

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

***TURNOVER DO CARBONO-13 EM TECIDOS DE
FRANGOS DE CORTE PELO MÉTODO DE
LINEARIZAÇÃO***

JESSICA CONTEÇOTE RUSSO

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

BOTUCATU - SP
Julho – 2014

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

***TURNOVER DO CARBONO-13 EM TECIDOS DE
FRANGOS DE CORTE PELO MÉTODO DE
LINEARIZAÇÃO***

JESSICA CONTEÇOTE RUSSO

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTÔNIO CELSO PEZZATO

Co-ORIENTADORA: Prof. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori

Co-ORIENTADORA: Pós-Dra. Vanessa Cristina Pelícia

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

BOTUCATU - SP
Julho - 2014

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

Russo, Jessica Conteçote, 1988-
R969t Turnover do carbono-13 em tecidos de frangos de corte pelo método de linearização/ Jessica Conteçote Russo. - Botucatu : [s.n.], 2014
ix, 60 f. : grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014

Orientador: Antônio Celso Pezzato
Coorientador: Maria Márcia Pereira Sartori
Coorientador: Vanessa Cristina Pelícia
Inclui bibliografia

1. Frango de corte - Criação. 2. Ave doméstica - Alimentação e Rações. 3. Isótopos estáveis. I. Pezzato, Antônio Celso. II. Sartori, Maria Márcia Pereira. III. Pelícia, Vanessa Cristina. IV. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. V. Título.

“A força de vontade deve ser mais forte do que a habilidade”

(Muhammad Ali)

*“Nunca ande pelo caminho traçado,
pois ele conduz somente até onde os outros foram”*

(Alexandre Graham Bell)

OFEREÇO

À Deus, por tudo que fez e faz em minha vida, por iluminar meus caminhos em momentos de incertezas e por dar-me sabedoria e tranqüilidade para enfrentar e vencer obstáculos. E também por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho.

DEDICO

Aos meus pais, Eduardo e Nilza, por todo o esforço dedicado à minha formação profissional e pessoal. Pelas abdicções efetuadas ao longo dos anos em prol da minha felicidade. Amo vocês, por tudo que são e representam em minha vida.

À minha irmã gêmea, Natália, por sempre estar ao meu lado, me auxiliar sempre que preciso, por estar sempre presente na minha vida, nos momentos de alegria e descontração.

Muito obrigado por tudo que vocês fizeram e ainda fazem por mim. Graças a vocês, pude alcançar mais esse objetivo.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Meu eterno agradecimento ao Prof. Dr. Antônio Celso Pezzato, pelos ensinamentos, pela orientação, pela dedicação e pela amizade que construímos ao longo dos últimos anos. Muito obrigada por acreditar na minha capacidade e confiar em mim.

AGRADECIMENTOS

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP-PROC.2012/09137-6) pela bolsa de estudos concedida, e pelo auxílio financeiro (FAPESP- Temático PROC. 2008/57411-4).

Ao Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP/Botucatu pelo acolhimento.

Aos professores dos Departamentos de Produção Animal e Melhoramento e Nutrição Animal, pela ajuda oferecida.

Às minhas Co-orientadoras Prof. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori e Vanessa Cristina Pelícia, por todo apoio, amizade, incentivo, paciência e competência com que me acompanharam durante toda a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, FMVZ – UNESP/Botucatu, por toda ajuda e todos os conhecimentos transmitidos ao longo dos últimos anos.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti e à Prof. Dra. Juliana Célia Denadai pela imprescindível ajuda durante todas as etapas do meu mestrado.

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato e à Profa. Dra. Margarida Maria Barros, FMVZ – UNESP/Botucatu, pelos conselhos, auxílios, carinho e atenção.

Ao Prof. Dr. Manuel Garcia Neto, FMVA – UNESP/Araçatuba por aceitar meu convite de participação na banca de defesa.

Aos secretários do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, FMVZ – UNESP/Botucatu, Seila Cristina Cassinelli Vieira, Carlos Pazini Junior e Aline Couto, pela atenção e auxílios prestados.

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ – UNESP/Botucatu, Silene, e Carlão pela gentileza e colaboração.

Aos funcionários da Fábrica de Ração, FMVZ – UNESP/Botucatu, Sérgio e Nico, pela ajuda no preparo das dietas experimentais, e por estarem sempre disponíveis em ajudar durante todo o experimento.

À técnica Gisele Setznagl, funcionária do Laboratório de Bromatologia da FMVZ – UNESP/Botucatu.

Aos amigos e companheiros de equipe do Laboratório de Nutrição de Aves, FMVZ – UNESP/Botucatu, Wanderley Thiago da Silva, Mariana Kiyomi Maruno, Ivan Mailinch Gonçalves Pereira de Souza, Carolina Carvalho de Miranda, Juliana Cristina Ramos Rezende, Francine Vercese, Daniella Aparecida Berto, Vitor Barbosa Fascina, Guilherme Aguiar Matheus Pasquali, Everton Moreno Muro, Natani Cruz Alexandre, Mônica Megumi Aoyagi, Paola Gentile Serpa, Gabriel Moreno Martineli, Peterson Pacheco, Lívia Carrasco Dornelas, Fabiana Golin Luiggi, Ricardo Fasanaro, Amanda da Lapa Silva, Nathália Martins Guerra Causso, Thayla Cristina Putarov e Patrícia Versuti pela cumplicidade, pelo apoio na condução do experimento e pelos momentos valiosos compartilhados. Muito obrigada.

Aos amigos e companheiros de equipe do Centro de Isótopos Estáveis, IBB– UNESP/ Botucatu, Priscila Cavalca Araújo, Guilherme Mendes Pimenta, Adriele Nayara Dias Ishizuka, Marco Antonio Gonzáles de Carvalho, Ana Cristina Stradiotti, Danilo Vanci Fernandez, Bárbara Cristina da Silva Fernandes, Renata Sena, Luciane

Seraphim, Vânia Fornou, Silvia Maschette, Cibele Kruliski, Evandro Tadeu Silva e Mariana Sasso pelo auxílio e pelas experiências transmitidas.

Aos meus amigos Ari Toledo, Rumineide e Puro Osso por todos os momentos de alegria compartilhados, pelas risadas intermináveis, e principalmente, pela verdadeira amizade que temos e mantemos com carinho.

Aos velhos amigos botucudos, Aline, Bruna, Amaryllis, Mariana, Heitor, Diogo, Pedrão, Cota, Daniel, Raquele, Vinícius, Nicolás, Juliana e meu cunhado Matheus pela amizade sincera, apoio, muitas risadas e companheirismo durante esses anos. Aos novos amigos botucudos, a toda a turma da camaradagem, em especial as camaradetes Jane, Skol, Bixilda, Súria, Skalar, Migué, Tana e Natália por todo o momento de risadas, descontração e festas.

Aos colegas de Pós Graduação por todas as experiências trocadas, possibilidades de aprendizado que me proporcionaram, e por todos os momentos de diversão e lazer.

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

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	1
Considerações Iniciais.....	1
Introdução.....	2
Revisão de Literatura.....	4
Crescimento e Desenvolvimento de Frangos de Corte.....	4
Tecidos Corporais.....	6
Músculo.....	6
Sangue.....	8
Plasma Sanguíneo.....	9
Fígado.....	10
Isótopos Estáveis Ambientais de Carbono.....	11
<i>Turnover</i> Proteico.....	15
<i>Turnover</i> Isotópico.....	16
<i>Pool</i> Metabólico.....	18
Justificativa e Objetivo.....	19
Referências Bibliográficas.....	21
CAPÍTULO 2	27
<i>Turnover</i> do Carbono-13 em tecidos de Frangos de Corte pelo Método de Linearização.....	27
Resumo.....	28
Abstract.....	29
Introdução.....	30
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	38
Ganho de peso e taxa de crescimento das aves.....	38
Incorporação do carbono da dieta nos tecidos.....	40
Determinação dos <i>pools</i> metabólicos.....	41
Conclusões.....	52
Referências Bibliográficas.....	53

	Página
CAPÍTULO 3	56
Implicações.....	57
APÊNDICE	58
Apêndice (CAPÍTULO 2).....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Figura 1. Desenvolvimento dos órgãos por ordem de deposição dos tecidos nos animais	5
CAPÍTULO 2	
Figura 1. (a) Curva de crescimento e (b) taxa de crescimento do frango de corte pela função de Gompertz.....	39
Figura 2. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do músculo peitoral.....	42
Figura 3. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do fígado.....	42
Figura 4. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do plasma.....	43
Figura 5. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do sangue.....	43
Figura 6. Curva de diluição isotópica do sangue de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	44
Figura 7. Representação linear da diluição isotópica do músculo peitoral de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	45
Figura 8. Representação linear da diluição isotópica do fígado de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	46

Figura 9.	Representação linear da diluição isotópica do plasma sanguíneo de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	47
APÊNDICE		
Figura 1.	Curva de diluição isotópica no músculo peitoral de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto..	59
Figura 2.	Curva de diluição isotópica no fígado de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	60
Figura 3.	Curva de diluição isotópica no plasma de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.....	60

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
CAPÍTULO 2		
Tabela 1.	Composição percentual, nível nutricional calculado e valores isotópicos médios das dietas experimentais.....	33
Tabela 2.	Peso vivo e ganho de peso das aves durante todas as fases de criação.....	39
Tabela 3.	Valores médios analisados de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão, em ‰), dos tecidos dos frangos de corte obtidos no início e no final do período experimental.....	40
Tabela 4.	Fator de fracionamento isotópico entre tecido e dieta ($\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}}$, em ‰), ao início e final do período experimental.....	40
Tabela 5.	Tempo de troca total dos átomos de carbono em cada tecido (t, em dias), porcentagem de átomos trocados dos tecidos (F, em %), meia-vida geral (Tg, em dias), meia-vida de cada <i>pool</i> metabólico (T ₁ e T ₂ , em dias) e a porcentagem de contribuição do primeiro e segundo <i>pool</i> (x ₁ e x ₂ , em %).....	49

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira passou a ter maior intensidade no seu processo de produção a partir da década de 60, devido a fatores como melhoria genética, introdução de novas tecnologias, uso de instalações mais apropriadas, alimentação racional e parceria entre produtor e a agroindústria, através de contratos de integração (CARMO, 1999). Desde então esse setor passou a ter caráter industrial, impulsionado pelos constantes aumentos de produção. Atualmente, a avicultura brasileira representa um exemplo de atividade e de cadeia produtiva de sucesso, sendo o setor que mais tem se destacado no campo da produção animal (LOPES, 2011).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango com 12,7 milhões de toneladas produzidas no ano de 2013 e manteve a posição de maior exportador mundial, sendo embarcados 4,08 milhões de toneladas de carne em 2013, com uma redução de 1,5 % em relação a 2012 (UBABEF, 2014).

As linhagens comercializadas e criadas atualmente são geneticamente melhoradas para rápido crescimento e máximo desempenho, constituindo, até o presente momento, o objetivo principal da indústria avícola. Sendo assim, em função do constante melhoramento genético aplicado sobre as populações na avicultura industrial, que resulta em mudanças no crescimento das linhagens disponíveis no mercado brasileiro, como também no desenvolvimento da carcaça e das partes, tornam-se necessárias pesquisas que permitam elaborar modelos de crescimento destas linhagens (MARCATO, 2007).

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é geralmente chamado de *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam elas orgânicas ou inorgânicas, estão sujeitas ao *turnover* (HETENYI; PEREZ; VRANIC, 1983). As taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (KENNEDY; KROUSE, 1990), dessa forma, a taxa de incorporação do carbono da dieta no tecido pode sofrer influência do crescimento em animais jovens.

A maioria dos estudos de *turnover* utilizando as variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ dos alimentos se baseou na velocidade de troca do carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com assinaturas isotópicas distintas, portanto, a técnica dos isótopos estáveis

pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de substituição do carbono tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais, nutricionais e sanitários (CARRIJO; PEZZATO; DUCATTI, 2000).

Animais adultos são utilizados em grande parte dos estudos para determinação de taxas de *turnover* isotópico, provavelmente a fim de evitar erros de interpretações causadas pelo fator crescimento. Zuanon (2003) avaliando o *turnover* do carbono muscular de Tilápias do Nilo em crescimento, verificaram que o modelo matemático proposto por Ducatti et al. (2002), para avaliar a substituição do carbono tecidual em animais adultos, mostrou-se também adequado para animais em crescimento e concluíram que, neste caso, o acréscimo de massa tecidual é o principal fator na velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual (*turnover* isotópico) em relação ao *turnover* metabólico. Sendo assim, torna-se necessário determinar o que é *turnover* tecidual e separar a parte que sofre influência do crescimento do animal (formação de tecido).

A adaptação e o aperfeiçoamento de modelos matemáticos, mais avançados, da incorporação da dieta pela distribuição dos elementos em organismos vivos permitem avaliar de forma ampla os resultados obtidos pela técnica de isótopos estáveis, determinando se a taxa de troca isotópica é única ou fracionada em um mesmo período avaliado (mais de um *pool* metabólico). Segundo Cerling et al. (2007), existe a possibilidade de obtenção de até três *pools* metabólicos, e o autor afirma que a variável do progresso da reação de troca isotópica normaliza e permite que o sistema seja tratado como funções lineares ao invés de funções exponenciais.

REVISÃO DE LITERATURA

Crescimento e Desenvolvimento de Frangos de Corte

Em sistemas de produção da carne, o conhecimento dos fatores que determinam o crescimento e o desenvolvimento dos tecidos dos animais, é fundamental para a adequação de programas de melhoramento, de manejo nutricional, ambiência, definição da idade de abate, entre outros para alterar a quantidade e a qualidade da carne produzida (BRIDI, 2013).

Segundo Bridi (2013), desde o momento da concepção, os indivíduos crescem e se desenvolvem. O crescimento é caracterizado pelo aumento de peso, comprimento, altura e circunferência em função da idade. Já o desenvolvimento implica em mudanças na conformação corporal e das funções do organismo.

De acordo com esse mesmo autor, os animais apresentam crescimento em função do tempo que pode ser representado por uma curva sigmoide, sendo este modelo teórico o mais aceito para explicar o crescimento dos animais. Durante os estágios precoces do crescimento, a taxa de ganho de peso aumenta (fase de aceleração) até o indivíduo alcançar a puberdade. Após essa fase, a taxa de crescimento diário começa a declinar gradualmente chegando a zero quando o animal atinge o peso corporal adulto.

O crescimento dos animais de acordo com a idade pode ser expresso por meio de modelos matemáticos, como por exemplo: Gompertz, Richards, Logística, Bertalanffy. De acordo com Knizevotá, Hyánek; Knize (1991), a função Gompertz, além de permitir ajuste dos dados de forma semelhante ao obtido com outras funções de crescimento mais complexas, possibilita calcular taxas de crescimento para os componentes corporais (penas, gordura, proteína, cinzas, água), que auxiliam na definição de relações alométricas entre os componentes. Entre outras vantagens da função de Gompertz, Fialho (1999) menciona que ao contrário das outras funções, a massa corporal inicial é sempre superior a zero, o que indica que o animal já nasce com algum peso, além de possuir propriedades desejáveis para expressar a curva de crescimento do animal.

O tecido ósseo desmineralizado, órgãos e músculos são constituídos principalmente por proteínas, sendo assim, o crescimento das aves pode ser caracterizado principalmente pelo aumento do conteúdo corporal de proteína. Durante o crescimento, os músculos necessitam de aporte relativamente alto em aminoácidos,

principalmente os essenciais, importantes reguladores do crescimento, atuando diretamente na síntese e degradação proteica (MILLWARD; RIVERS, 1988).

