

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR  
SOBRE O DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇA E  
PADRÕES DE EXPRESSÃO DE GENES DO EIXO  
SOMATOTRÓFICO EM FRANGOS DE CORTE.**

**Juliana De Antonio**

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR  
SOBRE O DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇA E  
PADRÕES DE EXPRESSÃO DE GENES DO EIXO  
SOMATOTRÓFICO EM FRANGOS DE CORTE.**

**Juliana De Antonio**

**Prof. Dr. Renato Luis Furlan**

**Prof. Dr. Luiz Roberto Furlan**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

Julho de 2010

Jaboticabal – SP

De Antonio, Juliana  
D281e Efeito da temperatura e da restrição alimentar sobre o desempenho, composição de carcaça e padrões de expressão de genes do eixo somatotrófico em frangos de corte / Juliana De Antonio – Jaboticabal, 2010  
xiii, 68 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010  
Orientador: Renato Luís Furlan  
Banca examinadora: João Martins Pizauro Junior, Poliana Fernanda Giachetto  
Bibliografia

1. Expressão gênica. 2. Estresse térmico. 3. Restrição alimentar. 4. Frangos de corte. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.082

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O DE  
SEMPENHO, COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇA E PADRÕES DE EXPRESSÃO DE  
GENES DO EIXO SOMATOTRÓFICO EM FRANGOS DE CORTE

**AUTORA:** JULIANA DE ANTONIO

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. RENATO LUIS FURLAN

**CO-ORIENTADOR:** Prof. Dr. LUIZ ROBERTO FURLAN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em ZOOTECNIA , pela  
Comissão Examinadora

Prof. Dr. LUIZ ROBERTO FURLAN

Departamento de Melhor e Nutri Animal / Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia de  
Botucatu

Prof. Dr. JOAO MARTINS PIZAURO JUNIOR

Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. PÓLIANA FERNANDA GIACHETTO

EMBRAPA Informática Agropecuária / Campinas/SP

Data da realização: 23 de julho de 2010.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JULIANA DE ANTONIO** – nasceu em Itaju – SP, ao dia 30 de maio de 1983. Ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV/UNESP em fevereiro de 2003, colando grau de Licenciada em Ciências Biológicas em janeiro de 2007 e de Bacharel em Ciências Biológicas em abril de 2008. Em março de 2008 ingressou no Curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV/UNESP, sendo que em 23 de julho de 2010 submeteu sua Dissertação de Mestrado à banca examinadora.

“É mais fácil obter o que se deseja com um  
sorriso do que à ponta da espada”

Willian Shakespeare

Aos meus pais, **Deva e Aléssio**,  
pela minha formação,  
pelas oportunidades concedidas,  
pelo amor e carinho dedicados,  
paciência, compreensão e incondicional doação,

Ao meu irmão, **Paulo**,  
meus avós, **Edna e Fabiano**,  
e familiares queridos,  
pela amizade, carinho, paciência e apoio,

Aos amigos que faço irmãos,

**Ofereço**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo o que sou, por tudo que tenho, e por ter permitido que eu chegasse até aqui.

Ao Prof. Dr. Renato Luis Furlan, pela oportunidade, orientação e contribuição para minha formação.

Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Furlan, pela co-orientação, pelos conselhos e ensinamentos.

Ao meu primeiro orientador, Dr. Gustavo Henrique Nogueira Costa, a quem sempre agradecerei e devotarei a mais sincera admiração.

À Profa. Dra. Maria Inês T. Ferro e ao Prof. Dr. Jesus Aparecido Ferro pela disponibilização das instalações do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBM) para a realização das análises moleculares.

Aos membros da comissão examinadora pela disponibilidade, pelas valiosas sugestões e pelo esmero na correção deste trabalho.

Aos frangos utilizados neste trabalho, é com misto de pesar e alívio que lhes agradeço, na certeza de que as vidas se foram, mas, o conhecimento gerado permanecerá.

Aos funcionários Euclides, William, Clara, Vagner e Orandir (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal), Robson, Isildo, Vicente, Liandro e estagiários do CTA (Setor de Avicultura), Sr. Oswaldo e Hélio (Fábrica de Ração) cuja disponibilidade permitiu a realização de nosso trabalho.

Ao Sr. Orlando e Ana Paula do Laboratório de Nutrição Animal pelo auxílio durante a realização das análises bromatológicas.

Aos queridos companheiros Marcos, Splinter, karoll, Dunga, Mala, Lilian, Vands, Vanessa, Lívia, Wedson e Kênia pela imensurável ajuda durante a condução do experimento e pelos divertidos momentos de convivência. Sem vocês eu não teria conseguido.

Aos grandes amigos Marcos, Splinter e karina, pela disposição constante, pelas valiosas sugestões e ensinamentos, pela inestimável ajuda, adorável convivência e pela grandiosa paciência comigo.

Aos inesquecíveis amigos do LBM, em especial, Dani, Karina, Elaine, Juliana, Gisele, Agda, Renata, Flávia, Fabrício e Julinho, que sempre me ajudaram e torceram por mim.

Aos meus grandes e para sempre lembrados amigos de Itaju, em especial, André, Thiago, Gustavo, Jorge e Bruna (Barra Bonita), incentivadores e torcedores fanáticos do meu sucesso. Meu muito obrigada!!

Aos amigos de Jaboticabal e aos que aqui encontrei, em especial, Marcelo Marchi Costa e a portuga + que brasileira Claudia Demetrio, agradeço por ter o privilégio de tê-los como amigos.

À minha família jaboticabalense, Adriana Nabil Abdel Fattah Ibrahim (Turka), Melina Cristina Mancini (Muskita), Jacqueline Boldrin de Paiva (Escopeta), Jaqueline Raymondi Silva (Boza) e as agregadas Viviane de Souza Morita (Vandinha) e Fernanda Laroza Paganelli (Ponta), com as quais compartilhei estudos, trabalhos, alegrias, angústias, baladas, esquentas, momentos inesquecíveis....SAUDADES.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Fernando de Quadros Ribeiro por toda sua dedicação, incentivo e companheirismo e pelo prazer e privilégio de estar ao seu lado.

Aos meus pais, meu irmão e familiares, dedico todo este meu trabalho e agradeço por todo amor, confiança e respeito. Se hoje estou aqui, é porque vocês acreditaram em meu sucesso e caminharam ao meu lado.

À minha mãe, Deva, que se doou inteira e renunciou aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudesse realizar os meus. Meu orgulho e exemplo maior de amor, generosidade, bondade, dedicação, paciência, amizade.....

