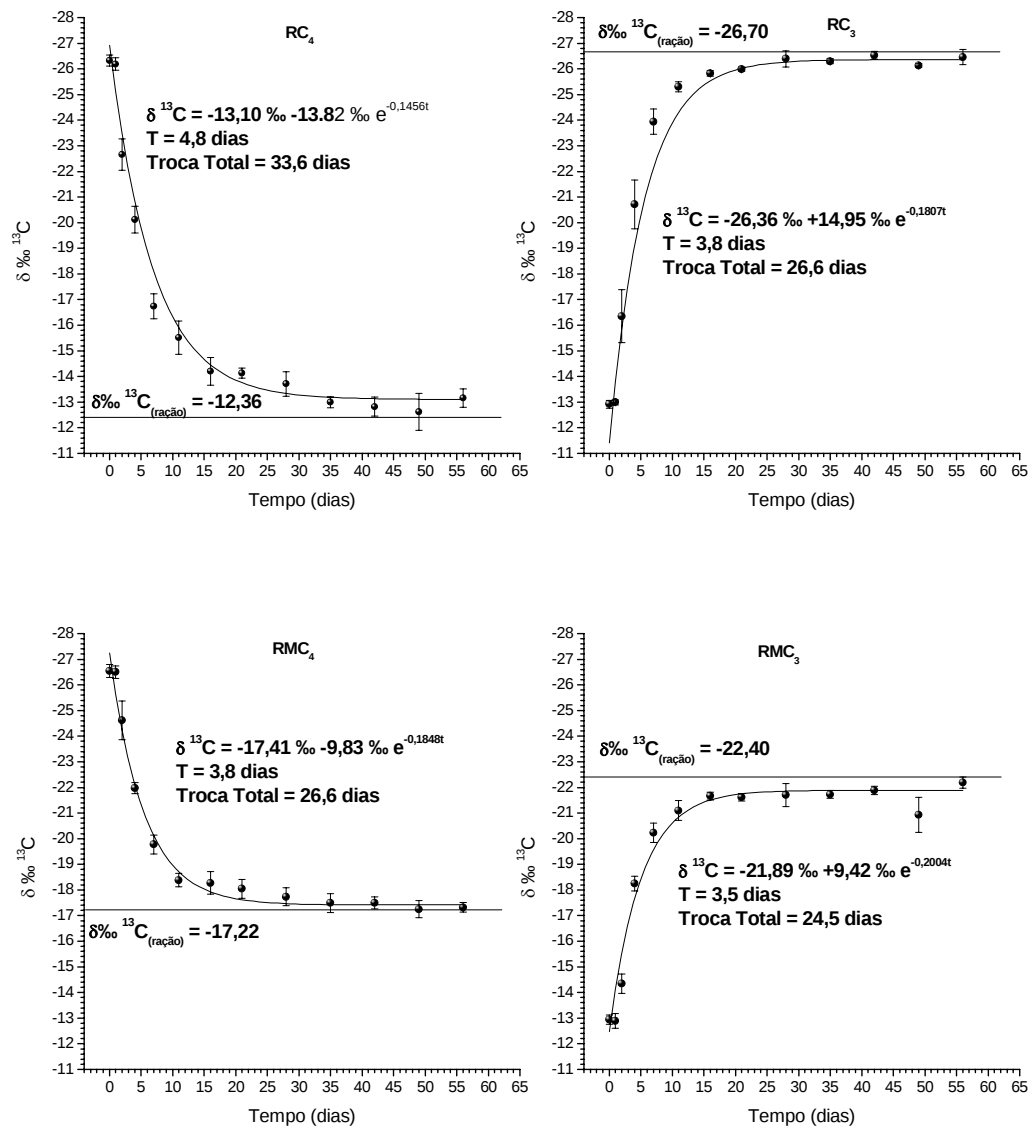


**FIGURA 2-** Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média  $\pm$  desvio-padrão,  $n = 4$ ) do sangue de poedeiras e valores de meia vida, em dias ( $R = 0,99$ ).