As proteínas sintetizadas pelo corpo têm um tempo de existência finito e estão sujeitas a uma série de modificações, as quais fazem parte dos processos do controle metabólico. Os carboidratos assimilados da dieta podem ser estocados no fígado como glicogênio e nos músculos, como glicogênio ou lipídios, assim como a gordura pode ser armazenada como triglicerídeos em vários tecidos. Entretanto, não existem formas que as proteínas assimiladas possam ser armazenadas em quantidade (COWEY; SARGENT, 1979), pois todas as proteínas corporais apresentam função estrutural ou catalítica e, portanto, estão constantemente sendo degradadas e re-sintetizadas. Esse fenômeno envolve principalmente as proteínas intracelulares, que são sintetizadas e degradadas todos os dias em todas as células corporais (SWICK; BENEVENGA, 1977).

O crescimento apresenta características alométricas, isso significa que, cada tecido possui velocidade diferente de crescimento (BRIDI, 2013). Para que ocorra o desenvolvimento muscular, é necessária a existência do suporte que são os ossos, por isso o desenvolvimento ósseo ocorre anteriormente ao desenvolvimento do tecido muscular que, por sua vez, é anterior ao do tecido adiposo, como se observa na figura 1. São fenômenos perfeitamente coordenados, distinguindo-se por maior ou menor taxa específica de crescimento (própria do tecido) em determinado momento (GONZALES; SARTORI, 2002).

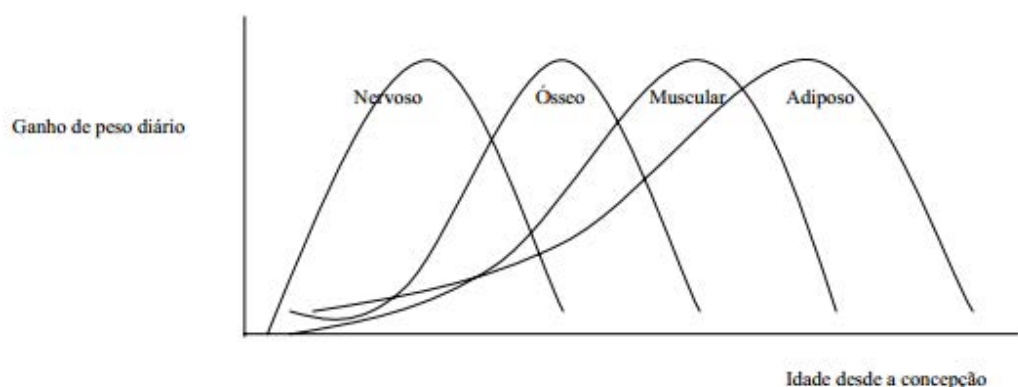


Figura 1. Desenvolvimento dos órgãos por ordem de deposição dos tecidos nos animais. Fonte: Adaptado de BRIDI (2013).

O efeito observado nas diferentes taxas de crescimento entre os tecidos é o resultado da mudança nas propriedades básicas do metabolismo de cada um deles. Em

condições normais, a chegada da maturidade corporal causa redução na taxa de síntese e aumento na taxa de degradação das proteínas, reduzindo bastante a deposição de proteína corporal, e conseqüentemente, diminuindo a taxa de crescimento (CYRINO, 1995). Sendo assim, no início do desenvolvimento do animal, a taxa de anabolismo é maior que a taxa de catabolismo e o tecido cresce. Com o passar do tempo, a diferença entre esses processos diminui até tornar-se nulo e o tecido para de crescer (MILLAWARD et al., 1982).

Como a substituição do carbono tecidual nos animais em crescimento está intimamente associada às taxas de síntese e degradação proteica e de outros compostos de carbono, pode ser utilizada a metodologia envolvendo a variação natural do $\delta^{13}\text{C}$ tecidual ou corporal para avaliar a qualidade da dieta e a eficiência com que é utilizada pelos animais (OLIVEIRA, 2005). De acordo com Zuanon (2003), essa metodologia pode ser considerada apropriada por avaliar a substituição do carbono tecidual durante períodos prolongados (vários dias e/ou alguns meses), fornecendo diretamente a taxa de *turnover*, em vez de taxas de síntese e degradação separadamente.

TECIDOS CORPORAIS

Músculo

O desenvolvimento do músculo esquelético em vertebrados é um processo bem organizado que envolve diversos eventos, inicia na fase embrionária e continua durante toda a vida. Esses processos biológicos envolvem a adesão celular, migração celular e a interação célula-célula (BUCKINGHAM et al., 2003).

O crescimento da fibra muscular apresenta quatro etapas: formação dos mioblastos, fusão dos mioblastos para formar miotubos, diferenciação dos miotubos para formar miofibras e crescimento das miofibras. As três primeiras etapas ocorrem somente durante o desenvolvimento pré-natal, e a última etapa ocorre antes e após eclosão. No entanto, há evidências de que pode haver pequeno aumento do número de miofibras no período pós eclosão, através de células satélites. O número de células satélites diminui durante o processo de crescimento e aumenta nos processos de regeneração (GONZALES; SARTORI, 2002).

O crescimento muscular ocorre de duas formas: hiperplasia e hipertrofia. A hiperplasia é definida como o aumento do número de células, enquanto que a hipertrofia refere-se ao aumento do tamanho da fibra muscular. Após o nascimento, o crescimento muscular ocorre pelo aumento do tamanho de fibras musculares, que é a consequência do acúmulo de proteínas musculares, o que gera aumento no volume celular, e fusão de células satélites com as fibras existentes (MOSS, 1968). Tanto a hiperplasia como a hipertrofia, são reguladas por interações entre células musculares e sua matriz extracelular (VELLEMAN, 2007).

Células satélites são as células precursoras da musculatura esquelética após o nascimento. Estas células estão localizadas entre a membrana plasmática e a lâmina basal da fibra muscular (SEALE et al., 2000). Após o nascimento, as células satélites são as únicas células musculares que ainda proliferam, diferenciam-se e fundem-se com as fibras musculares adjacentes ou com outras células satélites (MAURO, 1961). Os núcleos adicionais são acrescentados às fibras musculares, levando a acréscimo da massa muscular através da síntese proteica, resultando na hipertrofia muscular (ALLEN; MERKEL; YOUNG, 1979). No músculo maduro, células satélites são quiescentes, mas podem ser ativadas em repostas a estímulos como crescimento e injúrias, para reparar as miofibras. Este processo consiste em curta fase de proliferação, seguida pela saída do ciclo celular, a diferenciação em mioblastos e finalmente a fusão com os miotubos (KOLEVA et al., 2005).

Há nos frangos de corte, diferentes tipos de fibras musculares. O músculo esquelético da ave é similar ao dos mamíferos, contendo os mesmos tipos de proteínas contráteis (miosina, actina e suas proteínas associadas), arranjadas de tal modo que lhe dá aparência estriada. De acordo com as características metabólicas, as fibras são classificadas em tipo I, de contração lenta e metabolismo oxidativo; tipo IIA de metabolismo oxidativo e glicolítico, com contração rápida e tipo IIB de contração rápida e metabolismo glicolítico. As fibras I e IIA são aeróbicas e de alta taxa metabólica. As fibras IIB têm menores taxas metabólicas e apresentam maior área (GONZALES; SARTORI, 2002).

Existem dois tipos de músculos esqueléticos, o vermelho e o branco. O vermelho é constituído predominantemente por fibras oxidativas (tipo I) e o branco é formado predominantemente por fibras glicolíticas (tipo IIB). Nos frangos, o músculo peitoral

apresenta predominantemente fibras do tipo IIB - fibras brancas anaeróbicas (GONZALES; SARTORI, 2002).

O número de fibras no músculo está relacionado com a taxa de crescimento do animal. De um modo geral, os frangos de corte selecionados para rápido crescimento têm mais fibras do que as linhagens de crescimento lento (GONZALES; SARTORI, 2002). De acordo com Remignon et al. (1994), as linhagens selecionadas para alto crescimento apresentaram maior número de fibras nos músculos (aproximadamente 25% a mais) do que as linhagens selecionadas para baixa taxa de crescimento. Segundo Gonzales; Sartori (2002), os animais jovens têm fibras menores que os adultos e as fêmeas apresentam fibras menores do que os machos de mesma idade cronológica.

A maior quantidade de proteínas contidas no corpo do animal está presente nos tecidos musculares. O tecido muscular é considerado uma mistura de proteína diluída em solução aquosa, por conter aproximadamente 70% de água. Água e proteína estão presentes em uma razão aproximada de 4:1. A quantidade de carboidrato é pequena, sendo o glicogênio a forma predominante encontrada, e em quantidades mínimas, ácido lático e ácido cítrico. Contém fosfolípidios e colesterol em quantidade variável. Os compostos inorgânicos predominantes são o potássio, fósforo e enxofre e em menores teores, também são encontrados, magnésio, cálcio, ferro, cobalto, cobre, zinco e manganês (GONZALES; SARTORI, 2002).

O tecido muscular é influenciado diretamente pela quantidade e balanceamento de aminoácidos presentes nas dietas. Em situação de deficiência ou desbalanço de aminoácidos, este tecido é prontamente degradado para suprir outros tecidos considerados mais vitais (TESSERAUD et al., 2011). A idade também influencia o ganho de proteína muscular (g/dia), total de massa muscular e capacidade de síntese proteica, que diminuem conforme a idade da ave (TESSERAUD; CHAGNEAU; GRIZARD, 2000).

Sangue

As principais funções deste tecido são: transporte de oxigênio do pulmão para os tecidos e transporte de gás carbônico dos tecidos para os pulmões; absorção e transporte de nutrientes do lúmen intestinal para o fígado e demais tecidos; transporte de hormônios de glândulas endócrinas para células alvo; transporte de calor dos tecidos

termogênicos para a superfície da pele; função protetora por meio das células de defesa (leucócitos); regulação do conteúdo de água corporal e eliminação de produtos do catabolismo celular (MACARI; LUQUETTI, 2002).

O sangue representa ao redor de 7% do peso vivo do frango de corte. Este tecido é composto por duas partes, sendo uma composta de células (hemácias, leucócitos e trombócitos) e outra fluida (plasma com sais e proteínas dissolvidas). As hemácias (44% do sangue) são produzidas na medula óssea com vida média em torno de 28 a 35 dias. Na hemácia encontra-se a hemoglobina que, devida a sua alta afinidade pelo oxigênio e gás carbônico, é responsável pelo transporte desses gases no sangue. O número de leucócitos varia entre 2.000 até 3.000 células/ μL . No entanto esse número pode variar em função de sexo, idade, condições de estresse e doenças (MACARI; FURLAN; GONZALES, 1994).

Nas aves, o sangue não contém plaquetas; os trombócitos é que desempenham o papel delas durante os mecanismos de coagulação do sangue. A coagulação é um mecanismo importante, pois evita a perda de sangue por ocasião de hemorragia. Ela implica na formação do coágulo que nada mais é do que a transformação de uma proteína solúvel, o fibrinogênio, em proteína insolúvel, a fibrina (MACARI; FURLAN; GONZALES, 1994).

Plasma sanguíneo

O volume do plasma corresponde à parte líquida do sangue e equivale a cerca de 5% do peso corporal das aves. O plasma é uma solução aquosa formada por compostos de pequeno e elevado peso molecular, que correspondem a 10% do seu volume. As proteínas plasmáticas correspondem a 7% (globulinas, albumina e fibrinogênio), os compostos inorgânicos a 0,9% (sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloro), e o restante composto por elementos orgânicos diversos como aminoácidos, vitaminas, hormônios (insulina, epinefrina e tiroxina), glicose e resíduos do metabolismo (creatinina, ácido úrico e bilirrubina). O plasma é considerado indicador da composição do líquido extracelular, pois os componentes de baixo peso molecular estão em permanente equilíbrio através das paredes dos capilares e das vênulas com o líquido intersticial dos tecidos (MACARI; FURLAN; GONZALES, 2002).

Muitas das características atribuídas ao plasma são funções dos seus componentes proteicos, os quais auxiliam na manutenção da pressão osmótica intravascular, no transporte de vários constituintes plasmáticos (hormônios, produtos residuais), no mecanismo de coagulação e na proteção do corpo pelas imunoglobulinas (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

Segundo Macari, Furlan; Gonzales (2002) o plasma sanguíneo é 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. Somente em situações severas de desnutrição ou desbalanceamento e/ou deficiência de nutrientes, são observadas modificações significativas nos componentes plasmáticos.

O plasma sanguíneo possui rápida taxa de troca isotópica incidindo em ligeira adequação à alimentação fornecida às aves, possibilitando a verificação de alterações metabólicas (FERNÁNDEZ-FÍGARES et al., 1997).

Fígado

O fígado está suspenso pelo peritônio nas cavidades celômicas hepática, dorsal e ventral, direita e esquerda. No período de incubação possui uma cor amarelada devido à cor da gema, carregados com os lipídios para o fígado nos últimos estágios de incubação. Já nas aves adultas, possui cor escura. O peso do fígado aumenta 33,9 vezes do período da incubação até o período da maturidade (McLelland; King, 1970 apud SISSON; GROSSMAN, 1986).

De acordo com Guyton; Hall (2006), o fígado é um grande agrupamento celular quimicamente reativo, que possui elevada taxa metabólica, compartilha substratos e energia com um e outro sistema metabólico, processa e sintetiza múltiplas substâncias que são transportadas para outras áreas do corpo e realiza ampla quantidade de funções metabólicas. No embrião, este órgão produz células sanguíneas. No adulto, remove da corrente sanguínea as células vermelhas “velhas”, libera substâncias necessárias à coagulação do sangue e pode remover substâncias tóxicas do sangue (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002).

O novo perfil da taxa de crescimento do frango “moderno” resultou na elevação da taxa metabólica no início do ciclo produtivo. Essa alteração metabólica tem sido

relatada como a maior responsável pelo acúmulo de gordura na carcaça de frangos de corte (CARTER, 1993). Existem várias funções metabólicas que envolvem o fígado e podem ser aumentadas ou diminuídas de acordo com a dieta ingerida. O fígado tem a função metabólica extremamente importante de regular a concentração no sangue da maioria dos metabólitos, particularmente glicose e aminoácidos. No caso da glicose, isto é alcançado absorvendo seu excesso e convertendo-o em glicogênio ou gordura. Entre as refeições, os depósitos de glicogênio hepático podem ser mobilizados, permitindo a liberação de glicose para o sangue (LANA; ROSTAGNO; ALBINO, 2000).

Sendo assim, o fígado é, por excelência, o órgão de escolha para se conhecer a condição de saúde geral e nutricional dos animais. Alterações causadas por problemas decorrentes de, principalmente, mau manejo alimentar, além de falhas nos manejos sanitário e zootécnico, ou da presença generalizada de agentes infecciosos refletem em sua estrutura e função (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

No metabolismo proteico, o fígado exerce funções importantes como: formação de proteína plasmática, remoção da amônia nos líquidos corporais, desaminação de aminoácidos e, interconversões entre diferentes aminoácidos e outros compostos importantes para o metabolismo do organismo. É responsável pela síntese de cerca de 90% das proteínas plasmáticas (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

O fígado também apresenta elevada taxa de troca isotópica, respondendo rapidamente a alterações nutricionais, sendo um órgão essencial às alterações e necessidades metabólicas (HOBSON; CLARK, 1992a).