A todos aqueles que em algum momento caminharam ao meu lado, e que por culpa da minha memória aqui não foram citados.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>01</b>
INTRODUÇÃO.....	01
REVISÃO DE LITERATURA.....	02
Panorama da avicultura brasileira.....	02
O calor na produção de frangos de corte.....	03
Hormônios envolvidos nos processos de crescimento e desenvolvimento animal.....	06
REFERÊNCIAS.....	12
<b>CAPÍTULO 2 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO DE CARÇA EM FRANGOS DE CORTE.....</b>	<b>21</b>
RESUMO.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
Desempenho.....	27
Rendimento de carcaça e de cortes comerciais.....	32
Composição bromatológica dos cortes comerciais.....	35
CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS.....	37
<b>CAPÍTULO 3 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O PADRÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO (GHR), DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA I (IGF-I) E DE SEU RECEPTOR (IGF-IR) NO FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE.....</b>	<b>42</b>

RESUMO.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
Procedimentos experimentais.....	45
Coleta tecidual e isolamento do RNA total.....	45
Síntese e purificação da primeira fita de cDNA.....	50
Reação de PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR).....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
Análises para a determinação do gene normalizador.....	52
Análise da expressão gênica dos genes GHR e IGF-I aos 21 e 42 dias de idade das aves.....	55
CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CA:** conversão alimentar

**cDNA:** DNA complementar

**CE:** eletroforese capilar

**CR:** consumo de ração

**C+S:** coxas e sobrecoxas

**Ct:** ciclo de “threshold”

**GAPDH:** gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase

**GH:** hormônio do crescimento

**GHR:** receptor do hormônio do crescimento

**GHRH:** hormônio liberador do hormônio do crescimento

**GP:** ganho de peso

**IGF-I:** fator de crescimento semelhante a insulina I

**IGF-IR:** receptor do fator de crescimento semelhante a insulina I

**LIF:** fluorescência induzida a laser

**PCR:** reação em cadeia da polimerase

**qRT-PCR:** PCR quantitativo em tempo real

**SS:** somatostatina

**TN:** termoneutra

**TRH:** hormônio liberador de tireotrofina

**UBA:** União Brasileira da Avicultura

## LISTA DE FIGURAS

Página

### **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Figura 1. Esquema representativo do eixo somatotrófico..... 8

### **CAPÍTULO 3 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O PADRÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO (GHR), DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA I (IGF-I) E DE SEU RECEPTOR (IGF-IR) NO FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE**

Figura 1. Eletroforese capilar em gel virtual de RNA total extraído do fígado de frangos de corte, utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando as bandas de RNA ribossomal (28S e 18S)..... 48

Figura 2. Eletroferograma de RNA total extraído do fígado de frango de corte, utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando os picos das bandas 28S e 18S de RNA ribossomal..... 48

Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1,5%, de RNA total extraído do fígado de frangos de corte, utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando as bandas de RNA ribossomal (28S e 18S)..... 49

Figura 4 Estabilidade dos 3 genes candidatos a melhor gene normalizador segundo o programa NormFinder aos 21 dias de idade das aves..... 54

Figura 5 Estabilidade dos 3 genes candidatos a melhor gene normalizador segundo o programa NormFinder aos 42 dias de idade das aves..... 55

## LISTA DE TABELAS

Página

### **CAPÍTULO 2 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇA EM FRANGOS DE CORTE**

Tabela 1. Composição das rações experimentais fornecida às aves na fase inicial (1 a 21 dias de idade) e fase final de criação (22 a 42 dias de idade)..... 25

Tabela 2. Médias e desvio padrão da Temperatura Ambiente (T°C) e Umidade Relativa (UR%) registrados nas câmaras climatizadas, Quente (32°C) e Termoneutra (TN), durante os diferentes períodos de criação..... 26

Tabela 3. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para consumo de ração (CR, g), ganho de peso (GP, g) e conversão alimentar (CA, g/g) de frangos de corte nos períodos de 7 a 21 e 7 a 42 dias de idade..... 28

Tabela 4. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para rendimento (%) de carcaça, peito, coxas+sobrecoxas (C+S), asas e gordura abdominal (Gord.abd.) de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade..... 33

Tabela 5. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral do peito, das coxas+sobrecoxas (C+S) e das asas de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade..... 36

### **CAPÍTULO 3 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O PADRÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO (GHR), DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA I (IGF-I) E DE SEU RECEPTOR (IGF-IR) NO FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE**

Tabela 1. Seqüências dos oligonucleotídeos utilizados na reação de qRT-PCR com os respectivos números de acesso no “Genbank” e temperatura de anelamento (TA°C)..... 51

Tabela 2. Variabilidade de expressão entre os candidatos a gene normalizador e a da melhor combinação de dois genes gerada pelo programa NormFinder aos 21 dias de idade das aves..... 54

Tabela 3. Variabilidade de expressão entre os candidatos a gene normalizador e a da melhor combinação de dois genes gerada pelo programa NormFinder aos 42 dias de idade das aves.....	54
Tabela 4. Expressão relativa ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) dos genes GHR e IGF-I no tecido hepático de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.....	56

**EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR  
SOBRE O DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇA E PADRÕES DE  
EXPRESSÃO DE GENES DO EIXO SOMATOTRÓFICO EM FRANGOS DE CORTE**

**RESUMO** – O estresse por calor é considerado um dos fatores de maior impacto na criação de frangos de corte, já que exerce grande influência no desempenho e na qualidade da carcaça, bem como no perfil de expressão de genes relacionados ao crescimento e desenvolvimento animal. Assim, o presente trabalho objetivou verificar o efeito da temperatura e da restrição alimentar no desempenho, composição de carcaça e nos padrões de expressão de genes envolvidos na regulação do crescimento e desenvolvimento (GHR, IGF-I e IGF-IR), aos 21 e 42 dias de idade dos frangos de corte pela técnica de PCR quantitativo em tempo real. Os resultados evidenciaram que a restrição alimentar imposta pela exposição ao calor reduziu o desempenho e rendimento de peito e aumentou o rendimento de coxas+sobrecoxas. O estresse por calor e o consumo de ração alteraram o rendimento de asas, mas não influenciaram o rendimento de carcaça e de gordura abdominal. O calor aumentou o teor de extrato etéreo no peito e nas asas e diminuiu o de matéria mineral nas coxas+sobrecoxas. Independente da temperatura de criação, a restrição alimentar exerce um efeito negativo na expressão do gene do GHR no fígado das aves jovens, sem maiores reflexos na expressão do gene do IGF-I. O estresse térmico afeta a expressão dos genes hepáticos GHR e IGF-I somente nas aves adultas, as quais apresentam perfil inverso ao das aves restritas pelo “pair-feeding”. A reação de amplificação do gene IGF-IR apresentou formação de produtos de amplificação inespecíficos, assim como formação de estruturas secundárias das moléculas dos iniciadores (dímeros e “hairpins”), o que impossibilitou a análise dos resultados.