Os valores médios do  $\delta\text{‰ }^{13}\text{C}$  em função do tempo, a meia-vida e suas respectivas equações, para o ovo (gema + albúmen) de aves de postura alimentadas com dietas compostas exclusivamente por plantas do ciclo  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  podem ser observados na Figura 3. Verificou-se que, para as aves do tratamento  $\text{RC}_3$  a meia-vida do carbono no ovo foi de 3,8 dias, enquanto que para as do tratamento  $\text{RC}_4$  foi de 4,8 dias. Estes resultados estão de acordo com Carrijo *et al.* (2000), que avaliando as taxas de *turnover* do fígado e ovo de poedeiras, encontraram valores de meia-vida de 4,0 dias quando trocaram a dieta  $\text{C}_3$  pela dieta  $\text{C}_4$  e de 3,7 dias quando trocaram a dieta  $\text{C}_4$  pela dieta  $\text{C}_3$ .

Já para o ovo de poedeiras alimentadas com as dietas  $\text{RMC}_4$  e  $\text{RMC}_3$ , os valores de meia-vida do carbono encontrados foram de 3,8 dias e 3,5 dias, respectivamente.

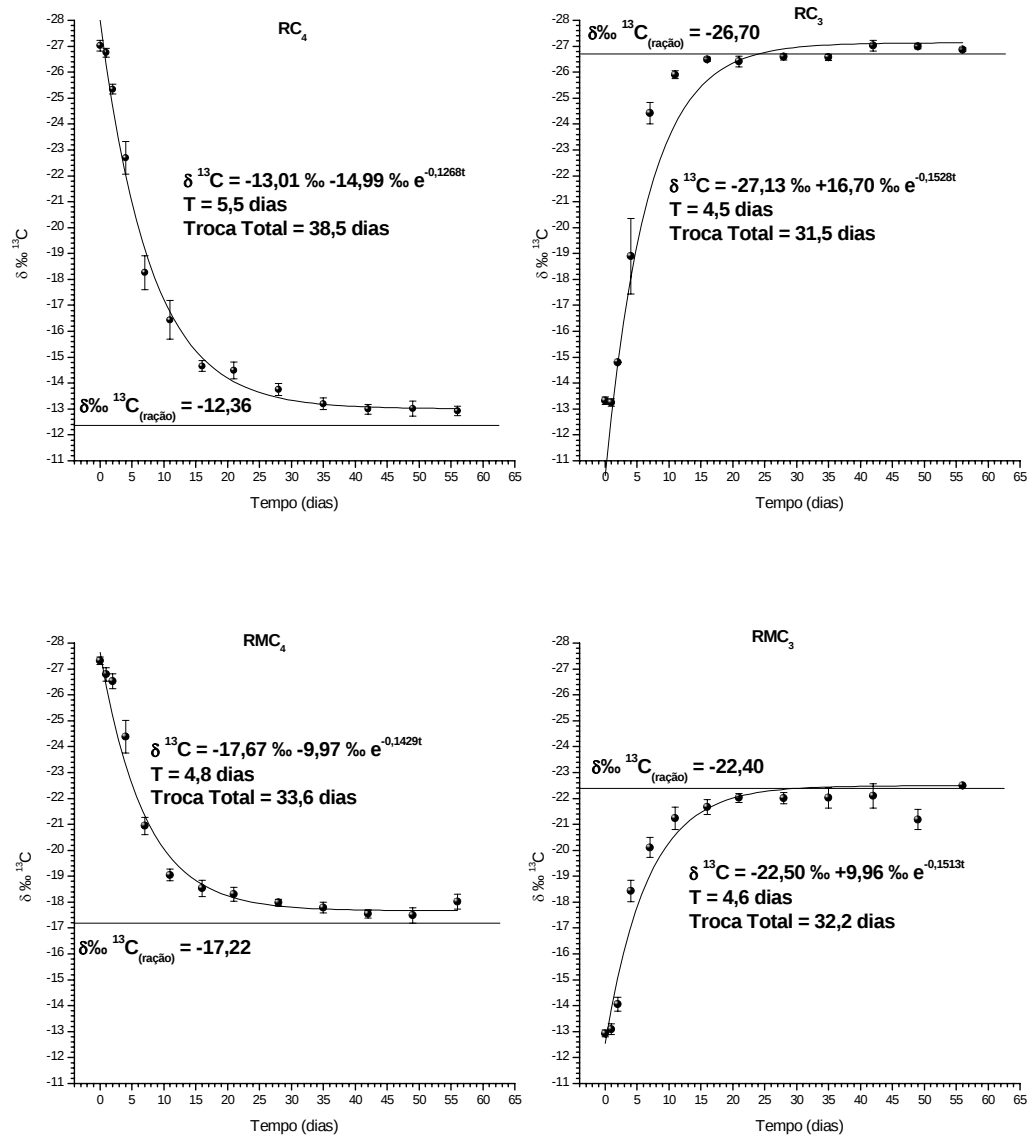
Para substituição de 99,22% dos átomos de carbono do ovo pelos das novas dietas (dietas experimentais), levaram-se 33,6; 26,6; 26,6 e 24,5 dias para os tratamentos  $\text{RC}_4$ ,  $\text{RC}_3$ ,  $\text{RMC}_4$  e  $\text{RMC}_3$ , respectivamente.