Isótopos Estáveis Ambientais de Carbono

O termo isótopo foi criado pelo Sr. Frederick Soddy e vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Os isótopos podem ser definidos como átomos do mesmo elemento químico, que apresentam o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons, conseqüentemente, apresentam diferentes números de massas. Por possuírem sua camada eletrônica igual, ou seja, com o mesmo número de elétrons, pode-se dizer que apresentam as mesmas propriedades químicas e diferentes propriedades físicas. Caracterizá-los como estáveis significa que estes não emitem radiação.

A técnica de isótopos estáveis foi usada inicialmente em estudos geológicos e arqueológicos. Nas últimas décadas têm sido aplicada de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas, ecológicas e fisiológicas, apresentando-se como alternativa promissora para estudar processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes em humanos e animais, assim como, em estudos para identificar a procedência e qualidade de produtos de origem animal e vegetal (GANNES; DEL-RIO; KOCH, 1998). Segundo estes autores, as análises da variação natural da abundância de isótopos estáveis representam uma ferramenta potencialmente poderosa para as pesquisas de fisiologia, uma vez que a razão isotópica dos elementos do corpo dos consumidores geralmente assemelha-se a suas dietas (DENIRO; EPSTEIN, 1978; HOBSON; CLARK, 1992 a, b).

Os isótopos estáveis do carbono estão presentes em todos os nutrientes capazes de gerar energia aos animais e representam cerca de 50% dos elementos químicos que compõem o corpo dos animais superiores (MURRAY, 1990). A observação de DeNiro; Epstein (1978) de que 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, é a base da maioria dos pressupostos dos experimentos dessa natureza.

Cada elemento apresenta um isótopo estável leve dominante e um ou dois isótopos estáveis pesados com abundância ou concentração natural diferentes e expressas em átomos % (DUCATTI, 2007). Há na natureza a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono, o carbono-12 (^{12}C) e o carbono-13 (^{13}C), com abundâncias naturais de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (KENNEDY; KROUSE, 1990), que variam nos tecidos vegetais de acordo com o ciclo fotossintético das plantas do ciclo C_3 e do ciclo C_4 .

Em função desta 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 a uma magnitude manuseável, os valores de carbono-13 são expressos na terminologia dos isótopos estáveis, em delta per mil da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação a um padrão internacional definido, *PeeDee Belemnite* (PDB). Segundo Friedman e O'Neill (1977), citados por Ducatti, Salati; Matsui (1979), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das

composições isotópicas do carbono. Trata-se de um carbonato de cálcio sólido de *Belemnitella lacretaceos*, *Belemnitella americana*, da formação PeeDee da Carolina do Sul - EUA, 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; SALATI; MATSUI, 1979).

A determinação dos valores isotópicos, ou sinal isotópico é conseguido a partir de amostras do material orgânico que são analisadas pelo equipamento conhecido como espectrômetro de massas de razão isotópica (IRMS), que mede a concentração dos diferentes isótopos do elemento, admitidos no sistema sob a forma gasosa (ex.: H₂, CO₂, N₂), com erro analítico de 0,2‰. Neste sistema, de acordo com Ducatti (2007), a amostra e o padrão são admitidos na forma de dióxido de carbono e após a passagem por uma fonte de ionização, os feixes dos íons gerados são separados por um campo magnético de acordo com suas relações massa/carga.

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

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

A simbologia da expressão (1) indica que:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento relativo da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra (expresso em ‰), em relação à razão isotópica do padrão internacional PDB. Adimensional.;

R= razão isotópica entre o isótopo pesado em relação ao mais leve ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão internacional. Adimensional.

A interpretação dos resultados em relação ao carbono baseia-se na diferença existente entre a composição isotópica do carbono estável de plantas de diferentes grupos de acordo com o seu ciclo fotossintético, as plantas do ciclo fotossintético C₃ e as do ciclo fotossintético C₄. As primeiras são denominadas plantas do ciclo C₃ porque em sua rota bioquímica o primeiro composto orgânico sintetizado é um ácido carboxílico que contém três átomos de carbono. Por outro lado, as plantas onde o primeiro composto orgânico formado é um ácido carboxílico com quatro átomos de carbono são denominadas plantas do ciclo C₄ (DUCATTI, 2007). 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 $-7,7\%$ (KENNEDY; KROUSE, 1990), e ao longo do processo de produção de carboidratos, sofre discriminação isotópica, ocorrendo diminuição da concentração de ^{13}C e aumento da concentração de ^{12}C .

Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético C_3 fixam o CO_2 atmosférico através do ciclo *Calvin-Benson* e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -22 e -34% (valor modal $=-26,7\%$), enquanto as plantas do ciclo fotossintético C_4 fixam o CO_2 atmosférico por meio do ciclo *Hatch-Slack* e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -9 e -16% (valor modal $=-12,6\%$). O sinal negativo indica que a planta ou seu subproduto apresenta menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional PDB (SMITH; EPSTEIN, 1971; O'LEARY, 1981; KENNEDY; KROUSE, 1990; VOGEL, 1993).

Desta maneira, as plantas C_4 discriminam menos o ^{13}C e possuem maiores valores de $\delta^{13}\text{C}$ ($\%$) que as plantas C_3 (valores menos negativos). Considerando-se a existência da diferença isotópica da ordem de 16% nos valores em $\delta^{13}\text{C}$ 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 (DUCATTI, 2007). Essa diferença natural na razão isotópica de carbono entre as espécies de plantas também oferece a possibilidade de utilizá-las como marcadores nos tecidos animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, evitando problemas de saúde humana e de segurança ambiental associados ao uso de isótopos radiativos (METGES; KEMPE; SHIMIDT, 1990).

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; DEL-RIO; KOCH, 1998). Segundo DeNiro; Epstein (1978), o animal é o que come $\pm 1\%$ para ^{13}C . Assim, dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais (GANNES; DEL-RIO; KOCH, 1998).

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 um 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. Este tempo de

substituição é denominado de taxa de *turnover* isotópico (TIESZEN; BOUTTON, 1983).

Turnover Proteico

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

O *turnover* proteico é definido como a contínua quebra e reposição de proteínas celulares, o qual provê fluxo necessário para a reposição e adaptação metabólica e é considerado mecanismo homeostático importante para a sobrevivência animal (HAWKINS; DAY, 1996). Scoenheimer; Bender apud Hobson; Clark (1992a), mostraram que a proteína e outros componentes do tecido estão em estado de equilíbrio dinâmico com novos compostos sendo sintetizados, enquanto outros elementos integrantes do organismo animal são continuamente degradados.

As taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (KENNEDY; KROUSE, 1990). De acordo com Zuanon et al. (2006), o *turnover* depende, além dos fatores ambientais, nutricionais e sanitários, do crescimento em animais jovens, sendo que esta estimativa apresenta valores distintos para um mesmo tecido, em diferentes fases da vida do animal, pois a taxa de crescimento varia de acordo com a idade.

Wolfe (1992) especulando sobre as vantagens de altas taxas de *turnover* de proteínas, relativas à ingestão de proteínas e excreção de nitrogênio, destaca que em condições normais, as mais altas taxas de *turnover* proteico são observadas em animais jovens, que estão em rápido crescimento. Para o autor, é evidente que uma alta taxa de *turnover* de proteína, por si, não pode ter efeito no balanço proteico se o catabolismo é elevado na mesma proporção que a síntese.

A exigência proteica, como proporção da dieta, diminui conforme o animal se aproxima da maturidade (NRC, 1993), diminuindo também a velocidade de crescimento. Em condições normais, essa fase causa redução na taxa de síntese e aumento na taxa de degradação das proteínas, reduzindo bastante a deposição de

proteína corporal, e conseqüentemente, diminuindo a taxa de crescimento. Ou seja, a taxa de *turnover* proteico corporal diminui com o avanço da idade afetando tanto as proteínas hepáticas como as musculares (WATERLOW; STEPHEN, 1968 citados por FAUCONNEAU, 1985).

Turnover Isotópico

Entende-se por *turnover* isotópico a renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente, de seus isótopos que compõem o tecido corporal ou o organismo como um todo. Esse *turnover* pode ocorrer por meio de renovação tecidual resultante do processo de síntese e degradação em tecidos adultos e/ou pelo próprio crescimento nos tecidos em formação (diluição isotópica) (CARRIJO; DUCATTI, 2007).

Segundo Gannes, Del-Rio; Koch (1998), dietas com assinaturas isotópicas contrastantes podem ser usadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade com que esses constituintes da nova dieta são substituídos (TIESZEN et al., 1983). A escolha do tecido é importante, pois tecidos que são ativos metabolicamente no organismo apresentarão taxas de *turnover* mais rápidas, como o fígado, músculo e sangue, e tecidos menos ativos apresentarão taxas menores, como o colágeno e o osso (HOBSON; CLARK, 1992a).

Ducatti et al. (2002), fundamentados em resultados da literatura, propuseram modelo teórico capaz de expressar os resultados do enriquecimento relativo do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas contrastantes em $\delta^{13}\text{C}$ (formuladas predominantemente com grãos de plantas do ciclo C_3 e C_4) a 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, os autores chegaram à seguinte equação (2):

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

Onde a simbologia empregada significa:

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

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

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

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

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

Zuanon (2003) avaliando o *turnover* do carbono muscular de tilápias do Nilo em crescimento, verificou que o modelo matemático proposto por Ducatti et al. (2002), para avaliar a substituição do carbono tecidual em animais adultos mostrou-se adequado para animais em crescimento, uma vez que a constante (k), de diluição isotópica de carbono obtida, integra o efeito da adição de novo tecido (crescimento) e do *turnover* metabólico. De acordo com o autor, 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. Além disso, sugerem que uma maneira para avaliar a atividade metabólica tecidual pode ser por comparação dos valores de meia-vida do carbono entre diferentes tecidos da mesma espécie ou o mesmo tecido entre diferentes espécies.

Tecidos que apresentam meia-vida curta possuem “alta velocidade” de incorporação dos isótopos estáveis e, inversamente, “baixa velocidade” de metabolização corresponde a meia-vida longa (DUCATTI, 2007). Assim sendo, os tecidos com *turnover* rápido, ou seja, metabolismo rápido indicam dietas recentes, enquanto que, aqueles com *turnover* lento indicam dietas consumidas em longo prazo (HOBSON; CLARK, 1992a).

Esses mesmos autores estabeleceram o *turnover* do carbono e curvas de substituição isotópica em tecido de codornas japonesas adultas pela mudança de dietas com assinaturas contrastantes. Os autores verificaram valores de meia-vida de 2,6; 11,4; 12,4 e 173,3 dias para o fígado, sangue, músculo e colágeno ósseo, respectivamente. Os resultados demonstraram que o *turnover* do carbono dietético variou amplamente entre os tecidos analisados. Estes dados estão de acordo com os resultados de Tieszen et al. (1983), os quais encontraram valores de meia-vida de 6,4 dias para o fígado; 15,6 dias para a gordura; 27,6 dias para o músculo; 47,5 dias para o pelo e 28,2 dias para o cérebro de gerbils adultos em experimento similar utilizando troca de dieta.

Fry; Arnold (1982), utilizando variações naturais na razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), determinaram o *turnover* desse elemento em pós-larvas do camarão *Penaeus*

aztecus em cinco experimentos de crescimento. Os autores observaram que apesar do *turnover* em tecidos animais adultos geralmente ocorrer durante o metabolismo de manutenção, o *turnover* durante crescimento acelerado, ocorreu principalmente em função do ganho de peso.

Desta forma, a maioria dos estudos para determinação de taxas de *turnover* isotópico têm utilizado animais adultos, provavelmente a fim de evitar erros de interpretações causadas pelo fator crescimento. Grande parte dos estudos de *turnover* utilizando as variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ dos alimentos se baseou na velocidade de troca do carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com assinaturas isotópicas distintas, portanto, a técnica dos isótopos estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal (CARRIJO; PEZZATO; DUCATTI, 2000).

De acordo com Reeds (1989), a idade do indivíduo primariamente afeta a porção de *turnover* proteico diretamente relacionado ao crescimento. Embora diferentes tecidos cresçam a taxas muito semelhantes, existem diferenças inerentes na taxa da síntese e degradação proteica entre tecidos. Assim, as contribuições dos diferentes tecidos ao *turnover* proteico total corporal diferem daquelas contribuições da massa corpórea e em certa medida, suas relativas contribuições variam com a idade (GOLDSPINK; KELLY, 1984; LEWIS; KELLY; GOLDSPINK, 1984).

Pool Metabólico

O conhecimento dos fatores de fracionamento dieta-tecido é de suma importância para o estudo da composição isotópica da dieta e dos tecidos sintetizados (MIZUTANI; KUBAYA; WADA, 1991). A escassez de informações sobre o modo como os isótopos estáveis são fracionados ou modificados, a partir do momento em que são incorporados aos tecidos, representa uma das limitações para a aplicação da metodologia em estudos dietéticos (HOBSON; CLARK, 1992a).

A maioria dos estudos usa como melhor ajuste uma única exponencial dos dados para descrever *turnover* isotópico nos tecidos, o que se aplica aos estudos anteriores de isótopos estáveis (FRY; ARNOLD, 1982; TIESZEN et al., 1983; HOBSON; CLARK, 1992a). Criss (1999) e Cerling et al. (2007) têm mostrado que a incorporação metabólica pode ser fracionada. Essas frações são chamadas de *pools* metabólicos. De acordo com Cerling et al. (2007) a abordagem de ajuste exponencial tem a suposição de

que reações de troca isotópica são descritas pela cinética de primeira ordem. No entanto, os resultados obtidos por uma função exponencial é superestimado, e a possibilidade de determinar múltiplos *pools* de *turnover* é ocultada.

Sartori et al. (2011) sugerem que a exploração dos dados de forma linear abre perspectivas de novas interpretações nestes experimentos que visam estudo da síntese e degradação de metabólitos sob regime de dieta a base de plantas C₃ e C₄, ou misturas isotópicas, com valores de δ distintos entre si.

Segundo Cerling et al. (2007), os *pools* metabólicos podem ser determinados pelo estudo da linearização dos dados determinados no processo isotópico. Estes mesmos autores ressaltam em seu trabalho que o método de ajuste exponencial é satisfatório se apenas um único *pool* está presente, a abordagem do progresso de reação é uma forma de testar vários *pools*, e oferece uma estratégia para a resolução de até três *pools* de isótopos distintos. Esse método permite a identificação do número de *pools*, suas meias-vidas e porcentagem de contribuição em relação ao todo (SARTORI; DENADAI; DUCATTI, 2012).

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

Os estudos avícolas que usam a variação natural dos isótopos estáveis esclarecem questões fisiológicas e ecológicas. Os isótopos de carbono apresentam-se como alternativa para estudar os processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes, por estarem presentes em todos os nutrientes capazes de gerar energia aos animais (MURRAY, 1990).

A taxa de *turnover* estudada nos trabalhos realizados com animais, utilizando a variação natural nas razões isotópicas de carbono, vêm sendo realizada através de uma única exponencial dos dados para descrever *turnover* isotópico nos tecidos. Dessa forma, a nova técnica da avaliação de *turnover*, a qual possibilita avaliar se a taxa de troca isotópica é única ou fracionada (mais de um *pool* metabólico) permite avaliar de forma ampla os resultados obtidos pela técnica de isótopos estáveis, trabalho que servirá de base para outros estudos na área de fisiologia e metabolismo animal.

Diante do exposto, surge a proposta do estudo, que tem por objetivo avaliar o *turnover* do carbono-13 em diferentes tecidos de frangos de corte a partir dos 49 dias de idade, através da análise das razões isotópicas do carbono, utilizando-se a variação

natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distintos, pelo método de linearização (*pools* metabólicos).