**Palavras-chave:** composição de carcaça, desempenho, estresse por calor, expressão gênica, frangos de corte, restrição alimentar

**EFFECT OF TEMPERATURE AND FOOD RESTRICTION  
ON THE PERFORMANCE, CARCASS COMPOSITION AND GENES EXPRESSION  
PATTERNS OF THE SOMATOTROPHIC AXIS IN BROILER CHICKENS**

**SUMMARY** – Heat stress is considered one of greatest impact factors on broiler chicken production, once that it has great influence on the performance and carcass quality, as well as on the expression profile of genes related to growth and animal development. Thus, the present work had the objective of verifying the effect of temperature and food restriction on the performance, carcass composition and expression pattern of genes involved in the growth regulation and development (GHR, IGF-I and IGF-IR), at 21 and 42 days of age of the broilers using the PCR quantitative real-time technique. The results showed that the food restriction imposed by heat exposure, affected negatively the performance and breast yield and, positively, the thigh and drumstick yield. The heat stress and feed intake altered the yield of wings, but did not affect carcass yield and abdominal fat. The heat increased both ether extract content in the breast and wings and reduced the mineral matter content in the thighs and drumsticks. Independent of temperature, in the young bird's livers, food restriction endorses a negative effect on the GHR gene expression, without greatest reflects on IGF-I expression. Only on adult bird's, thermal stress affects the expression of GHR and IGF-I hepatic genes, that exhibit an inverse profile of restricted pair-feeding birds. The amplification reaction of IGF-IR gene showed both formation of nonspecific amplification products, as well as secondary structures of the primers of the molecules (dimerous and hairpins), precluding the analysis of results.

**Keywords:** carcass composition, performance, heat stress, gene expression, broiler chickens, feed restriction

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **INTRODUÇÃO**

A avicultura brasileira tem sido nas últimas décadas uma das atividades agropecuárias de maior desenvolvimento, posicionando o país como o terceiro produtor e primeiro exportador mundial de carnes de frango. Esse excepcional desenvolvimento foi possível devido aos progressos ocorridos nas áreas de genética, nutrição, manejo, ambiência e sanidade. Mesmo diante desta conquista, a criação de frangos de corte ainda apresenta desafios, tais como, estresse térmico, doenças metabólicas e desordens esqueléticas. Nos países tropicais como o Brasil, os maiores desafios são freqüentemente relacionados a fatores ambientais, sendo a alta temperatura ambiente, um dos fatores de maior impacto no desempenho e no bem-estar de frangos de corte. Em adição, a intensa seleção de linhagens de frangos de corte comerciais com uma maior eficiência nutricional e rápido desenvolvimento tem sido acompanhada por mudanças significativas nos fatores regulatórios envolvidos nos mecanismos de controle do crescimento, desenvolvimento e do balanço energético dessas aves. Dentre os fatores, ressalta-se a importância do hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), os quais interagem com seus respectivos receptores, GHR e IGF-IR, estimulando ou suprimindo eventos celulares que resultam no crescimento animal. Um melhor conhecimento dos genes associados ao controle destes mecanismos e o entendimento de como a expressão dos mesmos é regulada pelo estado nutricional, estímulo hormonal e fator ambiental (temperatura), poderá colaborar eficientemente para melhores práticas de criação e de manejo destas aves.

Em virtude da grande divergência de resultados na literatura, o trabalho objetivou estudar os efeitos da temperatura e da restrição alimentar no desempenho, composição de carcaça e nos padrões de expressão de genes pertencentes ao eixo somatotrófico (GHR, IGF-I e IGF-IR), identificados como importantes na regulação do crescimento e desenvolvimento das aves.

## REVISÃO DE LITERATURA

### **Panorama da avicultura brasileira**

A avicultura de corte tem sido nas últimas décadas um dos setores de maior desenvolvimento na produção animal, destacando-se dos demais não só pelos resultados alcançados em produtividade e volume de abate, como também no desempenho econômico, contribuindo de maneira significativa tanto para o progresso do setor brasileiro de carnes como para a economia do país. Esse excepcional desempenho da avicultura no agronegócio brasileiro tem contribuído de maneira substancial na produção de frangos de corte com uma maior eficiência nutricional e rápido desenvolvimento (ganho de peso) (FURLAN & MACARI, 2002).

O progresso da cadeia produtiva de frangos de corte iniciou-se no final da década de 50 nos estados do sudeste, com destaque para o Estado de São Paulo, deslocando-se nos anos 70 para a região sul do Brasil (ÁVILA et al., 1992; LANA, 2000). A dinamicidade deste setor é destaque dentro do complexo produtivo de carnes brasileiras, tendo o Brasil adotado uma postura altamente competitiva de produção frente a uma demanda interna e externa cada vez mais crescente e exigente. Exportar tem sido uma prioridade para o país, que em janeiro de 2008, segundo dados da União Brasileira de Avicultura (UBA), exportou 274,897 toneladas de carne de frango, apresentando um aumento percentual de 31,40 % sobre o mesmo período do ano anterior. Esta exportação atingiu um total de US\$ 474,442 dólares frente a US\$ 265,426 dólares em janeiro de 2007. Em âmbito nacional, tem-se constatado uma mudança significativa no hábito do consumo de carnes do brasileiro, o qual tem passado de consumidor preponderante de carne bovina a consumidor de carne de frango. Dados da UBA mostram que de um total de 873,666 toneladas de carne de frango produzidas em janeiro de 2008, 598,769 toneladas se destinaram ao mercado consumidor interno, representando um consumo per capita de 39,050 kg, considerando a população brasileira de 184 milhões de habitantes. Esse excepcional progresso da indústria avícola na produção de frangos de corte precoce e com grande eficiência nutricional aliado a qualidade, imagem de produto saudável e preços acessíveis, auxiliaram o

Brasil na conquista da posição de grande produtor e exportador de carne de frango. Sem dúvida, esse expressivo desenvolvimento da avicultura foi possível devido aos progressos ocorridos nas áreas da nutrição, manejo, ambiência, sanidade, mas principalmente pelos progressos obtidos pelo melhoramento genético. No entanto, mesmo diante de todas estas conquistas, a criação de frangos de corte ainda apresenta desafios, tais como, estresse térmico, doenças metabólicas e desordens esqueléticas e, é com o foco nesta direção que prosseguiremos nossa discussão.