**FIGURA 3** – Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média  $\pm$  desvio-padrão,  $n = 4$ ) do ovo (gema + albúmen) de poedeiras e valores de meia-vida, em dias ( $R = 0,98$ ).

Na Figura 4 podem ser observados os valores médios do  $\delta\text{‰ }^{13}\text{C}$  em função do tempo, a meia-vida e suas respectivas equações, para a gema dos ovos. Verificou-se que, para as aves do tratamento  $\text{RC}_3$  a meia-vida do carbono na gema foi de 4,5 dias, enquanto que para as do tratamento  $\text{RC}_4$  foi de 5,5 dias. Os valores de meia-vida do carbono encontrados para as gemas das aves do tratamento  $\text{RMC}_4$  e  $\text{RMC}_3$  foram de 4,8 dias e 4,6 dias, respectivamente. Estes valores foram intermediários aos encontrados para os tratamentos  $\text{RC}_4$  e  $\text{RC}_3$ . Dentro dos respectivos tratamentos, o valor de meia-vida da gema foi maior que a meia-vida do ovo, isto devido ao processo fisiológico de formação do ovo. O ovário programa uma seqüência de óvulos em diferentes estágios de desenvolvimento (aproximadamente oito dias de produção), portanto, nos ovos do início do experimento, a gema sofre grande influência da razão isotópica de carbono-13 da ração anterior.

Os tempos de substituição de 99,22 % dos átomos de carbono da gema pelos das novas dietas (dietas experimentais), foram de 38,5; 31,5; 33,6 e 32,2 dias para os tratamentos  $\text{RC}_4$ ,  $\text{RC}_3$ ,  $\text{RMC}_4$  e  $\text{RMC}_3$ , respectivamente. Hobson (1995), estudando *turnover* dos componentes dos ovos de codorna, afirma que a substituição total dos carbonos da gema ocorre em oito dias, estes dados são diferentes dos encontrados neste estudo, o qual pode ser devido ao fato de que o autor trabalhou com espécie e dietas diferentes e, além disso, as codornas estavam produzindo ovos diariamente, ao contrário do estava acontecendo com as aves deste experimento que produziam um ovo a cada dois dias.