Para tanto, foi realizado um estudo, representado pelo capítulo 2, denominado **“Turnover do carbono-13 em tecidos de frangos de corte”**, que apresenta-se de acordo com as normas para publicação no *Journal of Animal Science*. Teve como objetivo determinar o *turnover* do carbono-13 em diferentes tecidos de frangos de corte a partir dos 49 dias de idade, através de análise das razões isotópicas do carbono, utilizando-se a variação natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distintos, pelo método de linearização (*pools* metabólicos).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, R.E.; MERKEL, R.A.; YOUNG, R.B. Cellular aspects of muscle growth: myogenic cell proliferation. **Journal of Animal Science**, v.49, p.115-127, 1979.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, cap.5. p.91, 2002.
- BRIDI, A.M. **Crescimento e Desenvolvimento do tecido muscular**. Departamento de Zootecnia da UEL. Disponível em: <http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Carnesecarcaca_sarquivos/Crescimentoedesenvolvimentomuscular.pdf>. Acesso em: 01 set. 2013.
- BUCKINGHAM, M.B.L.; CHANG, T.; DAUBAS, P.; HADCHOUEL, J.; MEILHAC, S.; MONTARRAS, D.; ROCANCOURT, D.; RELAIX, F. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. **Journal of Anatomy**, v.202, p.59-68, 2003.
- CARMO, R. B. A. Perspectivas para a avicultura de corte na Bahia. **Revista Bahia Agrícola**, [S.l.], v. 3, n. 3, set. 1999.
- CARRIJO, A.S.; DUCATTI, C. Utilização de isótopos estáveis do carbono para a rastreabilidade de rações. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2007. p.289-307.
- 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, p.209-218, 2000.
- CARTER, I. Evolução genética dos frangos de corte até o século XXI. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1993, Brasília. **Anais...** Brasília: CBA, 1993. p.34-37.
- CERLING, T.E.; AYLIFFE, L.K.; DEARING, M.D.; EHLERINGER, J.R.; PASSEY, B.H.; PODLESAK, D.W.; TORREGROSSA, A.; WEST, A.G. Determining biological tissue *turnover* using stable isotopes: the reaction progress variable. **Oecologia**, v.151, p.175-189, 2007.
- COWEY, C.B.; SARGENT, J.R. Nutrition. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; BRETT, J.R. (Eds), **Fish Physiology**. Vol. VIII: **Bioenergetics and Growth**. Academic Press, London, p.1-70, 1979.
- 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.
- CRISS, R.E. Nonequilibrium fractionation and isotopic transport. In: Criss, R.E. (Ed.). **Principles of stable isotope distribution**. Oxford University Press, New York. p.139-142. 1999.

CYRINO, J.E.P. Regulação nutricional do crescimento. In: **Simpósio Internacional sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos**, p.69-90, 1995.

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. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 201 p., 2007.

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.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da ração $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 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**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 2, p. 275-286, 1979.

FAUCONNEAU, B. COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. Protein synthesis and protein deposition in fish. In: **Nutrition and feeding in fish**. Orlando: Academic Press, p.17-46, 1985.

FERNÁNDEZ-FÍGARES, I.; PRIETO, C.; NIETO, R.; AGUILERA, J.F. Free amino acids concentration in plasma, muscle and liver as indirect measures of protein adequacy in growing chickens. **Animal Science**, Cambridge, v.64, p.529-539, 1997.

FIALHO, F.B. Interceptação da curva de crescimento de Gompertz. **Comunicado Técnico**, Embrapa Suínos e Aves, n.237, p.1-4, 1999.

FRY, B.; ARNOLD, C. **Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaecus aztecus*)**. Oecologia v. 54, p. 200-204, 1982.

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 Physiology**, New York, v. 119A, n. 3, p. 725-737, 1998.

GOLDSPINK, D.F.; KELLY, F.J. Protein turnover and growth in the whole-body, liver and kidney of the rat from the foetus to senility. **The Biochemical Journal**. v.217, p.507-516, 1984.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, cap.21. p.279-297, 2002.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, cap.70, p.861-862, 2006.

HAWKINS, A.J.S.; DAY, A.J. The metabolic basis of genetics differences in growth efficiency among marine animals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.2003, p.93-115, 1996.

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

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

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

KNIZEVOTÁ, H.; HYÁNEK, J.; KNÍZE, B. *et al.* Analysis of growth curves of fowl. I-Chickens. **British Poultry Science**, v.65, p.1027-1038, 1991.

KOLEVA, M.; KAPPLER, R.; VOGLER, M.; HERWIG, A.; FULDA, S. HAHN, H. Pleiotropic effects of sonic hedgehog on muscle satellite cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Boston, v.62, p.1863-1870, 2005.

LANA, G. R.Q.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. **Efeito da Temperatura Ambiente e da Restrição Alimentar sobre o Desempenho e a Composição da Carcaça de Frangos de Corte.** *Rev. bras. zootec.*, 29 (4):1117-1123, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v29n4/5627.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2013.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica.** 2.ed. São Paulo: Sarvier, p.839,1995.

LEWIS, S.E.M.; KELLY, F.J.; GOLDSPINK, D.F. Pre- and pos-natal growth and protein turnover in smooth muscle, heart and slow- and faster-twitch skeletal muscles of the rat. **The Biochemical Journal**. v.217, n.2, p.517-528, 1984.

LOPES, Jackelline Cristina Ost. **Técnico em Agropecuária: Avicultura.** 2011. Disponível em: <<http://www.ifpr.edu.br/pronatec/wp-content/uploads/2013/06/Avicultura.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2013.

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

MACARI, M. FURLAN, R.L; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.** Jaboticabal: FUNEP, p.313-323, 1994.

MACARI, M; LUQUETTI, B C. Fisiologia Cardiovascular. In: MACARI, M; FURLAN, R L; GONZALES, ELISABETH. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de corte.** Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 17-35.

MARCATO, Simara Márcia. **Características do crescimento corporal, dos órgãos e tecidos de duas linhagens comerciais de frangos de corte.** 2007. 183 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2007.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, Baltimore, v.9, p.493-495, 1961.

METGES, C.; KEMPE, K.; SHIMIDT, H. L. Dependence of the carbon isotope contents of breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on the $\delta^{13}\text{C}$ value of food in dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.187-196, 1990.

MILLWARD, D.J.; RIVERS, P.W. The nutritional role of indispensable amino acids and metabolic basis for their requirements. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.42, p.367-393, 1988.

MILLWARD, D.J.; DAVIES, C.T.; HALLIDAY, D.; WOLMAN, S.L.; MATTHEWS, D.; RENNIE, M. Effect of exercise on protein metabolism in humans as explored with stable isotopes. **Fred. Proc.**, v.41, n.10, p.2686-2691, 1982.

MIZUTANI, H.; KUBAYA, Y.; WADA, E. Nitrogen and carbon isotope compositions relate linearly in cormorants tissues and its diet. **Isotopenpraxis**; v.4, p.166-168, 1991.

MOSS, F.P. The relationship between the dimensions of the fibres and the number of nuclei during normal growth of skeletal muscle in the domestic fowl. **American Journal of Anatomy**; v.122, p.555-63, 1968.

MURRAY, R.K. 1990. **Biomoléculas e métodos bioquímicos.** In: Murray, R.K. (Ed), Harper: Bioquímica. Atheneu Editora, São Paulo, p. 4-11.

NRC (National Research Council). 1993. **Nutrient requirements of fish.** National Academy Press, Washington, D.C. USA.

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

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$).** 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

REEDS, P.J. Regulation of Protein Turnover. In: CAMPION, D.R.; HAUSMANN, G.J.; MARTIN, R.J. **Animal growth regulation**, cap.9, p.183-184, 1989.

REMIGNON, H.; LEFAUCHEUR, L.; BLUM, J.C. *et al.* Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. **British Poultry Science**, v.35, n.4, p.65-76, 1994.

SARTORI, M.M.P.; DENADAI, J C; DUCATTI, C. **Modelo de determinação da meia vida para troca dos isótopos estáveis, contendo dois pools metabólicos**. 2012, Águas de Lindóia: SBMAC, 2012. p. 1245-1250.

SARTORI, M.M.P. et al. Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas. In: CONGRESSO BRMASS, 4., 2011, Campinas. **Determinação de pools metabólicos, aplicação em ovos de poedeira**. Campinas, 2011.

SEALE, P.; SABOURIN, L.A.; GIRGIS-GABARBO, A.; MANSOURI, A.; GRUSS, P.; RUDNICKI, M.A. Pax 7 is required for the specification of myogenic satellite cells. **Cell**, Cambridge, v.102, p.777-786, 2000.

SISSON; GROSSMAN. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ed. Vol. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. p.1680-1796, 1986.

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.

SWICK, R.W.; BENEVENGA, N.J. Labile protein reserves and protein turnover. **Journal of Dairy Science**, v.60, n.4, p.505-515, 1977.

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

TESSERAUD S, CHAGNEAU M, GRIZARD J. Muscle protein turnover during early development in chicks divergently selected for growth rate. **Poultry Science**, v.79, p.1465-1471, 2000.

TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W. Stable isotopes in terrestrial ecosystem research. Stable isotopes in ecological research. **Springer**, New York, p.167-195, 1983.

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.

TIRAPEGUI, J; ROGERO, M.M. Metabolismo de proteínas. In: ANGELIS, R. C.; TIRAPEGUI, J. **Fisiologia da nutrição humana**. Aspectos básicos, aplicados e funcionais. 2ed. São Paulo: Atheneu, p.69-109. 2007.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Ubabef prevê retomada do consumo em 2014**. 2014. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/noticias/index.php?codnoticia=14777>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

VELLEMAN, S.G. Muscle development in the embryo and hatchling. **Poultry Science**, Menasha, v.86, p.1050-1054, 2007.

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

WOLFE, R.R. 1992. **Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine: principles and practice of kinetic analysis**. Wiley-Liss, New York, p. 471.

ZUANON, J. A. S., PEZZATO, A. C., PEZZATO, L. E., PASSOS, J. R. S., BARROS, M. M., DUCATTI, C., 2006. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Effects of growth and carbon turnover. **Comparative Biochemistry and Physiology**.v.145, p.101-17.

ZUANON, J.A.S. **Turnover de carbono em tecido muscular de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio dos isótopos estáveis de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)**. Jaboticabal: Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 2003. 96p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, 2003.

CAPÍTULO 2***TURNOVER DO CARBONO-13 EM TECIDOS DE FRANGOS DE
CORTE PELO MÉTODO DE LINEARIZAÇÃO***

***Turnover* do carbono-13 em tecidos de frangos de corte pelo método de linearização**

RESUMO:

O presente estudo teve como objetivo determinar o *turnover* do carbono no sangue, plasma, músculo peitoral e fígado de frangos de corte, através de análise das razões isotópicas do carbono, utilizando-se a variação natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distintos. Foram utilizados 150 pintos de corte machos (*Cobb*) de um dia de idade, casualmente distribuídos em galpão experimental. Todas as aves foram submetidas a uma dieta a base de milho e farelo de soja (predominantemente C₄) do primeiro aos 48 dias de vida e, aos 49 dias de idade, quando observou-se taxa de crescimento menor dos animais, passaram a receber a dieta composta por arroz e farelo de soja (predominantemente C₃). Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves (*turnover*), foi realizada a linearização dos dados e regressão linear. A meia-vida encontrada no peito, fígado, sangue e plasma foram, respectivamente: 14,4; 2,7; 12,1 e 2,9 dias. Para o sangue não foi possível determinar a quantidade de *pools*, o tecido muscular, fígado e plasma apresentaram dois *pools* sendo que o primeiro *pool* teve trocas mais rápidas. A porcentagem de contribuição do 1º e 2º *pool* metabólico foram, respectivamente: 44 e 56 para o músculo, 76 e 24 para o fígado e para o plasma 87 e 13%. O modelo definido para o cálculo da meia vida geral é viável para dados de isótopos estáveis, apresentando maior confiabilidade na técnica utilizada para linearização.

Palavras-chave: *Cobb*, isótopos estáveis, meia-vida, metabolismo, *pool* metabólico.

Turnover of carbon-13 in tissues of broilers by linearization method

ABSTRACT:

The present study was aimed to determine the *turnover* of carbon in the blood, plasma, pectoral muscle and liver in broilers, through analysis of isotopic carbon ratios, using the ^{13}C natural variation between plants of different photosynthetic cycle. We used 150 male broilers chicks (Cobb) of one day old, casually distributed in experimental shed. All birds were fed a diet based on corn and soybean meal (predominantly C_4) for the first 48 days of life and, at 49 days of age, when there was a lower rate of growth of the animals began to receive diet consisting of rice and soybean (predominantly C_3). To measure quantitatively the carbon rate substitution of the diets on the birds tissues (*turnover*), was performed linearization of the data and linear regression. The half-life found in pectoral muscle, liver, blood and plasma were, respectively: 14,4; 2,7; 12,1 and 2,9 days. For the blood has not been possible to determine the amount of *pools*, the muscle, liver and plasma presented two *pools* and the first *pool* was quicker shifts. The percentage contribution of the 1° and 2° metabolic *pool* were, respectively: 44 and 56 for muscle, 76 and 24 for liver and the plasma 87 and 13%. The model defined for calculating of the general half-life is viable for stable isotope data, showing higher reliability in the technique used for linearization.

KEYWORDS: *Cobb*, half-life, metabolic *pool*, metabolism, stable isotopes.

INTRODUÇÃO

Entende-se por *turnover* isotópico a renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente, de seus isótopos que compõem o tecido corporal ou o organismo como um todo. Esse *turnover* pode ocorrer por meio de renovação tecidual resultante do processo de síntese e degradação em tecidos adultos e/ou pelo próprio crescimento nos tecidos em formação (Carrijo e Ducatti, 2007).

Análises da variação natural da abundância de isótopos estáveis representam uma ferramenta potencialmente poderosa para as pesquisas de fisiologia (Gannes; Del-Rio; Koch, 1998), uma vez que a razão isotópica dos elementos do corpo dos consumidores geralmente assemelha-se a suas dietas (DeNiro e Epstein, 1978; Hobson e Clark, 1992 a, b). Segundo Gannes, Del-Rio e Koch (1998), dietas com assinaturas isotópicas contrastantes podem ser usadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade com que esses constituintes da nova dieta são substituídos (Tieszen et al., 1983).

Durante o crescimento ocorre renovação do tecido por meio de sua síntese e degradação. Neste período ocorre também a hipertrofia e hiperplasia tecidual, as quais podem influenciar sua taxa de renovação, dependendo da fase em que o animal se encontra, por exemplo, no animal jovem ocorre interferência destas, já no animal adulto, não. Dessa forma, o fenômeno de *turnover* acelerado e a incorporação de carbono estão relacionados com o rápido crescimento das aves, porém o aumento do tamanho corporal está relacionado com a diluição do sinal isotópico e menor taxa de *turnover* do carbono tecidual (Mítuo, 2008).

Animais adultos são utilizados em grande parte dos estudos para determinação de taxas de *turnover* isotópico, provavelmente a fim de evitar erros de interpretações causadas pelo fator crescimento. Zuanon (2003), avaliando o *turnover* do carbono muscular de Tilápias do Nilo em crescimento, verificaram que o modelo matemático proposto por Ducatti et al. (2002), para avaliar a substituição do carbono tecidual em animais adultos, mostrou-se também adequado para animais em crescimento e concluíram que, neste caso, o acréscimo de massa tecidual é o principal fator na velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual (*turnover* isotópico) em relação ao *turnover* metabólico.