### **O calor na produção de frangos de corte**

A intensa seleção de linhagens de frangos de corte com rápida velocidade de crescimento desencadeou uma série de problemas relacionados ao bem-estar animal, à saúde do consumidor e à economia do setor. Associadas às melhorias obtidas com o melhoramento genético, surgiram características correlacionadas indesejáveis, como o aumento de síndromes metabólicas (ascite e morte súbita), desarranjos esqueléticos que levam a problemas de pernas (LEESON & SUMMERS, 1988), mortes devidas ao estresse calórico (ZULKIFLI et al., 1994), deposição de gordura na carcaça, carne de baixa qualidade, redução da fertilidade, entre outras (BURT, 2002). Nos países tropicais como o Brasil, os maiores desafios a serem enfrentados pela avicultura estão relacionados a fatores ambientais, sendo a alta temperatura ambiente um dos fatores de maior impacto no desempenho de frangos de corte. As características zootécnicas destes animais como o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar, são fortemente influenciados pela temperatura ambiental, visto que, por serem animais homeotérmicos, necessitam manter a temperatura corporal dentro de uma faixa térmica estreita, na qual a sua produtividade é máxima (FURLAN & MACARI, 2002). Esta faixa estreita de temperatura, denominada zona termoneutra ou zona de conforto térmico é definida como a temperatura ambiente onde a fração de energia metabolizável utilizada para a termogênese é mínima e a energia líquida de produção é máxima (SAKOMURA et al., 2005). Em geral, a zona de conforto térmico para frangos declina de 32°C, logo após a eclosão (primeiro dia de vida), para em torno de 24°C, na terceira e quarta semana de idade, e para 21°C após essa idade (Guia de Manejo da Cobb® 2008). Aves

submetidas à temperaturas ambientais fora da zona de termoneutralidade respondem com comportamentos alimentares e atitudes físicas características. Assim, em temperaturas ambientais acima da zona da termoneutralidade, os frangos de corte reduzem o consumo de ração (AIN BAZIZ et al., 1996; GERAERT et al., 1996), numa tentativa de reduzir a produção de calor endógeno ocasionada pelo consumo de energia presente nos alimentos e, conseqüentemente, manter a temperatura corporal dentro dos limites fisiológicos (KOH & MACLEOD, 1999). Por outro lado, em temperaturas ambientais abaixo da zona termoneutra, os frangos de corte aumentam o consumo de ração com a finalidade de aumentar a produção de calor para manutenção da temperatura corporal estável (FURLAN & MACARI, 2002).

As variáveis ambientais podem tanto ter efeitos positivos como negativos sobre o desempenho e bem-estar dos frangos de corte. Neste sentido, a produtividade dos frangos é afetada de maneira negativa pelas altas temperaturas, já que a diminuição do consumo de ração culmina numa redução de ganho de peso corporal e do bem-estar das aves. Já temperaturas muito baixas podem aumentar o ganho de peso, mas às custas de uma alta conversão alimentar, além do fato de poderem induzir doenças metabólicas como a síndrome da hipertensão pulmonar (ascite) (FURLAN & MACARI, 2002). AIN BAZIZ et al. (1996), estudando a interferência da temperatura ambiental no consumo de ração por frangos de corte com 22 a 42 dias de idade, verificaram que a redução no consumo pode chegar até 36% para frangos criados em 32°C em comparação aos criados a 22°C. Todavia, a redução que o estresse por calor promove sobre os índices produtivos é maior que a redução do consumo de ração (AIN BAZIZ et al., 1996; GERAERT et al., 1996). Trabalhando com frangos de corte machos distribuídos em esquema de alimentação equivalente ou "pair feeding", FARIA FILHO (2006a) observou que aves expostas a 32°C, dos 21 aos 42 dias de idade, reduzem o ganho de peso em cerca de 28% quando comparadas às criadas em ambiente termoneutro. Particionando este efeito total da exposição ao calor, o autor concluiu que aproximadamente 60% do pior ganho de peso ocorreu por conseqüência direta da redução no consumo de ração. Em trabalho semelhante, para verificar que uma parte da redução na produtividade estava associada aos efeitos diretos da temperatura, AIN

BAZIZ et al. (1996) estabeleceram, no experimento com frangos de corte de 28 a 49 dias de idade, que 53% da redução no ganho de peso foi atribuído ao baixo consumo de ração e que os 47% restantes aos efeitos diretos da temperatura.

Embora seja evidente a maior participação da restrição alimentar na redução do ganho de peso em frangos estressados pelo calor, o efeito direto da temperatura ambiente sobre a fisiologia da ave também afeta de maneira significativa suas variáveis produtivas. Nesse sentido, alguns autores demonstraram que frangos criados em ambiente quente passam a depositar quantidade excessiva de gordura abdominal e na carcaça como resultado da associação entre baixo metabolismo basal e menor atividade física (AIN BAZIZ et al., 1996; CHENG et al., 1997a, b; OLIVEIRA NETO et al., 2000). A temperatura de criação também promove alterações na composição bromatológica da carcaça e dos cortes comerciais (peito, coxas+sobrecoxas e asas). Segundo FARIA FILHO et al.(2006b), os frangos de corte expostos ao calor durante o período de 42 a 49 dias de idade apresentaram maior deposição de gordura e menor de proteína nas coxas+sobrecoxas, sem efeitos no peito e nas asas. Piora na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, amido e extrato etéreo dietéticos por efeito direto da exposição ao calor foram descritos por BONNET et al. (1997). Mudanças no ambiente de criação que diminuem as condições de estresse podem melhorar o conforto do animal, seu bem-estar e, conseqüentemente, a produção (JONES et al., 2005). Nesse sentido, estudos na área de genética têm sido realizados visando o desenvolvimento de aves com melhor adaptabilidade aos ambientes de criação e à melhora dos índices zootécnicos (SILVA et al., 2001).

Sumarizando o que vimos até este ponto, podemos dizer que a temperatura ambiente pode ser considerada um dos fatores de maior impacto no desempenho de frangos de corte, já que exerce grande influência no consumo de ração e, conseqüentemente, afeta diretamente o ganho de peso e a conversão alimentar. Em adição, significativas mudanças tem sido acompanhadas nos diversos fatores regulatórios envolvidos no controle do crescimento, desenvolvimento e do balanço energético de frangos de corte. Dentre os fatores, ressalta-se a importância dos hormônios GH e IGF-I, os quais interagem com seus respectivos receptores,

estimulando ou suprimindo eventos celulares, dentre eles, proliferação e diferenciação celular, crescimento ósseo, síntese de proteínas e metabolismo de gorduras, que resultam no crescimento animal. Nesse sentido, nossa discussão prosseguirá evidenciando as ações de hormônios pertencentes ao eixo somatotrófico (GHR, IGF-I e IGF-IR), identificados como importantes na regulação do crescimento e desenvolvimento das aves.

### **Hormônios envolvidos nos processos de crescimento e desenvolvimento animal**

A intensa seleção de linhagens de frangos de corte comerciais com características econômicas importantes como rápido crescimento e maior ganho de massa muscular tem sido acompanhada por mudanças significativas no metabolismo, na bioquímica e na fisiologia desses animais. O acesso irrestrito ao alimento, por exemplo, conduz os frangos de corte a quadros de hiperfagia, levando-os a um excessivo acúmulo de gordura, com conseqüente obesidade e problemas metabólicos (RICHARDS, 2003).