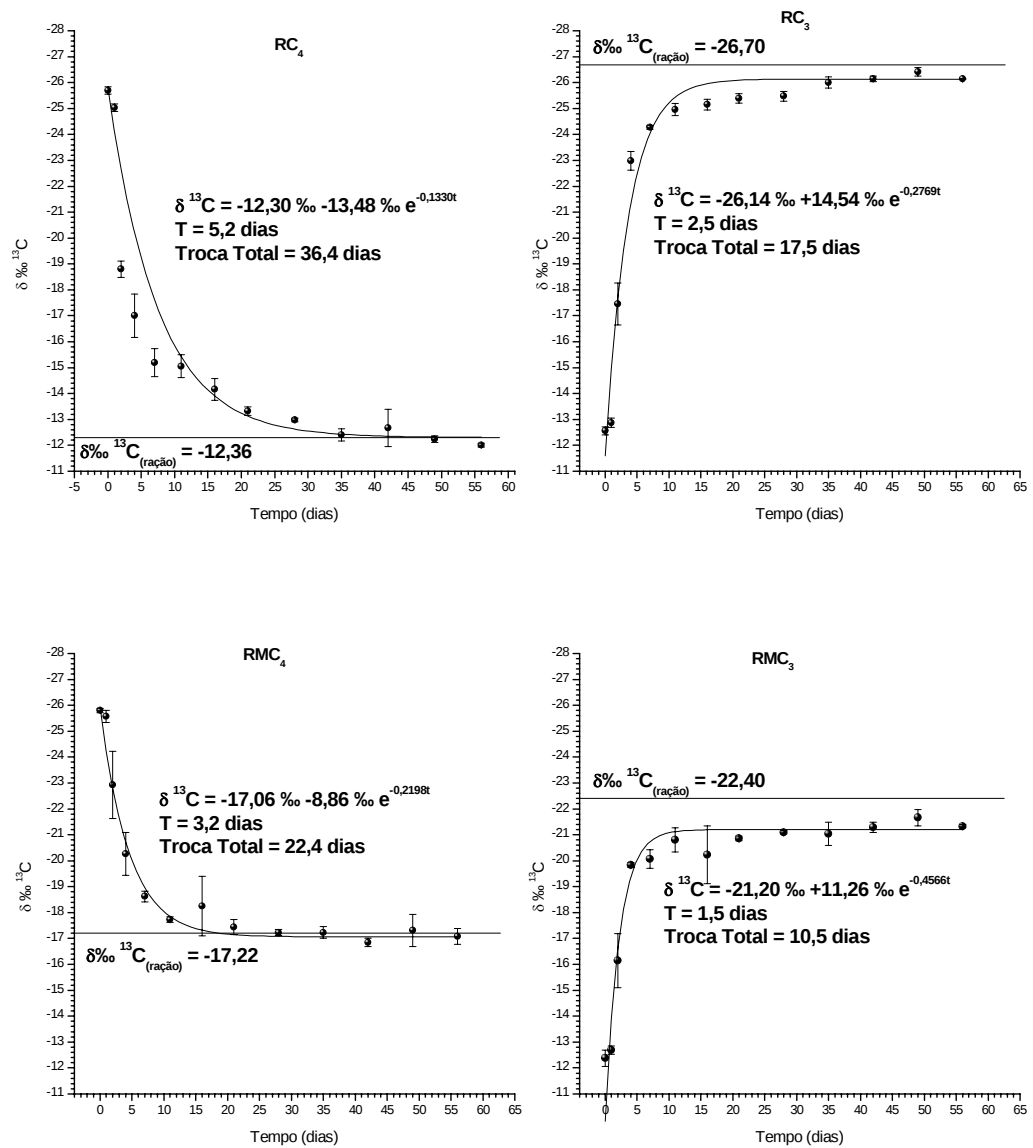


**FIGURA 4** – Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média  $\pm$  desvio-padrão,  $n = 4$ ) da gema de poedeiras e valores de meia-vida, em dias ( $R = 0,99$ ).