A maioria dos estudos usa como melhor ajuste uma exponencial para descrever o *turnover* isotópico nos tecidos, determinando uma única taxa de incorporação (Fry e Arnold, 1982; Tieszen et al. 1983; Hobson e Clark, 1992a). No entanto, Criss (1999) e Cerling et al. (2007) têm mostrado que a incorporação metabólica pode ser fracionada. Essas frações são chamadas de *pools* metabólicos.

Sartori et al. (2011) sugere que a exploração do comportamento fracionado da incorporação abre perspectivas de novas interpretações nos experimentos que visam estudo da síntese e degradação de metabólitos sob regime de dieta a base de plantas C_3 e C_4 , ou misturas isotópicas, com valores de δ distintos entre si. Segundo Cerling et al. (2007), os *pools* metabólicos são identificados através da linearização do modelo de troca isotópica e seu ajuste linear. Esse método permite a identificação do número de *pools*, suas meias-vidas e porcentagem de contribuição em relação ao todo (Sartori; Denadai; Ducatti, 2012).

Com base nestas informações, surgiu a proposta deste trabalho, que teve como objetivo avaliar o *turnover* do carbono em diferentes tecidos de frangos de corte a partir dos 49 dias de idade, através de análise das razões isotópicas do carbono, utilizando-se a variação natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distinto, pelo método de linearização.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados neste experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, determinados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

O experimento foi realizado na Universidade Estadual Paulista *Júlio de Mesquita Filho* - UNESP, campus de Botucatu-SP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves, do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal.

Foram utilizados 220 pintos de corte machos de um dia de idade da linhagem *Cobb*, vacinados no incubatório contra a doença de Marek, Gumboro e Boubá Aviária. Os pintos foram casualmente distribuídos em galpão experimental com 12 metros de comprimento e 6 metros de largura, em boxes de 2,5 m² (1 metro de largura e 2,5

metros de comprimento). Cada boxe do galpão foi equipado com um bebedouro automático pendular, comedouro tubular, cama e campânulas elétricas. As aves receberam alimentação e água à vontade durante todo o período experimental. A temperatura e ventilação foram controladas através do manejo das cortinas e ventiladores a fim de manter a zona de conforto térmico para cada fase de criação. Durante a fase final de criação dos animais, no período da noite a luz era mantida desligada a fim de diminuir o consumo de ração.

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C_4 (a base de milho e soja). Ao nascerem, estes possuíam em seus tecidos corporais valores isotópicos de carbono-13 semelhantes ao destas dietas (próximos de -19‰), e continuaram a receber dietas predominantemente C_4 até os 48 dias de idade. Após os 49 dias de idade as aves passaram a se alimentar com dieta composta predominantemente por grãos do ciclo fotossintético C_3 . A composição percentual, níveis nutricionais e valores isotópicos das rações experimentais estão apresentados na tabela 1.

As rações, na forma farelada, foram formuladas e adaptadas de acordo com as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno et al. (2011) e produzidas na fábrica de rações da Fazenda Experimental Lageado, da UNESP - Campus de Botucatu. No início do período experimental, dos 49 a 62 dias de idade, as aves receberam a dieta final 1 e dos 63 a 119 dias de idade a dieta final 2 (Tabela 1). Ajustes foram realizados nas dietas, com a inclusão de pequena quantidade de milho ou arroz, para que todas as dietas de cada fase de criação apresentassem valores isotópicos semelhantes.

Tabela 1. Composição percentual, nível nutricional calculado e valores isotópicos médios das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Dietas		
	Final (35 dias) C ₄	Final 1 (49 dias) C ₃	Final 2 (63 dias) C ₃
Milho moído	57,54	1,90	2,40
Farelo de soja	27,39	26,60	24,51
Quirera de arroz	8,80	64,25	65,50
Óleo de soja	3,20	4,10	5,00
Fosfato bicálcico	1,10	1,23	1,02
Calcário calcítico	0,76	0,66	0,60
DL-Metionina	0,15	0,15	0,08
L-Lisina	0,23	0,22	0,11
L-Treonina	0,05	0,11	0,04
Supl. vit e min ¹	0,33	0,33	0,33
Sal comum	0,45	0,45	0,41
Níveis nutricionais calculados			
EM (kcal/kg)	3150	3150	3230
Proteína Bruta (%)	18	18	17
Cálcio (%)	0,64	0,64	0,56
Fósforo disponível (%)	0,3	0,3	0,26
Lisina (%)	1,01	1,01	0,87
Metionina (%)	0,4	0,41	0,32
Metionina+Cistina (%)	0,65	0,62	0,53
Treonina (%)	0,66	0,66	0,56
Potássio (%)	0,68	0,61	0,58
Sódio (%)	0,2	0,2	0,18
Cloro (%)	0,32	0,31	0,28
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-18,86	-28,52	-28,68

¹Suplemento vitamínico e mineral Vaccinar® (por kg de ração): Fase final - ác. fólico 0,50 mg; ác. pantotênico 9,90 mg; cobre 13,20 mg; colina 0,33 g; etoxiquim 1,65 mg; ferro 0,07 g; fitase 0,83 ftu; iodo 1,16 mg; manganês 0,10 g; niacina 0,03 g; salinomicina 0,11 g; selênio 0,41 mg; virginiamicina 16,50 mg; vitamina A 8250,00 UI; vitamina B1 0,83 mg; vitamina B12 8,25 µg; vitamina B2 4,13 mg; vitamina B6 1,16 mg; vitamina D3 1650,00 UI; vitamina E 16,50 UI; vitamina K3 2,48 mg; zinco 0,10 g.

Os animais foram pesados semanalmente, desde o dia do alojamento até o final do período experimental, para determinar o ganho de peso e a taxa de crescimento máxima dos mesmos, a fim de estabelecer o momento em que a velocidade de crescimento passa a desacelerar.

Amostras de rações de todas as fases experimentais foram coletadas e congeladas para que fossem realizadas as análises das razões isotópicas de carbono no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, *Campus* de Botucatu. Posteriormente, as mesmas foram moídas em moinho criogênico à -196°C por dez minutos, em frequência máxima a fim de obter material homogêneo de finíssima granulometria, com aspecto de talco (Licatti, 1997; Ducatti, 2004). Depois de moídas, as amostras foram pesadas em cápsulas de estanho, introduzidas no espectrômetro de massa e queimadas quantitativamente para obtenção de CO_2 e determinação das razões isotópicas de carbono.

As coletas das amostras dos tecidos dos frangos de corte foram iniciadas aos 49 dias de idade, quando realizou-se a troca de dieta composta predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C_3 (a base de arroz e soja).

Para as análises isotópicas, foram tomadas aleatoriamente seis aves por dia de coleta, sendo que, cada ave retirada foi considerada uma repetição, aos 49, 50, 52, 55, 58, 61, 64, 67, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114 e 119 dias de idade das mesmas, totalizando em um período de coleta de 70 dias. 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 e Clark, 1992a).

As aves foram abatidas por deslocamento crânio-cervical, e em seguida foram coletadas amostras de sangue, plasma sanguíneo, músculo peitoral e fígado das aves experimentais. As amostras de sangue foram coletadas em tubos plásticos de 1mL e em outra porção em tubos de ensaio previamente heparinizados os quais foram, posteriormente, centrifugados, durante dez minutos a 400 ppm, para obtenção do plasma. Amostras de músculo peitoral foram obtidas a partir de uma fatia de 5cm do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo das aves, e as amostras de fígado das aves foram obtidas a partir de uma fatia de 5cm do lobo esquerdo do mesmo. Todas

as amostras foram devidamente identificadas, armazenadas e imediatamente congeladas a -20°C até sua preparação para as análises isotópicas.

O preparo das amostras foi realizado no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIE/IBB) da UNESP, *Campus* de Botucatu. As amostras de sangue e plasma foram descongeladas e secas a vácuo a -55°C com pressão em torno de $50\mu\text{Hg}$ por 48h em liofilizador L108 (Liobras®). As amostras de músculo peitoral das aves foram descongeladas, limpas, secas em estufa à 60°C durante 48h. Já as amostras de fígado dos frangos, foram descongeladas, secas em estufa à 60°C durante 48h e desengorduradas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, *Campus* de Botucatu, onde as amostras foram embrulhadas em papel filtro em formato de trouxinha para serem colocadas no extrator para posterior extração da gordura. Foi necessário desengordurar as amostras de fígado, pois de acordo com estudos, as amostras desengorduradas mostram-se mais ricas em carbono-13 que amostras engorduradas, isso ocorre porque os lipídeos são isotopicamente mais leves em ^{13}C comparado à dieta (DeNiro e Epstein, 1978; Tieszen et al., 1983).

Posteriormente, as amostras de músculo peitoral e fígado foram moídas em moinho criogênico Spex Sample Prep, modelo Geno/Grinder 2010, à -196°C . Foram utilizadas aproximadamente 2,0 g de cada amostra colocadas em diferentes frascos de policarbonato juntamente com duas esferas de aço inoxidável, o qual foi devidamente fechado e imerso em nitrogênio líquido durante três minutos para congelamento das amostras, para posterior moagem. No moinho, as amostras de músculo peitoral foram moídas uma única vez por um período de 5 minutos, com rotação de 920 rpm em alta frequência. As amostras de fígado necessitaram ser moídas por duas vezes para obtenção de material homogêneo, com finíssima granulometria (menor que $60\mu\text{m}$), os quais foram acondicionados em tubos de plásticos previamente identificados.

Para a realização das análises isotópicas no Centro de Isótopos Estáveis (CIEA/IBB) da UNESP, *Campus* de Botucatu, todas as amostras, depois de homogeneizadas, foram introduzidas em cápsulas de estanho e pesadas ($50-70\mu\text{g}$) em balança analítica de alta sensibilidade, com precisão de seis casas decimais. Após a pesagem as cápsulas foram introduzidas, por meio de um mostrador automático, no analisador elementar, Flash 2000 *Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*, no qual, em presença de oxigênio (O_2) e óxido de cobre (CuO), foram queimadas

quantitativamente para CO₂. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razões isotópicas (Delta V - *Advantage Isotope Ratio MS*, Thermo Scientific, Alemanha).

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

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

Onde:

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

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

Para verificar se a troca isotópica é fracionada (*pools* metabólicos), foi empregada a metodologia de Sartori (2011), que consiste na linearização dos dados e utilização dos pressupostos da regressão linear. A avaliação é realizada após transformação matemática dos dados de $\delta^{13}\text{C}$ em $\ln(1-F)$, conforme equação (2) e sobre o comportamento dos resíduos da regressão desses dados transformados. Quando o comportamento é curvilíneo, significa que o tecido em questão apresenta mais de um *pool* metabólico e, quando a análise dos resíduos mostra comportamento linear, o tecido em questão apresenta um único *pool* metabólico. Neste último caso o ajuste exponencial é o mais indicado para avaliar os dados.

$$\ln(1-F) = -kt \quad (2)$$

Onde:

\ln = logaritmo neperiano;

F = fração de átomos trocados;

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

t = tempo necessário para o tecido atingir o patamar de equilíbrio.

Para F=0,5 temos a meia vida ($T = \ln 2/k$)

Para os tecidos que apresentaram mais de um *pool* metabólico, dos quais os resíduos apresentaram um padrão curvilíneo, os dados foram divididos em dois intervalos pelo ponto de inflexão da curva. O intervalo de valores que representam o *pool* mais longo é analisado inicialmente e os resultados obtidos na regressão e a porcentagem de representação deste são utilizados para transformação dos dados que

foram analisados no *pool* mais curto pela a equação 3 (Cerling et al., 2007). Os resíduos do novo conjunto de dados foram analisados e caso ainda apresentasse comportamento curvilíneo, haveria a possibilidade de existência de mais um *pool* metabólico, como o caso foi o contrário, finalizou-se a análise e calculou-se a meia vida pela equação 4.

$$\ln(1-F) = (ki) t_i + b \quad (3)$$

Onde:

ki = intercepção que foi determinada através de regressão linear;

F = fração de átomos trocados;

t_i = tempo (dias).

b = intercepto

A meia-vida geral no caso da existência de dois *pools* metabólicos, foi calculada pela equação 4 (Sartori; Denadai; Ducatti, 2012):

$$T_g = T_1 T_2 / (x_1 T_2 + x_2 T_1) \quad (4)$$

Onde:

T_g = meia-vida geral, em tempo (dias);

T_1 e T_2 = meia-vida calculada no primeiro e segundo *pool*;

x_1 e x_2 = porcentagem de contribuição do primeiro e segundo *pool* ($x = e^b$).

Para os tecidos que apresentaram apenas um *pool* metabólico foi realizado o ajuste dos dados, utilizando-se o método de regressão exponencial de primeira ordem expressa pela equação 5 (Ducatti et al., 2002), do *software* Minitab® 16, mensurando assim a velocidade de substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves depois de determinado intervalo de tempo (k).

$$\delta^{13}C(t) = \delta^{13}C(f) + [\delta^{13}C(i) - \delta^{13}C(f)] e^{-kt} \quad (5)$$

Onde:

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

Adimensional;

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

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

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

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

Para determinar a porcentagem de átomos que foram trocados, verificando assim a confiabilidade nos resultados obtidos pelo ajuste, uma vez que o erro de estimativa dos parâmetros aumenta gradativamente quando a quantidade de átomos trocados é menor que 95%, foi utilizada a equação 6.

$$F = 1 - e^{-kt} \quad (6)$$

F = fração de átomos trocados;

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

t = tempo de troca do carbono.

Para verificar em que tempo houve troca total dos átomos de carbono, foi utilizada a equação 7.

$$t = (-1/K) \ln (1-F) \quad (7)$$

Onde:

t = tempo necessário para o tecido trocar seus átomos;

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

ln = logaritmo neperiano;

F = 0,9999 para troca total.

O fracionamento isotópico foi calculado de acordo com a equação 8 (Hobson; Clark, 1992b), sendo que o valor positivo no grande delta (Δ) indica que o tecido é enriquecido em carbono-13 em relação a dieta:

$$\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}} \quad (8)$$

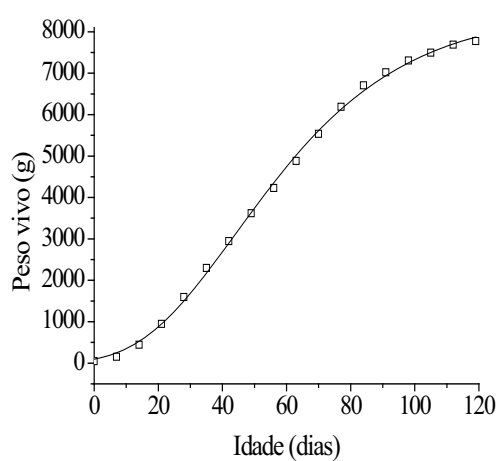
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ganho de peso e taxa de crescimento das aves

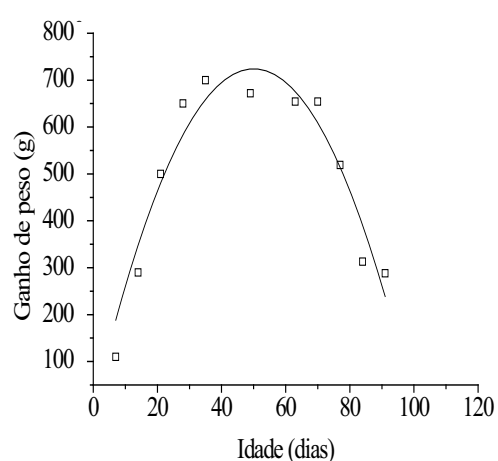
Foi determinada a curva de crescimento e a taxa de crescimento máxima dos animais desde o primeiro dia de idade da ave (Figura 1). Os dados médios de peso vivo e valores de ganho de peso, por idade, estão representados na tabela 2. Os dados corroboram com Sakomura e Rostagno (2007), que afirmam que nessa idade a taxa de crescimento do frango de corte já está reduzida. A importância da determinação dessa data se faz presente uma vez que a porcentagem da taxa de *turnover* metabólico é maior no período em que a taxa de crescimento reduz, importante para este estudo.