O crescimento animal é um processo complexo, dinâmico, controlado por uma seqüência de mecanismos hormonais múltiplos e complementares que são conduzidos por mensageiros químicos e envolvem diversas áreas do conhecimento, como a bioquímica, fisiologia, genética e endocrinologia. Nos animais, o crescimento e o desenvolvimento estão sob o domínio de complicados mecanismos altamente vinculados ao potencial genético dos indivíduos. Os constantes avanços da biologia molecular e áreas afins possibilitaram observar que todo e qualquer processo de crescimento está fundamentado na expressão de genes e que a expressão dos mesmos pode estar na dependência do estágio de desenvolvimento animal, das condições fisiológicas e ambientais que, no caso dos animais domésticos, incluem aspectos nutricionais, manejo, sanidade, temperatura, entre outros. Os hormônios, neuropeptídeos, receptores, enzimas, fatores de transcrição e proteínas de ligação/transporte, constituem as bases moleculares dos sistemas regulatórios altamente integrados ao crescimento e metabolismo das aves. Dentre estas bases

regulatórias, estão os hormônios pertencentes ao eixo somatotrófico, como o hormônio do crescimento (GH), o receptor do hormônio do crescimento (GHR), o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) e seu receptor (IGF-IR).

O hormônio do crescimento (GH), direta ou indiretamente, através do IGF-I, estimula os processos promotores do crescimento como a divisão celular, crescimento do esqueleto e a síntese de proteínas. Além disso, exerce efeitos metabólicos importantes como elevação da taxa de oxidação de gorduras e inibição do transporte de glicose para os tecidos periféricos.

Nas aves, assim como ocorre em mamíferos, a liberação do GH é dependente de uma série de estímulos fisiológicos, que envolve entre outros, a atividade regulatória hipotalâmica do hormônio liberador de GH (GHRH), do hormônio liberador de tireotrofinas (TRH) e das somatostatinas (SS) (BOSSIS & PORTER, 2001), bem como das concentrações plasmáticas de IGF-I e II, insulina, glucagon, hormônios estrogênicos, grelina, entre outros (Figura 1). O GH sintetizado e armazenado nos somatotrófos, na glândula pituitária anterior, regula inúmeras funções celulares pela sua ligação aos seus receptores e pela ativação de uma cascata de sinalização intracelular. Para que possa exercer os seus efeitos biológicos, o GH provoca a dimerização do seu receptor (GHR). Para tanto, a molécula de GH possui dois sítios de ligação em sua estrutura, sendo que cada um deles se liga a duas moléculas adjacentes de GHR (CARTER-SU et al., 1996). Na fase inicial deste processo, o primeiro sítio de ligação do GH se une a uma molécula de GHR formando um complexo inativo, isto é, incapaz de promover a dimerização do receptor. Em seguida, o segundo sítio de ligação do GH se liga a uma segunda molécula de GHR, formando assim o complexo ativo, que provoca a dimerização do GHR e inicia uma cascata de eventos intracelulares envolvendo as proteínas das famílias JAK e STAT (GENT et al., 2003). No entanto, a regulação da ligação do GH ao seu receptor (GHR) é muito complexa, haja vista os inúmeros relatos, ora de regulação positiva, ora negativa, tanto da sua atividade de ligação quanto da expressão do gene do GHR (MAO et al., 1997). Além disso, a regulação ocorre de acordo com a fase de desenvolvimento do animal, apresentando padrões diferenciados

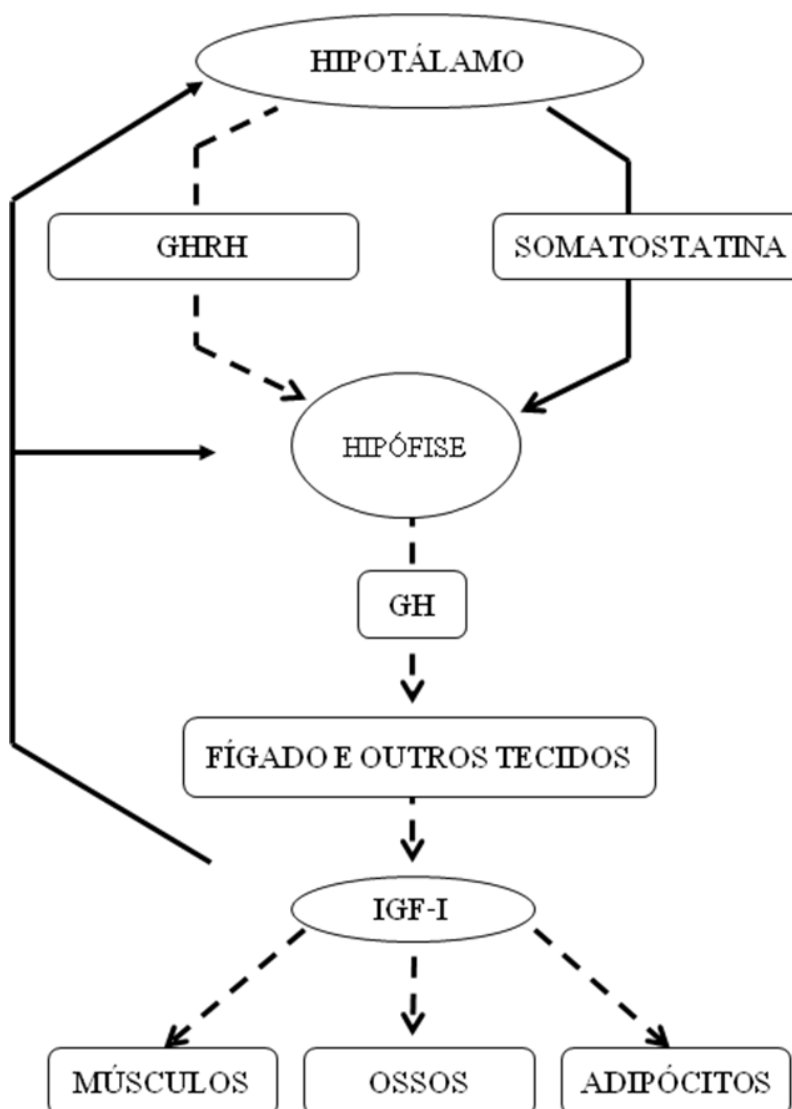


Figura 1. Esquema representativo do eixo somatotrófico. Setas contínuas representam ações inibidoras e setas pontilhadas ações estimuladoras dos hormônios representados. O hormônio liberador do GH (GHRH) é o mais importante fator estimulatório na secreção do hormônio do crescimento (GH). Os efeitos biológicos do GH são em grande parte mediados pela produção do IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina I) no fígado e em tecidos periféricos.