A Figura 5 corresponde aos valores médios do  $\delta\text{‰ }^{13}\text{C}$  em função do tempo, a meia-vida e suas respectivas equações, para o albúmen dos ovos. As aves do tratamento RC<sub>4</sub> tiveram meia-vida do carbono no albúmen de 5,2 dias, enquanto que para as aves dos tratamentos RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub> os valores de meia-vida do carbono para o albúmen foram de 2,5; 3,2 e 1,5 dias, respectivamente. O valor de meia-vida do albúmen, dentro dos respectivos tratamentos, foi menor que a meia-vida da gema e do ovo, isto devido ao processo fisiológico de formação do ovo. A deposição do albúmen ao redor da gema ocorre no magnun e leva em torno de 2,5 horas e as proteínas do albúmen são sintetizadas de aminoácidos provenientes diretamente do plasma sanguíneo. Hobson (1995), estudando *turnover* dos componentes dos ovos de codorna, afirma que devido às proteínas do albúmen serem sintetizadas de aminoácidos removidos diretamente do sangue no magnun e o albúmen ser depositado rapidamente ao redor da gema, este reflete a nova dieta antes da gema. Isto explica a meia-vida do albúmen ser menor que a da gema e do ovo (gema + albúmen).

O *turnover* do albúmen do tratamento RC<sub>4</sub> foi bem mais lento que os outros tratamentos. A explicação para isto seria que o *turnover* do sangue dessas aves também foi muito mais lento. Como os aminoácidos para a formação do albúmen são retirados diretamente do plasma sanguíneo e o sangue dessas aves ainda continha carbonos da dieta antiga, estes podem ter sido direcionados para a formação do albúmen nestas aves.

Os tempos de substituição de 99,22 % dos átomos de carbono do albúmen pelos das novas dietas (dietas experimentais), foram de 36,4; 17,5; 22,4 e 10,5 dias para os tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, respectivamente. Hobson (1995), estudando *turnover* dos componentes dos ovos de codorna, afirma que o albúmen alcança novo equilíbrio em três a cinco dias. A explicação para a diferença encontrada para estes dados é a mesma que a dada para a diferença na gema.



**FIGURA 5** - Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média  $\pm$  desvio-padrão,  $n = 4$ ) do albúmen de poedeiras e valores de meia vida, em dias ( $R = 0,95$ ).

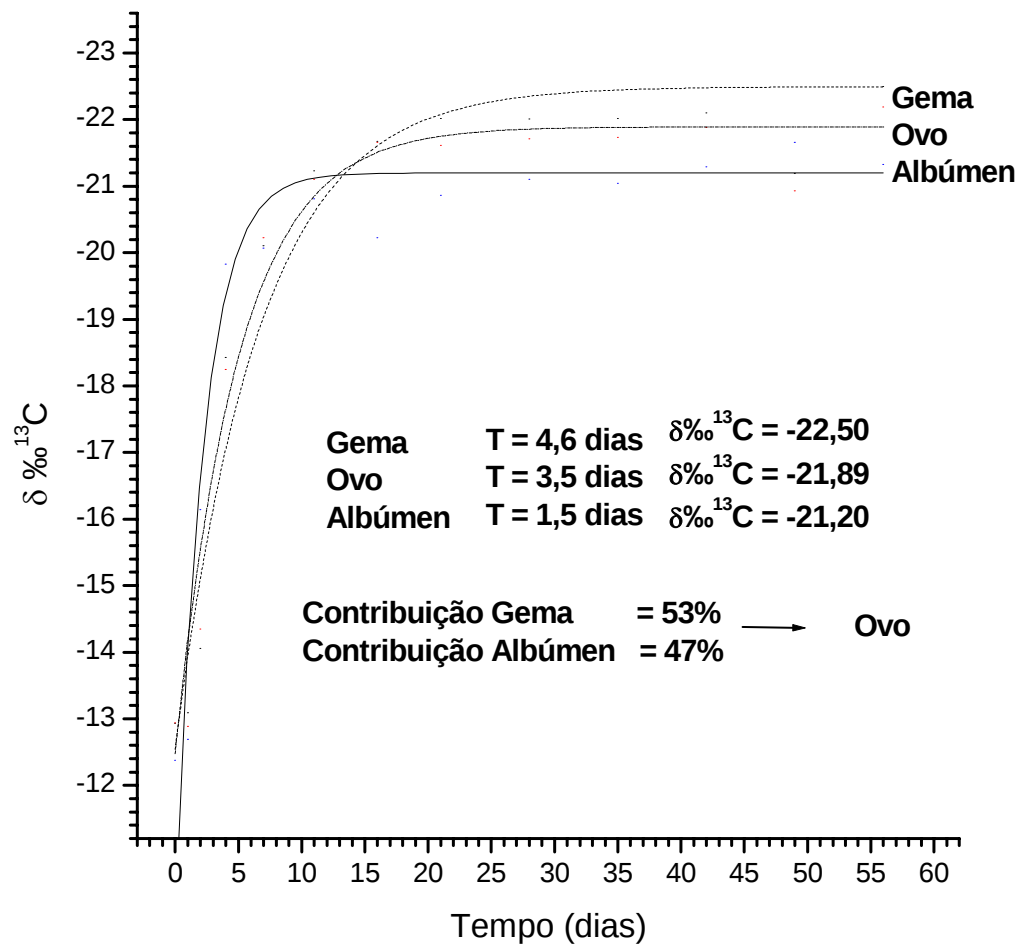
A explicação para que o *turnover* do tratamento RC<sub>4</sub> no ovo e seus componentes (gema e albúmen) tenham diferido dos outros tratamentos é que a dieta exclusivamente C<sub>4</sub> foi menos palatável e desbalanceada em aminoácidos e isso fez com que as aves restringissem o consumo, agravando ainda mais a falta de sintetização de novos nutrientes para a formação do ovo, e conseqüentemente obrigando a ave mobilizar suas reservas, deixando mais lento o *turnover* nestes tecidos.