Tabela 2: Peso vivo e ganho de peso das aves durante todas as fases de criação.

Semana	Idade das Aves (dias)	Peso Vivo (g)	Ganho de Peso (g)
0	0	45	-
1	7	155	110
2	14	445	290
3	21	945	500
4	28	1595	650
5	35	2295	700
6	42	2975	680
7	49	3617	672
8	56	4276	659
9	63	4890	614
10	70	5514	624
11	77	6188	674
12	84	6707	519
13	91	7020	313
14	98	7308	288
15	105	7493	185
16	112	7691	198
17	119	7774	83



(a)



(b)

Figura 1: (a) Curva de crescimento e (b) taxa de crescimento do frango de corte pela função de Gompertz.

Durante as seis primeiras semanas de criação, as aves apresentaram crescimento acelerado, após esse período, por volta dos 49 dias de idade houve redução na velocidade do crescimento corporal. O ponto de inflexão da curva de crescimento delimita esses períodos. De acordo com Sakomura e Rostagno (2007) a principal característica da curva de Gompertz é o ponto de inflexão, no qual a taxa de crescimento é máxima e, a partir desse momento, tende a reduzir. Esse ponto coincide com a taxa máxima de crescimento representado na figura 1.

Incorporação do carbono da dieta nos tecidos

A razão isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ da dieta predominantemente C_4 que os animais receberam até 48 dias de idade (ração final) foi, em média, de $\delta^{13}\text{C} = -18,86\text{‰}$. Em relação as dietas formuladas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_3 foram, em média, de $\delta^{13}\text{C} = -28,52\text{‰}$ para a ração final 1 e $\delta^{13}\text{C} = -28,68\text{‰}$ para a ração final 2. O enriquecimento das dietas C_4 é consequência da predominância de milho que tem maior proporção de ^{13}C em relação ao arroz.

A mudança no valor de $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos ocorreu gradativamente durante a renovação tecidual da ave atingindo valores próximos ao da dieta (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios analisados de $\delta^{13}\text{C}$ (média \pm desvio padrão, em ‰), dos tecidos dos frangos de corte obtidos no início e no final do período experimental.

Idade	Peito	Fígado	Sangue	Plasma
49	-20,85 \pm 0,20	-19,66 \pm 0,34	-21,46 \pm 0,19	-19,61 \pm 0,24
119	-26,35 \pm 0,43	-26,55 \pm 0,18	-26,42 \pm 0,17	-26,02 \pm 0,09

Tabela 4. Fator de fracionamento isotópico entre tecido e dieta ($\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}}$, em ‰), ao início e final do período experimental.

Idade	Peito	Fígado	Sangue	Plasma
49	-1,99	-0,80	-2,60	-0,75
119	2,33	2,13	2,26	2,66

Os valores de fracionamento isotópico para cada tecido avaliado foi distinto (Tabela 4), sugerindo que estes tecidos passaram por processos metabólicos distintos até sua formação. Esse fracionamento é causado no processo de digestão, assimilação, metabolismo e excreção de nutrientes (DeNiro e Epstein, 1978).

A variação isotópica entre os tecidos pode estar refletindo a variação na composição bioquímica destes (proteínas, carboidratos, lipídeos). DeNiro e 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. Desta forma, as diferenças nos valores de fracionamento dos tecidos estão relacionadas com a composição química de cada um.

De acordo com Pelícia (2013, não publicado) esses tecidos tem sua nutrição a partir de nutrientes transportados através da corrente sanguínea que podem provir tanto da dieta quanto de processos catabólicos de outros tecidos, o que poderia interferir no valor isotópico final do *turnover*.

As afirmações de Deniro e Epstein (1978), de que o animal é, isotopicamente, aquilo que ele come com variação em torno de $\pm 2\%$ para carbono-13 se aplica para frangos de corte nesses tecidos estudados.

Determinação dos pools metabólicos

Pode-se inferir que o músculo peitoral, fígado e plasma apresentam mais de um *pool* metabólico (Figuras 2, 3 e 4), e o sangue apresenta apenas um *pool* metabólico (Figura 5). Pela análise de resíduos pode-se observar representação curvilínea, o que segundo Cerling et al. (2007), significa que há empobrecimento de carbono-13 pela proteína advinda provavelmente de mais de um órgão (Figura 2, 3 e 4), portanto mais de um *pool* metabólico, o que não ocorre na figura 5.

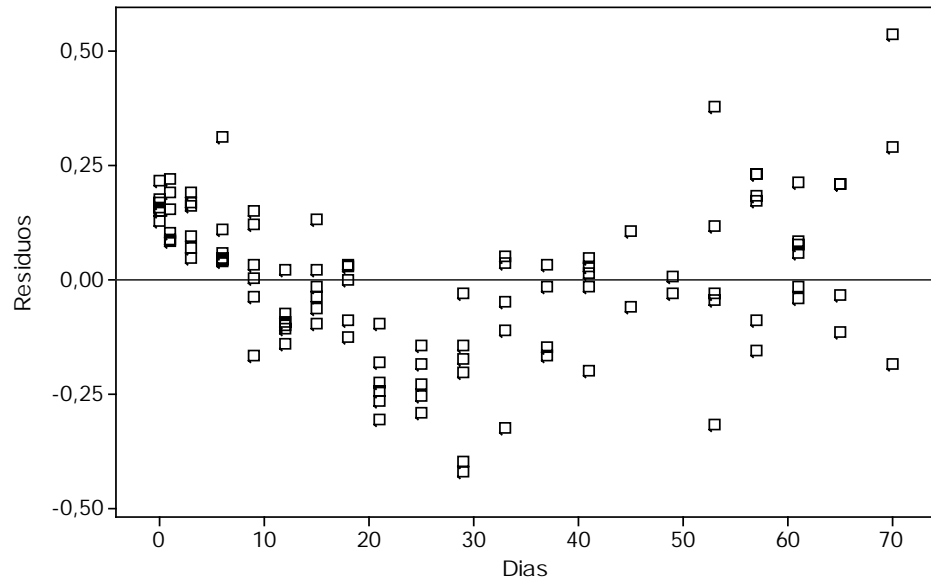


Figura 2. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do músculo peitoral.

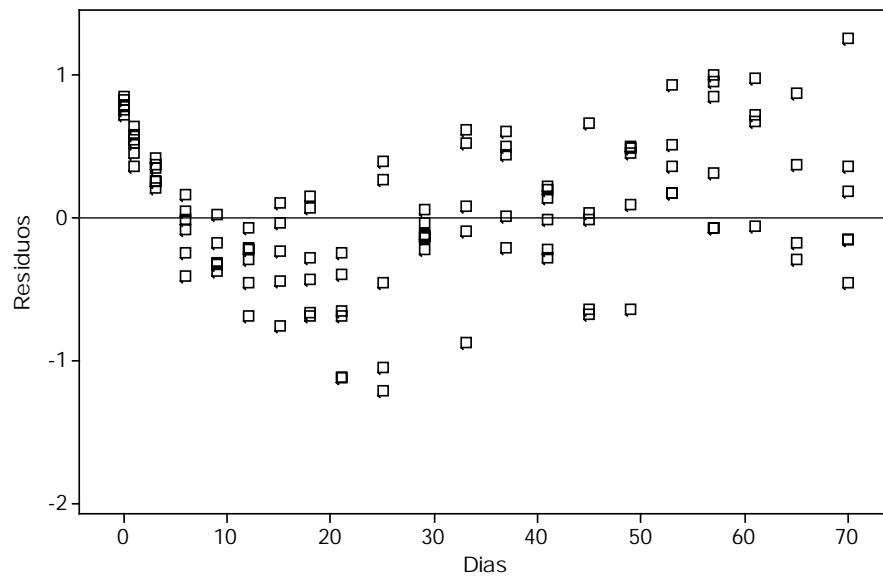


Figura 3. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do fígado.

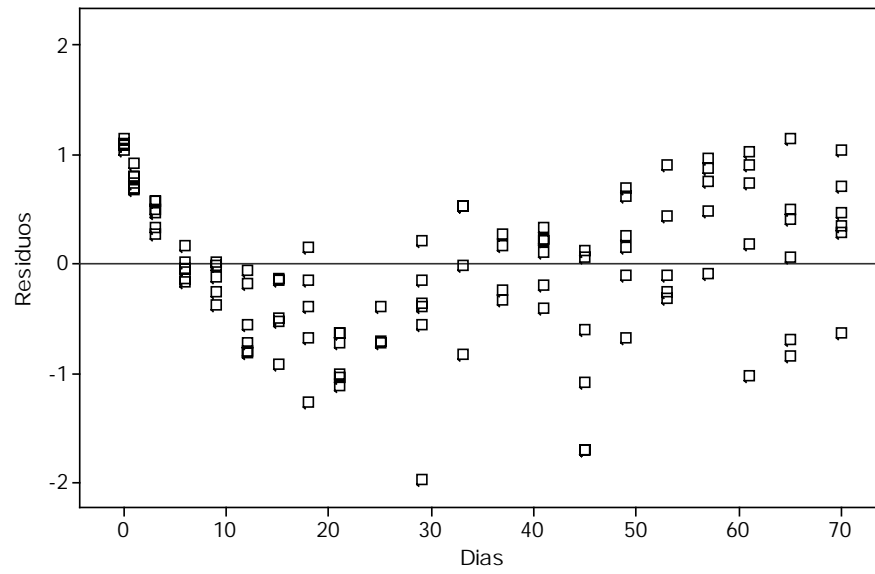


Figura 4. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do plasma.

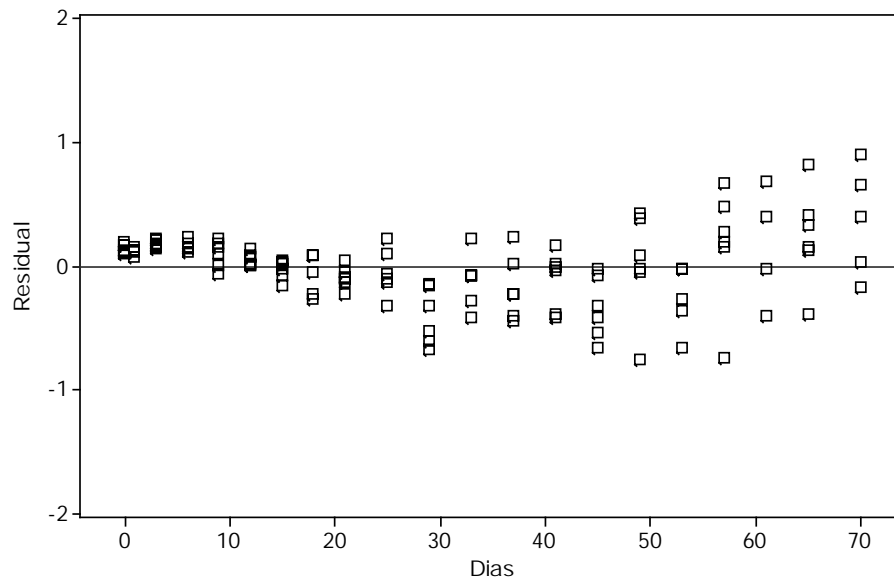


Figura 5. Análise de resíduos do ajuste linear dos dados isotópicos do sangue.

Segundo Sartori, Denadai, Ducatti (2012) o comportamento da diluição isotópica deve ser avaliado pelo ajuste da função exponencial de primeira ordem caso o tecido ou fração analisada apresente apenas um *pool* metabólico. Portanto, os dados de sangue que apresentaram esse comportamento, foram avaliados segundo Ducatti et al. (2002) (Figura 6).

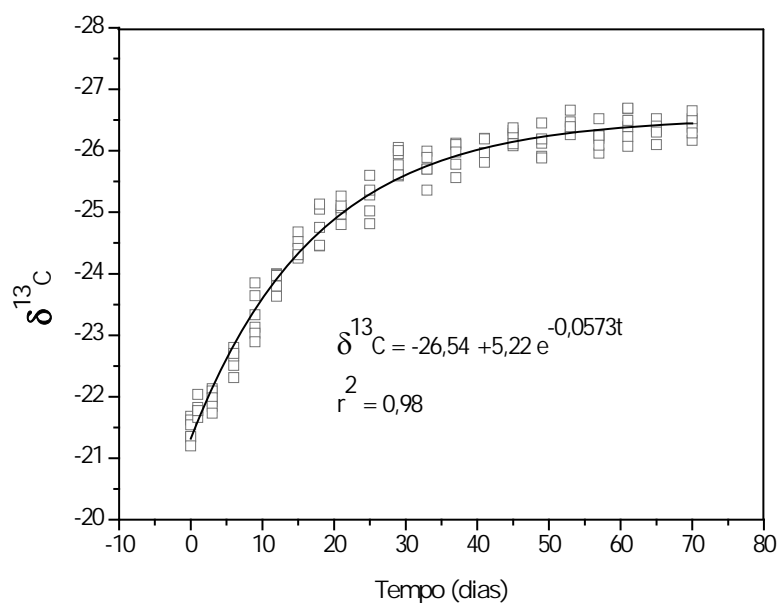


Figura 6. Curva de diluição isotópica do sangue de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

A diluição isotópica do músculo peitoral, fígado e plasma foi fracionada (Figuras 7 a 9), de acordo com Sartori, Denadai, Ducatti (2012).