nos diferentes tecidos ou em diferentes estados fisiológicos. Dessa forma, observou-se que, no feto de ovelhas (GLUCKMAN et al.1983), bovinos (BREIER et al., 1988), ratos (MATHEWS et al., 1989) e suínos (BREIER et al., 1989), a afinidade do GH pelo seu receptor está ausente, enquanto que, nos neonatos ela é baixa e nos adultos aumenta

rapidamente no início da puberdade (GLUCKMAN et al., 1983; MAES et al., 1983). Com relação à expressão, MAO et al.(1998) observaram perfis diferenciais na expressão de RNA mensageiro (RNAm) do GHR hepático e do GH durante o crescimento e desenvolvimento do frangos. Nesse sentido, LU et al.(2008) relataram um perfil inverso na expressão dos genes GH e GHR hepático, dos 28 aos 42 dias de idade, entre duas linhagens de frangos de corte. Os níveis de RNAm do GH apresentaram um pico aos 28 dias de idade e decresceram até os 42 dias, enquanto que, os níveis do GHR continuaram a crescer no período mencionado. Segundo os autores, o perfil inverso na expressão desses genes sinaliza os mecanismos celulares que regulam o crescimento em frangos de corte. Por outro lado, alterações na expressão do GHR relacionadas à idade também ocorrem, em parte, independente da ação do GH sobre seu receptor. Nesse sentido, MAO et al. (1997) observaram um aumento nos níveis de RNAm do GHR tanto de aves normais quanto em aves anãs (“dwarf chickens”), cujo GHR é não funcional. Segundo os mesmos autores, embora as aves normais e anãs tenham apresentado o mesmo perfil de expressão do GHR, a magnitude de aumento observada nos níveis de RNAm do GHR nas aves normais é muito menor, o que indica que o GH direta ou indiretamente regula os níveis de GHR.

Em relação ao efeito da restrição alimentar sobre os níveis de RNAm do GHR, os resultados também são conflitantes. DAUNCEY et al.(1994) relataram uma redução na expressão do GHR no fígado de suínos, enquanto que, um aumento tanto nos níveis de RNAm do GHR quanto na atividade de ligação do GH foram observados por COMBES et al. (1997). Analisando o efeito de diferentes níveis de restrição alimentar (quantitativa e qualitativa) no perfil de expressão de RNAm de GHR hepático em frangos de corte, GIACHETTO (2002) observou que a expressão foi reduzida pela restrição protéica, e aumentada no início da puberdade com uma dieta balanceada. Segundo a autora, a expressão tanto do GH quanto do GHR é modulada, pelo menos em parte, pela quantidade e principalmente pela qualidade da dieta fornecida.

Apesar da presença do GH na circulação ser essencial para uma taxa de crescimento normal das aves, muitos dos seus efeitos biológicos sobre o crescimento

são em grande parte mediados pela produção do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) no fígado e em tecidos periféricos.

O IGF-I pertence a uma grande família de hormônios e moléculas relacionadas estruturalmente à insulina, com propriedades multifuncionais metabólicas e anabólicas. São membros dessa família os IGF-I e II, a insulina, seis proteínas de ligação (IGFBPs) e os receptores de superfície que medeiam suas ações. Embora, em estrutura seja semelhante à insulina, a síntese desse fator ocorre predominantemente no fígado, em resposta à ligação do GH aos seus receptores hepáticos (D'ERCOLE et al., 1984; VASILATOS -YOUNKEN et al., 1999).

No sangue periférico, os IGFs se associam a proteínas de ligação (IGFBPs), sendo que até o presente momento seis diferentes IGFBPs estão bem caracterizadas. A principal delas é a IGFBP-3, cuja produção, assim como aquela do IGF-I, também é estimulada pelo GH (HWA et al., 1999). As IGFBPs estão relacionadas com o prolongamento da meia vida do IGF-I sanguíneo e com o seu transporte para os tecidos alvo (JONES & CLEMMONS, 1995). Além dessas funções, a maioria dos tecidos alvo também expressa as IGFBPs, onde estas regulam a ação local dos IGFs, aumentando ou inibindo a ativação dos receptores pelos fatores de crescimento.

Para HUYBRECHTS et al. (1992) e TEXIER-BOICHARD et al. (1992), o IGF-I está envolvido no metabolismo energético em aves, diminuindo a glicose plasmática e aumentando a concentração de ácidos graxos livres, sem produzir mudanças na concentração plasmática de triglicerídeos e agindo diretamente sobre a diminuição da gordura abdominal. Além disso, o IGF-I atua sobre outros hormônios envolvidos no crescimento, provocando diminuição na concentração plasmática de GH, T3 e T4, e aumento na concentração de IGF-II. O efeito hipoglicêmico do IGF-I é similar ao da insulina. McMURTRY et al. (1997) observaram que, proporcionalmente, em aves ocorre maior quantidade de IGF-I e IGF-II na forma livre, do que em mamíferos, e que o IGF-I está diretamente envolvido na regulação seletiva dos componentes metabólicos para estimular o rápido crescimento nas aves, alterando a quantidade de gordura da carcaça e diminuindo a lipólise.

Segundo BREIER & SAUERWEIN (1995), a concentração plasmática de IGF-I é um parâmetro de grande importância no processo produtivo, tendo em vista que a seleção de linhagens de camundongos e ovinos com base na magnitude da concentração plasmática de IGF-I resultou em diferenças marcantes na taxa de crescimento. Em aves, BURNSIDE & COGBURN (1992), observaram uma alta correlação entre expressão hepática de RNAm do IGF-I e seus níveis plasmáticos durante o desenvolvimento pós-eclosão, com um pico de ambos na 4ª semana de idade. LU et al.(2008) encontraram uma relação inversa entre os níveis de expressão do RNAm do IGF-I e de seu receptor no fígado de frangos nas quatro primeiras semanas pós-eclosão, resultados semelhantes aos encontrados por ARMSTRONG & HOGG (1992). Segundo aqueles, a expressão do IGF-I aumentou progressivamente entre a 3ª e 4ª semanas pós-eclosão, enquanto que, o RNAm do seu receptor foi altamente expresso entre a 1ª e 2ª semanas de idade. De acordo com os mesmos, os resultados sugerem uma regulação coordenada da expressão desses genes hepáticos sobre o crescimento em frangos de corte nos 42 dias de idade. Entretanto, RICHARDS et al. (2005) verificaram expressões diferenciais dos genes de IGF-I e de seu receptor no cérebro de perus, mas não no fígado, na 3ª semana pós-eclosão. Esses resultados sugerem que em aves, a expressão do IGF-I e do seu receptor é dependente, entre outros fatores, da genética, do tipo de tecido e da idade do animal.