Os outros tratamentos não diferiram entre si, com valores de meia-vida menores no ovo e seus os componentes (gema e albúmen) para o tratamento quatro, onde a dieta RMC<sub>3</sub> alcançou melhor balanceamento de aminoácidos, em relação, por exemplo, ao nível de metionina, lisina e triptofano, as quais estavam mais próximos ao recomendado para estas aves (que é de 0,40% de metionina; 0,80% de lisina e 0,18% de triptofano, segundo Rostagno *et al.* (2000)). A aves estavam com consumo próximo do normal, conseqüentemente, obtendo melhores índices produtivos.

O *turnover* do ovo, intermediário ao da gema e do albúmen, dentro de cada tratamento, mostra a influência de cada componente (gema e albúmen) no processo de formação do ovo, onde a gema leva mais tempo para refletir a nova dieta e o albúmen reflete mais rapidamente.

Além disso, pode-se observar neste estudo que há a possibilidade de construir modelos teóricos, utilizando os conhecimentos de diluição isotópica de duas fontes e um produto. O carbono presente no ovo livre de gordura reflete a soma dos carbonos da gema livre de gordura e dos carbonos do albúmen. Esta idéia surgiu da observação dos dados do melhor tratamento encontrado (RMC<sub>3</sub>).

Este tratamento sugere que 53% do carbono presente no ovo desengordurado origina-se da gema desengordurada e 47% do albúmen (Figura 6). Estes dados merecem mais estudos, porque provavelmente estes valores irão variar se comparar o ovo e gema com a presença dos lipídeos.



**FIGURA 6** – Curvas de substituição do carbono na gema, ovo e albúmen do tratamento RMC<sub>3</sub>. Modelo simples de diluição isotópica

### 3 - FRACIONAMENTO ISOTÓPICO

O fracionamento isotópico nas áreas biológicas tem sido expresso pela diferença entre o  $\delta\text{‰}$  do tecido e da dieta, o qual pode ser sintetizado pela equação (2):

$$\Delta = \delta\text{‰}_{\text{tecido}} - \delta\text{‰}_{\text{dieta}} \quad (2)$$

A qual, como regra geral é sempre positiva. O valor positivo no grande delta ( $\Delta$ ), indica que o tecido é mais rico em carbono-13 do que a dieta (Hobson & Clark, 1992a).

Para sangue os valores encontrados foram de 0,41‰, 0,55‰, -0,21‰ e 0,50‰, para os tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, respectivamente.