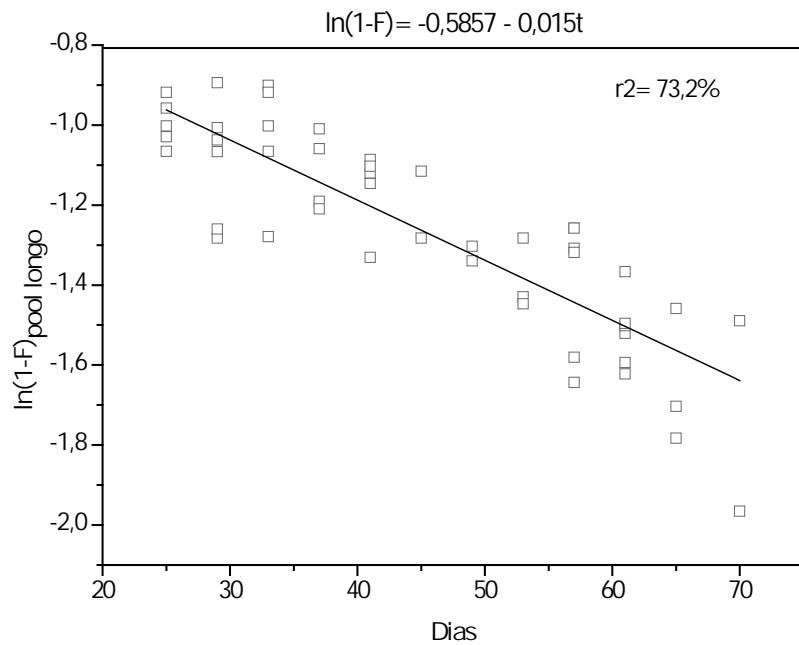
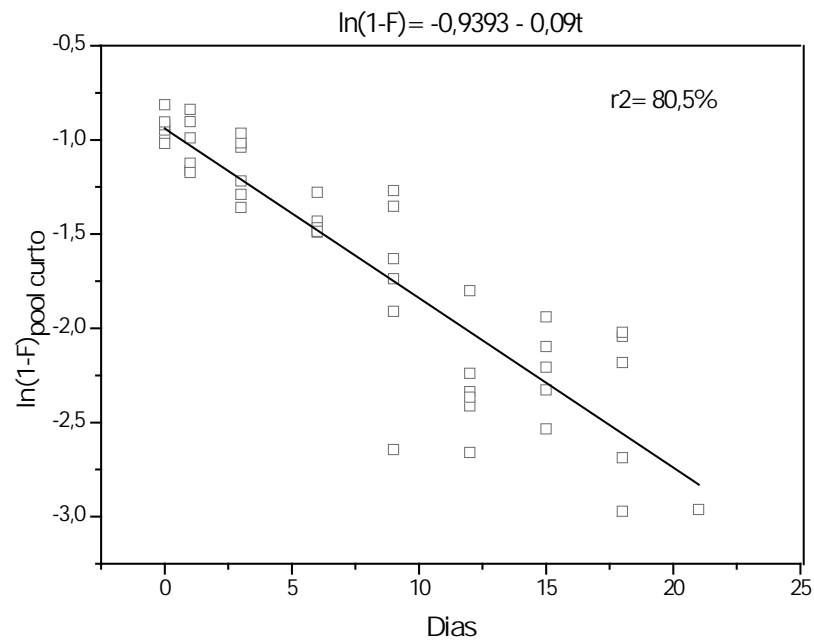


Figura 7. Representação linear da diluição isotópica do músculo peitoral de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

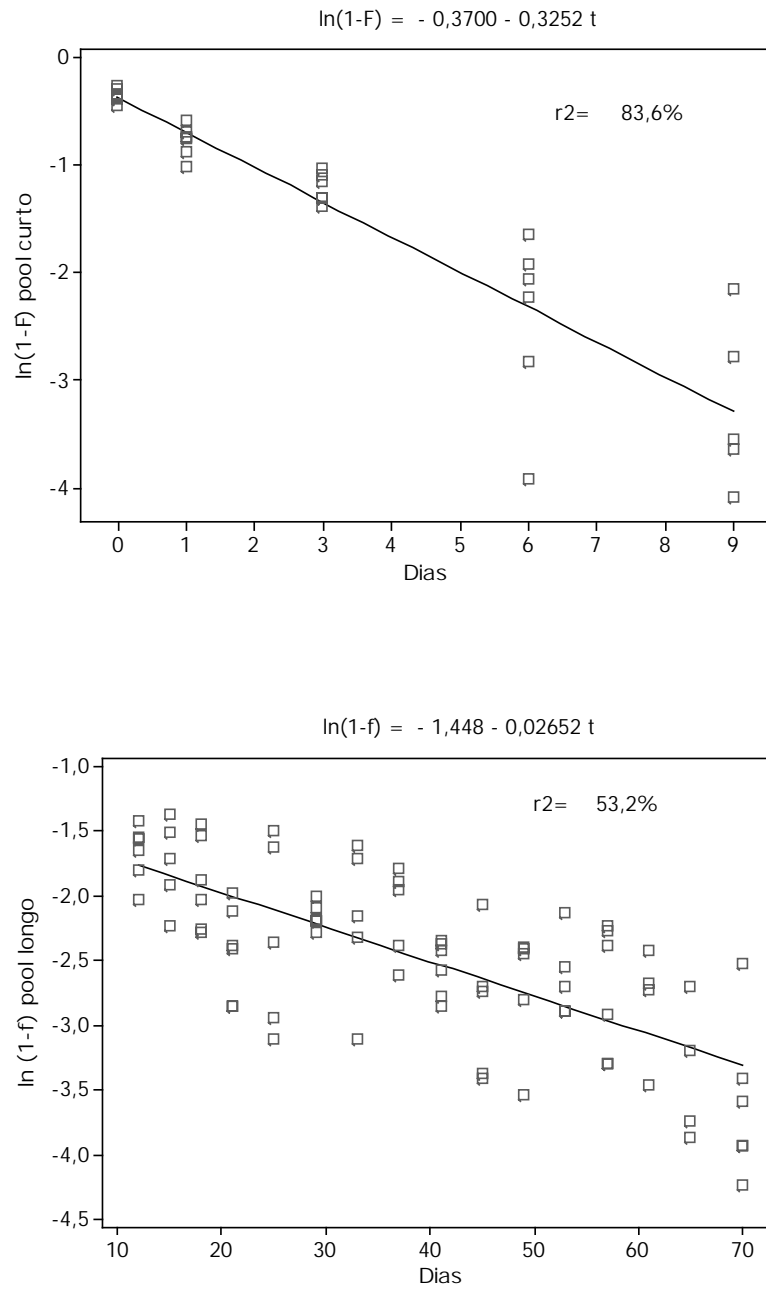


Figura 8. Representação linear da diluição isotópica do fígado de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

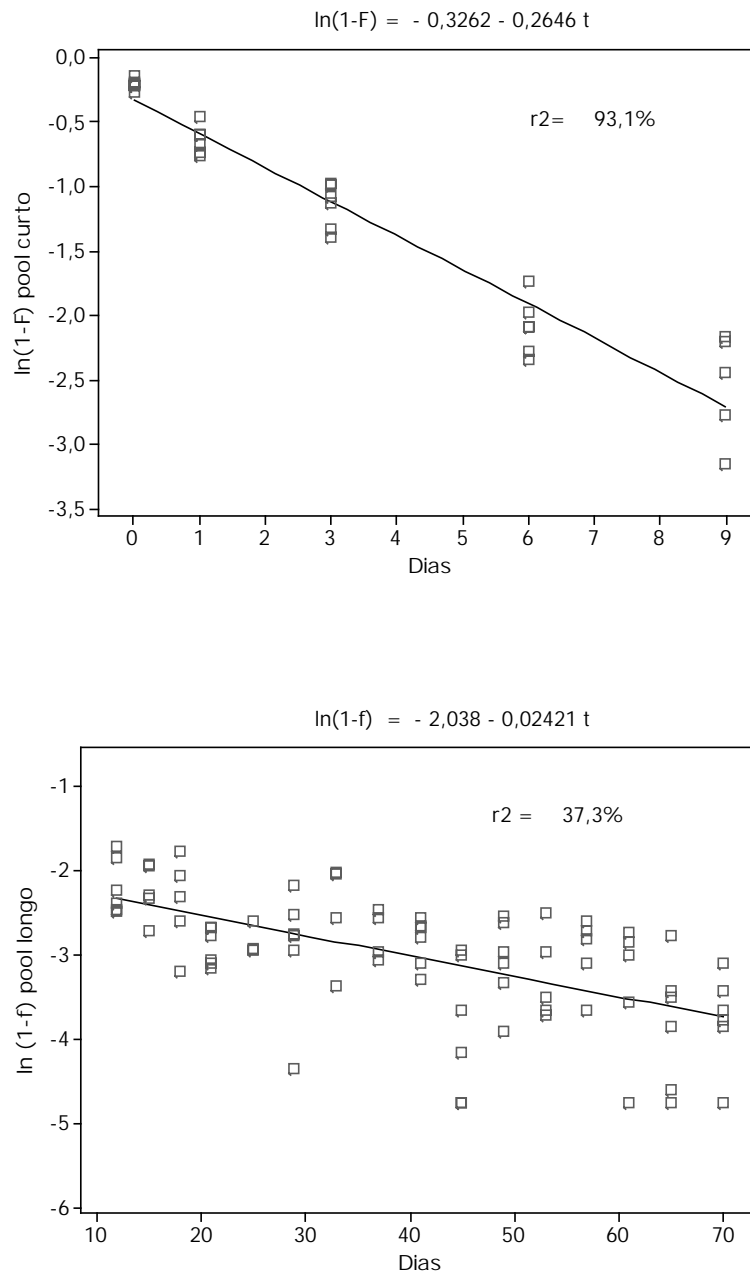


Figura 9. Representação linear da diluição isotópica do plasma sanguíneo de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

Com a análise de *pools* metabólicos foi possível determinar mais de uma constante de troca dentro do período avaliado, ou seja, ao verificarmos dois *pools* metabólicos neste mesmo período, pode-se calcular duas meias-vidas distintas em momentos diferentes dentro do período total avaliado. A soma destas duas meias-vidas, levando em consideração a porcentagem de contribuição de cada *pool* (equação 4), deve representar a meia-vida geral do período total avaliado.

A partir da metodologia de Cerling et al. (2007) foi verificado neste trabalho, a presença de dois *pools* metabólicos no músculo peitoral, fígado e plasma, e apenas um *pool* no sangue das aves. Esses resultados corroboram com o estudo de Carleton et al. (2008), quando analisaram a incorporação de ^{13}C em vários tecidos de pardais (*Passer domesticus*) que foram capturados em Laramie, EUA e alimentados com trigo integral por 120 dias, e em seguida, alimentados com milho moído durante 128 dias. Os autores observaram que a incorporação de $\delta^{13}\text{C}$ no sangue dos animais foi melhor descrita por modelos de um compartimento, ou seja, esse tecido apresentou apenas um *pool* metabólico, já a incorporação no plasma, fígado e músculo peitoral dos pássaros foi melhor representada por modelos de dois compartimentos, apresentaram dois *pools* metabólicos.

Porém, em relação à incorporação de ^{13}C no plasma e sangue, o resultado foi contrário ao encontrado por Pelícia (2013, não publicado), que ao estudar o *turnover* em frangos de corte em diferentes fases de crescimento, observou apenas um *pool* metabólico no plasma e dois *pools* no sangue dos animais.

Reeds (1989) afirma que a idade do indivíduo primariamente afeta a porção de *turnover* proteico diretamente relacionado ao crescimento. Embora diferentes tecidos cresçam a taxas muito semelhantes, existem diferenças inerentes na taxa da síntese e degradação proteica entre eles.

Tabela 5. Tempo de troca total dos átomos de carbono em cada tecido (t, em dias), porcentagem de átomos trocados dos tecidos (F, em %), meia-vida geral (Tg, em dias), meia-vida de cada *pool* metabólico (T₁ e T₂, em dias) e a porcentagem de contribuição do primeiro e segundo *pool* (x₁ e x₂, em %).

Tecidos	t	F	Tg	T₁	T₂	x₁	x₂
Peito	143,5	96,55	14,4	7,7	46,2	44	56
Fígado	26,9	99,99	2,7	2,1	26,1	76	24
Plasma	28,9	99,99	2,9	2,6	28,6	87	13
Sangue	120,55	98,19	12,1	-	-	-	-

Observou-se que o tempo de troca total dos átomos de carbono no peito e no sangue das aves foi maior que o tempo experimental de 70 dias, porém esse período foi suficiente para que ocorresse a incorporação do novo sinal isotópico em todos os tecidos, pois estes trocaram mais que 96% dos átomos (Tabela 5), atingindo o patamar de equilíbrio necessário para essa análise. Verificam-se diferenças entre os tecidos, sendo que o fígado e plasma apresentaram rápida taxa de metabolismo, enquanto que o músculo peitoral e sangue apresentaram taxas mais lentas, tendo incorporação da dieta mais desacelerada.

O primeiro *pool* do fígado e do plasma apresentou maior taxa de contribuição (76% e 87%, respectivamente), maior velocidade de troca dos valores isotópicos (2,1 e 2,6 dias) quando comparado com o segundo *pool* metabólico (26,1 e 28,6 dias). Diferentemente, o tecido muscular apresentou maior taxa de contribuição no segundo *pool*, porém, foi no primeiro *pool* em que ocorreu uma maior velocidade de troca dos valores isotópicos (7,7 dias).

Pode-se inferir que a existência de dois *pools* nos tecidos esteja relacionada com as frações bioquímicas de cada tecido (proteínas, carboidratos, lipídeos). Nos estudos de DeNiro e Epstein (1978), os autores afirmam que essas frações bioquímicas apresentam sinais isotópicos distintos, por apresentarem cada um uma composição diferente, elas podem apresentar taxas de *turnover* distintas entre si. Desta maneira, o *pool* curto pode ser representado por trocas realizadas pelas frações bioquímicas com alta taxa metabólica, enquanto que o *pool* longo, o qual possui taxa de *turnover* mais lenta, representado por trocas de frações com taxa de metabolismo mais lento.

Nos estudos de Cerling et al. (2007), os autores afirmam que é possível a obtenção de até três *pools* metabólicos em alguns tecidos. Ayliffe et al. (2004) sugerem que os *pools* metabólicos curtos, que possuem taxa de *turnover* rápida, são representados pelo metabolismo dos aminoácidos essenciais, os quais não podem ser sintetizados pelo organismo do animal. Em relação ao *pool* intermediário, os autores afirmam que está provavelmente relacionado com as funções do fígado, pâncreas, rim e do trato gastrointestinal, os quais tem mostrado ter meia-vida intermediária entre os diversos tecidos animais. Já o *pool* longo, é provavelmente composto pelas funções metabólicas do músculo esquelético, com contribuições menores de órgãos como o músculo cardíaco e o cérebro. Estes tipos de tecidos são conhecidos por ter taxas de *turnover* mais lentas do que os tecidos mais metabolicamente ativos.

O fígado e o plasma sanguíneo apresentaram metabolismo mais rápido em relação ao sangue e o peito avaliados, com valor de meia-vida geral de 2,7 e 2,9 dias, respectivamente. De acordo com Guyton e Hall (2006), o fígado possui elevada taxa metabólica, compartilha substratos e energia com um e outro sistema metabólico, processa e sintetiza múltiplas substâncias que são transportadas para outras áreas do corpo e realiza ampla quantidade de funções metabólicas. Já o plasma, é um tecido 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; Furlan; Gonzales, 2002).

Pode-se observar que a meia-vida do sangue nas aves foi de 12,1 dias. Os resultados de plasma e sangue corroboram com os de Pearson et al. (2003), os quais indicaram em seus estudos com pássaros onívoros que a meia-vida do sangue total é cerca de 8 a 12 dias e que a do plasma sanguíneo cerca de 1 a 4 dias, concluindo que o *turnover* do sangue é mais lento que o do plasma sanguíneo. Segundo estes pesquisadores, 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 em longo prazo, pois suas células têm maior longevidade que os constituintes do plasma, tendo ritmo mais lento na taxa de *turnover*. De acordo com Macari e Luquetti (2002) as células sanguíneas apresentam vida média mais longa, em torno de 28 a 35 dias, mantendo o sinal isotópico da dieta mais antiga e assim interferindo no sinal do sangue

como um todo. Hahnn 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.

O tecido muscular e o fígado se comportam de maneiras diferentes quanto a meia-vida (Tabela 5). O fígado é um órgão homeostático que redistribui os metabólitos para os demais tecidos corporais. Os músculos tendem a reagir mais lentamente que o fígado, em termos metabólicos, basicamente em função da dieta (Peragón et al., 2001; Cruz, 2002).