Outro importante fator regulador tanto dos níveis circulantes do IGF-I quanto da sua expressão hepática e do seu receptor é o estado nutricional dos animais. Vários autores verificaram uma redução nos níveis circulantes do IGF-I em aves e animais submetidos a um período de jejum (MORISHITA et al., 1993, KITA et al., 1998) ou com alimentação restrita (BALLARD et al., 1990, KITA et al., 1996), seguida de um restabelecimento às concentrações normais com a realimentação. Em codornas, SCHEN et al.(1996) encontraram reduzidas concentrações plasmáticas de IGF-I durante a restrição alimentar, e sugeriram que esta diminuição ocorra devido à necessidade, durante períodos de limitação de energia, de uma redução no impulso hormonal a favor do crescimento. O retorno à alimentação, neste caso, promoveu o

restabelecimento das concentrações circulantes de IGF-I, cujos níveis inclusive ultrapassaram as dos animais controle.

A atividade biológica do IGF-I é mediada por uma glicoproteína transmembrana, o IGF-IR (receptor do IGF-I), o qual apresenta uma seqüência considerável de homologia com o receptor da insulina. MATSUMURA et al.(1996) mostraram diferentes níveis de expressão de RNAm do IGF-IR em tecidos distintos de frangos de corte submetidos à restrição alimentar. Em frangos de uma semana de idade, a restrição alimentar de 5 dias causou um aumento na expressão do gene do IGF-IR nos músculos. Em contraste, a expressão do IGF-IR no cérebro e no fígado dos animais analisados não foi afetado pela restrição alimentar. O nível de expressão de RNAm do IGF-IR do músculo retornou ao seu normal quando as aves restritas foram realimentadas. Esses dados sugerem uma resposta tecido específica na expressão do IGF-IR frente ao estado nutricional do animal. Diferindo, em parte, desses resultados, GIACHETTO (2002) não observou efeito da restrição alimentar sobre a expressão do gene do IGF-IR no músculo das aves, entretanto, com a realimentação o padrão de expressão do IGF-IR foi semelhante ao observado por MATSUMURA et al. (1996).

Vários autores confirmam o fato de que a restrição alimentar está associada a mudanças nos níveis circulantes de IGF-I e na expressão de seu receptor. No entanto, os mecanismos pelo qual se dão estas mudanças ainda não foram completamente esclarecidos. A dificuldade no entendimento destes mecanismos talvez resida no fato de que alterações no nível de nutrientes implicam em variação na atividade e no controle da regulação de hormônios e ainda outros fatores que influenciam o comportamento do IGF-I. Envolvidos neste complexo e integrado sistema de regulação estão o hormônio de crescimento, receptores hepáticos do hormônio de crescimento, proteínas carreadoras do IGF-I circulante e os hormônios tireoideanos (WOLF et al., 1989).

## **REFERÊNCIAS**

AIN BAZIZ H., GERAERT P.A., PADILHA J.C.F., GUILLAUMIN S. Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 75, p. 505-513, 1996.

ARMSTRONG, D.C., HOGG, C.O. The expression of a putative insulin like growth factor-I receptor in the liver of development chick. **Journal Molecular Endocrinology**, v. 8, p. 193-201, 1992.

ÁVILA, V.S., JAENISCH, F.R.F., PIENIZ, L.C., LEDUR, M.C., ALBINO, L.F.T., OLIVEIRA, P.A.V. Produção e manejo de frangos de corte. **Documentos Número 28**. Embrapa Suínos e Aves, 1992.

BALLARD, F.J., JOHNSON, R.J., OWENS, P.C., FRANCIS, G., UPTON, F.M., McMURTRY, J.P., WALLACE, J.C. Chicken insulin-like growth factor-I: amino acid sequence, radioimmunoassay, and plasma levels between strains and during growth. **General and Comparative Endocrinology**, v 79, p. 459-468, 1990.

BONNET, S., GERAERT, P.A., LESSIRE, M., CARRE, B., GUILLAUMIN, S. Effect of High Ambient Temperature on Feed Digestibility in Broilers. **Poultry Science**, v. 76, p. 857–863, 1997.

BOSSIS, I., PORTER, T.E. Identification of the somatostatin receptor subtypes involved in regulation of growth hormone secretion in chickens. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 182, p. 203-213, 2001.

BREIER, B.H., GLUCKMAN, P.D., BASS, J.J. Influence of nutritional status and oestradiol-17 $\beta$  on plasma growth hormone, insulin-like growth factors-I and II and the response to exogenous growth hormone in young steers. **Journal of Endocrinology**, v. 118, p. 243-50, 1988.

BREIER, B.H., GLUCKMAN, P.D., BLAIR, H.T. Somatotrophic receptors in hepatic tissue of the developing male pig. **Journal of Endocrinology**, v. 123, p. 25-31, 1989.

BREIER, B.H., SAVERWEIN, H. Regulation of growth in ruminants by the somatotrophic axis. In: Ruminant Physiology: digestion, metabolism, Growth and Reproduction: **Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on Ruminants Physiology**. Germany, 1995.

BURNSIDE & COGBURN. Developmental expression of hepatic growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in the chicken. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 89, p. 91-96, 1992.

BURT, D.W. Applications of biotechnology in poultry industry. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 5-13, 2002.

CARTER-SU, C., SCHWARTZ, J., SMIT, L.S. Molecular mechanism of growth hormone action. **Annual Review of Physiology**, v. 58, p. 187-207, 1996.

CHENG, T.K., HAMRE, M.L., COON, C.N. Effect of environmental temperature, dietary protein, and energy levels on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p. 1-17, 1997a.

CHENG, T.K., HAMRE, M.L., COON, C.N. Responses of broilers to dietary protein levels and amino acid supplementation to low protein diets at various environmental temperatures. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p. 18-33, 1997b.

COBB. Guia de Manejo para Frangos de Corte Cobb 500®. 2008, 72p.

COMBES, S., LOUVEAU, I., BONNEAU, M. Moderate food restriction affects skeletal muscle and liver growth hormone receptors differently in pigs. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 1944-1949, 1997.

DAUNCEY, M.J., BURTON, K.A., WHITE, P., HARRISON, A.P., GILMOUR, R.S., DUCHAMP, C., CATTANEO, D. Nutritional regulation of growth hormone receptor gene expression. **FASEB Journal**, v. 8, p. 81-88, 1994.

D'ERCOLE, A.J., STILES, A.D., UNDERWOOD, L.E. Tissue concentrations of somatomedin C: Further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 1, p. 935-39, 1984.

FARIA FILHO, D.E. **Aspectos produtivos, metabólicos, econômicos e ambientais da nutrição protéica para frangos expostos ao calor**. 73f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006a.

FARIA FILHO, D.E., ROSA, P.S., FIGUEIREDO, D.F., DAHLKE, F., MACARI, M., FURLAN, R.L. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 101-106, 2006b.

FURLAN, R.L., MACARI, M. Termorregulação. IN: MACARI, M., FURLAN, R.L., GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária**: Aplicada a frangos de corte. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 209-230, 2002.

GENT, J., VAN DEN EIJDEN, M., VAN KERKHOF, P., STROUS, G.J. Dimerization and signal transduction of the growth hormone receptor. **Molecular Endocrinology**, v.