Para o ovo (gema + albúmen), o fracionamento isotópico encontrado foi de -0,74‰, 0,34‰, -0,19‰ e 0,51‰, para os tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, respectivamente.

O fracionamento isotópico gema-dieta dos tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, foi de -0,65‰, -0,43‰, -0,45‰ e -0,10‰, respectivamente.

E finalmente para o albúmen, nos tratamentos RC<sub>4</sub>, RC<sub>3</sub>, RMC<sub>4</sub> e RMC<sub>3</sub>, foi de 0,06‰, 0,56‰, 0,16‰ e 1,20‰, respectivamente.

Estes resultados concordam com a expressão de ordem geral de DeNiro & Epstein (1978), os quais afirmam que "o animal é aquilo que consome  $\pm 1\text{‰}$  para carbono-13", entretanto, a média geral encontrada para os tecidos em questão foi de  $0,1 \pm 0,5\text{‰}$ , refletindo bem a dieta consumida, com o mínimo de fator de fracionamento.

Bearhop *et al.*, 2002, estudando fatores que influenciam as taxas de assimilação e fracionamento do nitrogênio e carbono em sangue e penas de aves marinhas, alimentadas com peixe e carne, encontraram valores de fracionamento dieta-sangue para o carbono variando de 1,1 a 2,3‰. A variação encontrada neste trabalho, foi de -0,21 a 0,55‰. Talvez a explicação para as diferenças entre estes fatores de fracionamento, seja devido as diferentes espécies, com diferentes hábitos alimentares (ave carnívora versus herbívora).

Hobson, 1995 determinando fracionamento dieta-tecido dos componentes dos ovos de aves de diferentes espécies, encontrou na gema livre de lipídeos, valores variando de -1,0 a 0,2‰ e no albúmen, variando de 0,8 a 1,6‰, resultados estes, semelhantes aos encontrados neste estudo.

## CONCLUSÕES

O *turnover* é influenciado pela qualidade da dieta oferecida à ave. A comparação entre as meias-vidas dos tecidos estudados mostra que o tratamento que recebeu dieta exclusivamente C<sub>4</sub>, que possui baixa palatabilidade e desbalanço de aminoácidos, apresentou valores de meia-vida maiores que os outros tratamentos.

O *turnover* do ovo, intermediário ao da gema e do albúmen, dentro de cada tratamento, mostra a influência de cada componente (gema e albúmen) no processo de formação do ovo, onde a gema leva mais tempo para refletir a nova dieta e o albúmen reflete mais rapidamente.

A taxa de substituição do carbono é mais rápida para o ovo e seus componentes (gema e albúmen) do que para o sangue.

Os tecidos estudados, pelo fato de apresentarem baixo fracionamento isotópico, refletem bem a dieta consumida.

A composição bromatológica, para a gema e o albúmen, nos tratamentos estudados não variaram significativamente, isto porque a ave produz o ovo visando a perpetuação da espécie, faltando algum nutriente em sua dieta, para a produção do ovo a ave mobiliza estes das suas reservas.

A dieta RMC<sub>3</sub> mostrou ser de melhor qualidade, porque proporcionou melhor desempenho produtivo (melhor consumo para alta produção de ovos e melhor massa de ovos), taxa de substituição do carbono mais rápida que a dieta desbalanceada (exclusivamente C<sub>4</sub>) e meia-vida menor para o ovo (gema + albúmen), gema e albúmen.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALOG, J.M., MILLAR, R.I. Influence of the sence of taste on broiler chick feed consumption. **Poultry Science**, v.68, n.11, p. 123-140, 1989.
- BEARHOP, S., WALDRON, S., VOLTIER, S. C., FURNESS, R. W. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.75, n.5, p. 451-458, 2002.
- BOORMAN, K. N. Regulation of protein and amino acid intake. **In:** Food intake regulation in Poultry. Edinburg: British Poultry Science, Ltd., 1979. p. 87-126.
- CARRIJO, A.S., PEZZATO, A.C., DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, p. 1519-1526, 2000.
- DENIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.42, p. 495-506, 1978.
- DUCATTI, C. *Isótopos estáveis ambientais*. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista, 138p., 2004.
- 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**, v.59. n.1, p. 29-33, jan./mar. 2002.
- EUCLYDES, R.F. Sistema para Análises Estatísticas (SAEG) versão 7.1. Viçosa, MG: UFV, 1997, 152p.