O valor da meia-vida geral no fígado foi de 2,7 dias. Denadai et al. (2013) ao avaliarem a incorporação do carbono-13 da dieta no fígado de frangos de corte de 42 aos 56 dias de idade alimentados com troca de dieta com valores isotópicos diferentes, encontraram uma meia-vida de 2,1 dias. No início do estudo desses autores as aves ainda não atingiram a idade em que a taxa de crescimento começa a desacelerar, permitindo concluir que teve *turnover* mais rápido, pois nessa fase ainda há uma taxa de formação de novo tecido, o que já não ocorre com os tecidos dos animais com a idade de 49 a 119 dias.

Para o músculo do peito dos frangos, a meia-vida geral encontrada foi de 14,4 dias. Neste tecido 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 tecido metabolicamente ativo (Macari; Furlan; Gonzales, 2002).

Para os animais na fase de desaceleração do crescimento, o *turnover* foi relacionado mais com o metabolismo de manutenção e renovação de tecido já formado do que com a formação de tecido novo (crescimento). Kennedy e Krouse, (1990) afirmam que as taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, frações bioquímicas e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal. Cruz et al. (2005) trabalharam com frangos de um a 30 dias de idade e encontraram valores de meia vida do músculo peitoral de 5 a 8 dias, valores menores dos encontrados neste trabalho, e assim, confirmando que em animais mais jovens, o fator crescimento afeta no valor do *turnover*.

Pelícia (2013, não publicado) estudando *turnover* em frangos de corte em crescimento observou que para todos os tecidos a taxa de metabolismo foi mais rápida no animal mais jovem enquanto que no animal mais velho essa taxa se torna mais lenta. Os valores encontrados para meia-vida de frangos com 35 a 98 dias de idade foram de 8,2 dias para o peito; 1,7 dias para o plasma e 11 dias para o sangue.

Durante o crescimento das aves tem-se inicialmente incremento tecidual rápido, diminuindo com o passar do tempo, até atingir o pleno desenvolvimento do tecido, quando então se torna nulo esse crescimento (Macari; Furlan; Gonzales, 2002). O acréscimo de massa tecidual é o principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual em relação à taxa de troca isotópica de animais jovens (Zuanon, 2003). Segundo Pohal (2004) e Viola (2007) quanto mais metabolicamente ativo for o tecido, maior a tendência de receber nutrientes para sua demanda apropriada.

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

CONCLUSÕES

O músculo peitoral, fígado e plasma dos frangos apresentam mais de um *pool* metabólico, e o sangue das aves nessa fase apresenta apenas um *pool* metabólico.

O *pool* curto pode ser representado por trocas realizadas pelas frações bioquímicas com alta taxa metabólica, e o *pool* longo por trocas de frações com taxa de metabolismo mais lento.

O modelo definido para o cálculo da meia vida geral é viável para dados de isótopos estáveis, apresentando maior confiabilidade na técnica utilizada para linearização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayliffe LK, Cerling TE, Robinson T, West AG, Sponheimer M, Passey BH, Hammer J, Roeder B, Dearing MD, Ehleringer JR (2004) Turnover of carbon isotopes in tail hair and breath CO₂ of horses fed an isotopically varied diet. *Oecologia* v.139, p.11–22.
- Carleton, S. A., Kelly, L., Anderson-sprecher, R. & Marti'nez del rio, C. (2008) Should we use one or multi-compartment models to describe ¹³C incorporation into animal tissues? *Rapid communications in Mass Spectrometry*, v.22, p.3008–3014.
- Carrijo, A.S.; Ducatti, C. Utilização de isótopos estáveis do carbono para a rastreabilidade de rações. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2007, Santos. Anais... Campinas: FACTA, 2007. p.289-307.
- Cerling, T.E.; Ayliffe, L.K.; Dearing, M.D.; Ehleringer, J.R.; passey, B.H.; Podlesak, D.W.; Torregrossa, A.; West, A.G. Determining biological tissue *turnover* using stable isotopes: the reaction progress variable. *Oecologia*, v.151, p.175-189, 2007.
- Criss, R.E. Nonequilibrium fractionation and isotopic transport. In: Criss, R.E. (Ed.). *Principles of stable isotope distribution*. Oxford University Press, New York. p.139-142. 1999.
- Cruz, V.C.; Ducatti, C.; Pezzato, A.C.; Pinheiro, D.F.; Sartori, J.R.; Carrijo, S.A. Influence of diet assimilation and turnover of ¹³C in tissue of broiler chickens. *British Poultry Science*, v.46, n.3, p.382-389. 2005.
- Cruz, V.C. Livre escolha de alimentos dos ciclos fotossintéticos C₃ e C₄, fracionamento e *turnover* dos isótopos estáveis de carbono nos tecidos de frango de corte. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, p.65, 2002.
- Denadai, J.C. et al. *Turnover* do carbono-13 na tíbia e fígado de frangos de corte em diferentes períodos de crescimento. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&ved=0CDUQFjAB&url=http://www.abz.org.br/files.php?file=documentos/TURNOVER_DO_CARBONO_13_NA_T_BIA_E_F_GADO_DE_FRANGOS_DE_CORTE_EM_848081190.pdf&ei=S4TWUo6fKOjMsQT2voIQ&usg=AFQjCNE3jwKX0qza8Tm9G8DEucEALJ2C0Q&sig2=GfYmKhm787_6w2cG18T-3w&bvm=bv.59378465,d.cWc>. Acesso em: 15 nov. 2013.
- 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. Isótopos estáveis ambientais. 2004 [Apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p.184, 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*, Piracicaba, v.59, n.1, p.29-33, 2002.
- Fry, B.; Arnold, C. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaecus aztecus*). *Oecologia* v. 54, p. 200-204, 1982.
- 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 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 aviária aplicada a frangos de corte*, cap.21. p.279-297, 2002.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*, cap.70, p.861-862, 2006.
- Hahn, 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. and Clark, R.G. 1992a. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ^{13}C in tissues. *The Condor*, v.94, p.181-188.
- Hobson, K.A. and Clark, R.G. 1992b. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. *The Condor*, v.94, p.189-197.
- Kennedy, B. B.; Krouse, H. R.: Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*. v.68, p.960-972, 1990.
- Licatti, F. Isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas do ciclo bioquímico C_3 e C_4 . 1997. Universidade Estadual Paulista, 1997.
- Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. *Fisiologia aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.375, 2002.
- Macari, M; Luquetti, B C. *Fisiologia Cardiovascular*. In: Macari, M; Furlan, R L; Gonzales, E. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 17-35.
- Mituo, M.A.O. *Turnover* do carbono-13 nos tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Unesp, Botucatu, 2008.
- 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. *Turnover* do carbono-13 em tecidos de frangos de corte. Trabalho ainda não publicado.2013.
- Peragón, J.; Barroso, J.B.; García-Salguero, L.; Higuera, M.; Lupiáñez, J.A. Growth, protein-*turnover* and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2001. v.33, p.1227-1238.
- Pohal S. Característica de crescimento de dois cruzamentos de frangos de corte recebendo dietas com diferentes níveis de lisina na primeira semana de vida. Tese (Doutorado) 2004, p.174.
- Reeds, P.J. Regulation of Protein *Turnover*. In: CAMPION, D.R.; HAUSMANN, G.J.; MARTIN, R.J. *Animal growth regulation*, cap.9, p.183-184, 1989.
- Rostagno, H.S. *et al.* Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- Sakomura, N.K.; ROSTAGNO, H.S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
- Sartori, M.M.P.; Denadai, J C; Ducatti, C. Modelo de determinação da meia vida para troca dos isótopos estáveis, contendo dois *pools* metabólicos. 2012, Águas de Lindóia: SBMAC, 2012. p. 1245-1250.
- Sartori, Maria Márcia P. et al. Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas. In: CONGRESSO BRMASS, 4., 2011, Campinas. Determinação de *pools* metabólicos, aplicação em ovos de poedeira. Campinas, 2011.
- 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.
- Viola TH. Eficiência de deposição de lisina aos 26, 33 e 40 dias de idade em frangos de corte. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul 2007, p.157.
- Zuanon, J.A.S. *Turnover* de carbono em tecido muscular de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio dos isótopos estáveis de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). Jaboticabal: Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 2003. 96p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, 2003.

CAPÍTULO 3

IMPLICAÇÕES

IMPLICAÇÕES

A técnica de isótopos estáveis está se tornando uma promissora ferramenta nas análises da nutrição, metabolismo e fisiologia dos animais através dos dados da incorporação do $\delta^{13}\text{C}$ da dieta em diversos tecidos dos animais por meio da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$).

Dessa forma, pesquisas na área de produção animal utilizando essa técnica vêm sendo realizadas de forma crescente. As formas de aplicação dos isótopos estáveis encontram-se em evidência, com atual aproveitamento em avaliação e melhor compreensão do funcionamento do metabolismo animal, através da análise de *turnover* tecidual.

Um dos impasses dessa metodologia, é que os autores avaliam as trocas de carbono nos tecidos em fase de crescimento, considerando que toda a troca foi em função do *turnover*, sendo que em um animal em crescimento, a troca se deve tanto à taxa renovação do tecido formado, quanto à formação de tecido novo. Dessa maneira, é necessário detalhar melhor o *turnover* tecidual em animais que estão em fase de crescimento desacelerado e em animais que estão na fase adulta.

A adaptação e o aperfeiçoamento de modelos matemáticos, mais avançados, da incorporação da dieta pela distribuição dos elementos em organismos vivos permitem avaliar de forma mais ampla os resultados obtidos pela técnica de isótopos estáveis, determinando se a taxa de troca isotópica é única ou fracionada (mais de um *pool* metabólico).

A exploração da função linear abre perspectivas de novas interpretações nestes experimentos que visam estudo da síntese e degradação de metabólitos sob regime de dieta a base de plantas C_3 e C_4 , ou misturas isotópicas, com valores de δ distintos entre si.

Este trabalho inédito abre uma promissora linha de pesquisa básica na área de fisiologia e metabolismo animal, e principalmente, pela ausência de estudos com este enfoque aplicando estas técnicas. Por isso novos estudos deverão ser conduzidos nesta área de nutrição com objetivo de aprimorar essa nova técnica e para obter maiores informações sobre fatores que podem influenciar no tempo de *turnover* nos tecidos, como por exemplo, fatores relacionados à fisiologia do animal, em função do tamanho corporal e estágio de desenvolvimento.

APÊNDICE

Apêndice (CAPÍTULO 2)

A confiabilidade dos resultados de meia-vida geral nos tecidos de frangos de corte analisados, obtidas pelo método de ajuste linear pôde ser confirmada pelos valores de meias-vidas gerais tg (figuras 1, 2 e 3) que são semelhantes às obtidas pelos ajustes exponenciais dos dados de cada tecido (tabela 5).

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono das dietas nos tecidos das aves depois de determinado intervalo de tempo, foi realizado o ajuste exponencial dos dados para confirmar que o tempo de avaliação de 70 dias foi suficiente para que todos os tecidos analisados alcançassem o patamar de equilíbrio isotópico.

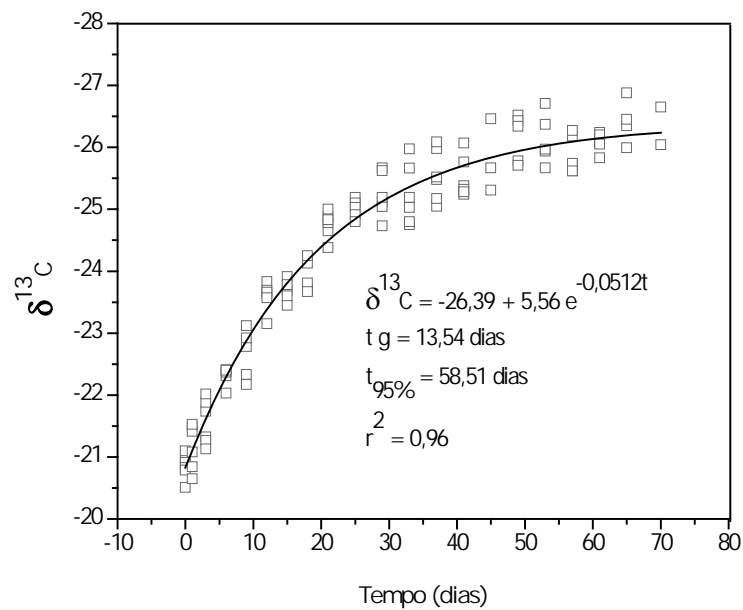


Figura 1. Curva de diluição isotópica no músculo peitoral de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

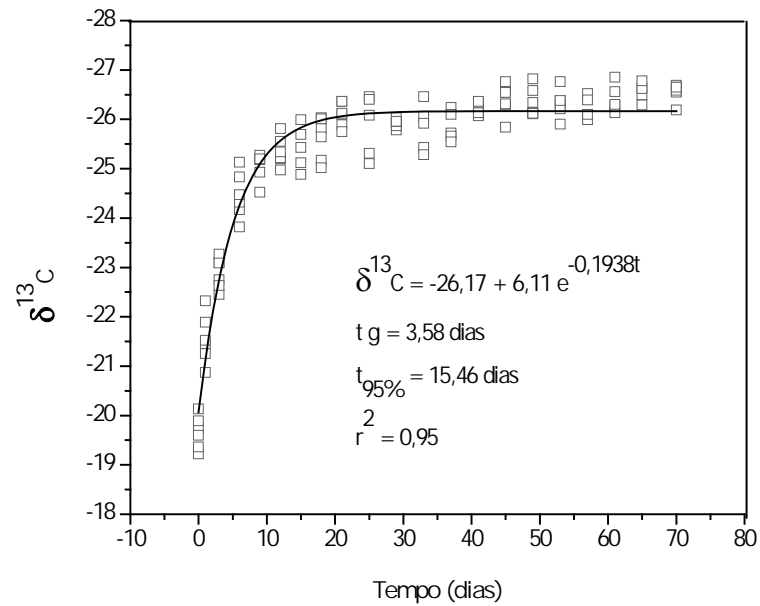


Figura 2. Curva de diluição isotópica no fígado de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.

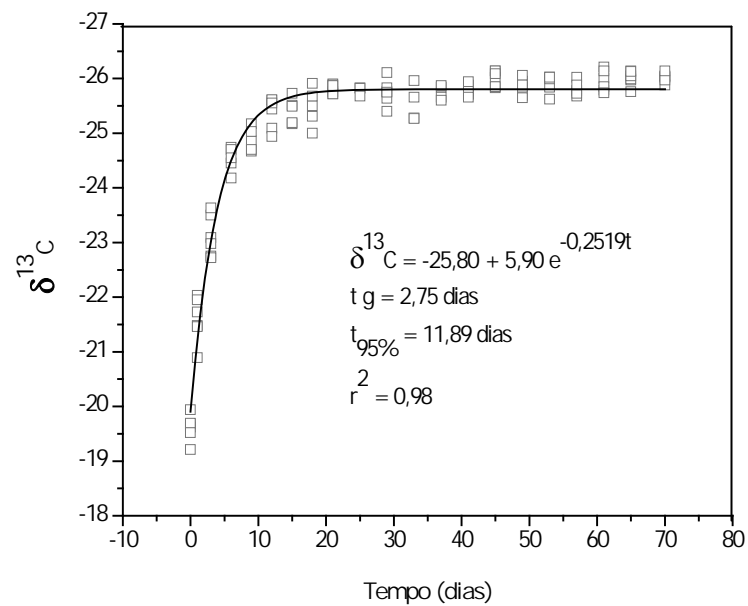


Figura 3. Curva de diluição isotópica no plasma sanguíneo de frangos de corte após a troca de dieta com sinal isotópico distinto.