- GANNES, L.Z.; RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.119A, n.3, p. 725-737, 1998.
- GONZALES, E. Ingestão de alimentos: Mecanismos regulatórios **In: Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP-UNESP; 2002. p. 187-199.
- HOBSON, K.A. Reconstructing avian using stable-carbon and nitrogen isotope analysis of egg components: patterns of isotopic fraction and turnover. **The Condor**, v. 97, p. 752-762, 1995.
- HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, v.94, p.181-188, 1992a.
- HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, v.94, p.189-197, 1992b.
- LICATTI, F. *Isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) em plantas do ciclo bioquímico  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$* . Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 1997, 65p., Monografia.
- MICROCAL SOFTWARE ORIGIN<sup>®</sup>6.0 PROFESSIONAL. Origin Data Analysis and Technical Graphics. USA, Microcal Software Inc., 1999.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C. Tabelas brasileiras para aves e suínos: **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa (MG), UFV, 141p., 2000.
- 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**, v. 57, p. 32-37, 1983.

## IMPLICAÇÕES

Tendo em vista a situação atual e a perspectiva futura do comércio internacional de produtos agropecuários, a proibição da utilização de subprodutos de origem animal em rações, a técnica dos isótopos estáveis pode possibilitar a certificação de ovos e subprodutos para exportação atendendo a exigência do mercado consumidor. A estimativa do tempo de substituição total do carbono (*turnover*) dos ovos e seus componentes pode estabelecer o tempo de carência para a comercialização de “ovos verdes” provenientes de poedeiras comerciais que se alimentavam de dieta com subproduto de origem animal e passaram a se alimentar de dieta estritamente vegetal.

Este estudo serve como base de metodologia para a produção de ovos marcados em carbono-13 para outras áreas, como por exemplo, farmacologia, enfermagem e nutrição de animais silvestres. Dietas originárias de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> irão originar ovos pobres em carbono-13, ao contrário de plantas C<sub>4</sub>.

Novas pesquisas são necessárias com o objetivo de encontrar respostas às dúvidas de indagações paralelas encontradas neste experimento.

A utilização de novos ingredientes protéicos de origem C<sub>4</sub> para a substituição do glúten de milho, verificando se este é o causador da não palatabilidade da dieta RC<sub>4</sub>, responsável pelo menor consumo. Além disso, esta técnica pode ser aplicada em estudos de alimentos alternativos e dos efeitos na nutrição e produção de poedeiras comerciais.

A fim de tentar responder às questões de desbalanço de aminoácidos sobre o *turnover* de sangue, sugere-se a realização da troca de dietas de diferentes ciclos fotossintéticos (C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>), com tratamento controle dieta totalmente balanceada para os aminoácidos essenciais (metionina, lisina, treonina, triptofano). Na sequência, tratamentos com restrição de um aminoácido de cada vez.

Neste estudo foram utilizadas aves no final da vida produtiva, isto provavelmente pode ter interferido na taxa de substituição dos carbonos dos ovos e seus componentes (gema e albúmen), pelos da nova dieta. Novos estudos são necessários para investigar se a fase produtiva da ave interfere ou não no *turnover* do ovo.

Verificar se o *turnover* para nitrogênio-15 se comporta do mesmo modo que o *turnover* do carbono-13 para os tecidos estudados.

Segundo Hobson & Clark (1992a) o turnover do sangue se comporta semelhantemente ao do músculo da ave, mas as frações do sangue muito provavelmente devem ser diferentes, devido o plasma ser o pool da maior parte dos nutrientes em transito. Dependendo do estado fisiológico da ave (absortivo ou mobilização de reservas), este pode refletir o estresse da ave causado pela dieta.