17, p. 967-975, 2003.

GERAERT, P.A., PADILHA, J.C.F., GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 195-204, 1996.

GIACHETTO, P.F. **Ganho compensatório em frangos de corte: desempenho, característica de carcaça, níveis plasmáticos de hormônios e expressão do GH, IGF-I e seus receptores**. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

GLUCKMAN, P.D., GUNN, T.R., JOHNSTON, B. The effect of cooling on breathing and shivering in unanaesthetized fetal lambs in utero. **Journal of Physiology**, v. 343, p. 495-506, 1983.

HUYBRECHTS, L.M., DECUYPERE, E., BUYSE, J. Effect of recombinant human insulin-like growth factor-I on weight gain, fat content, and hormonal parameters in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 71, p. 181-87, 1992.

HWA, V., OH, Y., ROSENFELD, R.G. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. **Endocrinology Reviews**, v. 20, p. 761-787, 1999.

JONES, J.L., CLEMMONS, D.R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine Reviews**, v. 16, p. 3-34, 1995.

JONES, T.A., DONNELLY, C.A., DAWKINS, M.S. Environmental and management factors affecting the welfare of chickens on commercial farms in the United Kingdom and Denmark stocked at five densities. **Poultry Science**, v. 84, p. 1155-1165, 2005.

KITA, K., TOMAS, F.M., OWENS, P.C., KNOWLES, S.E., FORBES, B.E., UPTON, Z.,

HUGHES, R., BALLARD, F.J. Influence of nutrition on hepatic IGF-1 mRNA levels and plasma concentrations of IGF-1 and IGF-2 in meat-type chickens. **Journal of Endocrinology**, v. 149, p. 181-190, 1996.

KITA, K., HANGSANET, K., SHIBATA, T., CONLON, M.A., SASAKI, T., SAITO, N., OKUMURA, J. Refeeding increases hepatic insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene expression and plasma IGF-I concentration in fasted chicks. **British Poultry Science**, v. 39, p. 679-682, 1998.

KOH, K., MACLEOD, M.G. Effects of ambient temperature on heat increment of feeding and energy retention in growing broilers maintained at different food intakes. **British Poultry Science**, v. 40, p. 511-516, 1999.

LANA, G.R.Q. **Avicultura**. Ed.Rural. Recife: UFRPE, p. 237, 2000.

LEESON, S., SUMMERS, J.D. Some nutritional implications of leg problems with poultry. **British Veterinary Journal**, v. 144, p. 81-92, 1988.

LU, F.Z., WANG, X.X., PAN, Q.X., HUANG, R.H., LIU, H.L. Expression of genes involved in the somatotropic, thyrotropic, and corticotropic axes during development of Langshan and Arbor Acres chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 2087–2097, 2008.

MAES, M., UNDERWOOD, L.E., KETELSLEGERS, J.M. Plasma somatomedin-C in fasted and refed rats: close relationship with changes in liver somatogenic but not lactogenic binding sites. **Journal of Endocrinology**, v. 97, p. 243-52, 1983.

MAO, J.N.C., COGBURN, L.A., BURNSIDE, J. Growth hormone down-regulates growth hormone receptor mRNA in chickens but developmental increases in growth hormone receptor mRNA occur independently of hormone action. **Molecular and Cellular**

**Endocrinology**, v. 129, p. 135-147, 1997.

MAO, J.N., BURNSIDE, J., POSTEL-VINAY, M.C., PESEK, J.D., CHAMBERS, J.R., COGBURN, L.A. Ontogeny of growth hormone receptor gene expression in tissue of growth-selected strains of broiler chickens. **Journal Endocrinology**, v. 156, p. 67–75, 1998.

MATHEWS, L.S., EMBERG, B., NORSTEDT, G. Regulation of rat growth hormone receptor gene expression. **Journal of Physiology**, v. 264, p. 9905-10, 1989.

MATSUMURA, Y., DOMEKI, M., SUGAHARA, K., KUBO, T., ROBERTS Jr., C.T., LeROITH, D., KATO, H. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I receptor mRNA levels in growing chickens. **Bioscience, Biotechnology and biochemistry**, v. 60, n. 6, p. 976-982, 1996.

McMURTRY, J.P., FRANCIS, G.L., UPTON, Z. Insulin-like growth factors in poultry. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 14, p. 199-229, 1997.

MORISHITA, D., SASAKI, K., WAKITA, M., HOSHINO, S. Effects of fasting on serum insulin-like growth factor-I (IGF-1) levels and IGF-1-binding activity in cockerels. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 139, p. 363-370, 1993.

OLIVEIRA NETO, A.R., OLIVEIRA, R.F.M., DONZELE, J.L., ROSTAGNO, H.S., FERREIRA, R.A., MAXIMIANO, H.C., GASPARINO, E. Efeito da Temperatura ambiente sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 183-190, 2000.

RICHARDS, M.P. Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. **Poultry Science**, v. 82, p. 907-916, 2003.

RICHARDS, M.P., POCH S.M., McMURTRY, J.P. Expression of insulin-like growth factor system genes in liver and brain tissue during embryonic and post-hatch development of the turkey. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 141, p. 76-86, 2005.

SAKOMURA N.K., LONGO F.A., OVIEDO-RANDÓN E., BOA-VIAGEM C., FERRAUDO, A. Modeling energy utilization and growth parameter description for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 84, p. 1363-1369, 2005.

SCHEW, W.A., McNABB, F.M.A., SCANES, C.G. Comparison of the ontogenesis of thyroid hormones, growth hormone, and insulin-like growth factor-1 in *ad libitum* and food-restricted (altricial) European starlings and (precocial) Japanese quail. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 101, p. 304-316, 1996.

SILVA, M.A.N., SILVA, I.J.O., PIEDADE, S.M.S., MARTINS, E., COELHO, A.A.D., SAVINO, V.J.M. Resistência ao estresse calórico em frangos de corte de pescoço pelado. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, p. 27-33, 2001.

TEXIER-BOICHARD, M., HUYBRECHTS, L.M., DECUYPERE, E., KÜHN, E.R., MONVOISIN, J.L., COQUERELLE, G., CHARRIER, J., SIMON, J. Effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) infusion and dietary tri-iodothyronine (T<sub>3</sub>) supplementation on growth, body composition and plasma hormone levels in sex-linked dwarf mutant and normal chickens **Journal of Endocrinology**, v. 133, p. 101-110, 1992.

UBA - União Brasileira de Avicultura, [www.uba.org.br](http://www.uba.org.br), acesso em 21/02/2010.

VASILATOS-YOUNKEN, R., WANG, X.H., ZHOU, Y., DAY, J.R., McMURTRY, J.P., ROSEBROUGH, R.W., DECUYPERE, E., BUYS, N., DARRAS, V., BEARD, J.L.,

TOMAS, F. New insights into the mechanism and actions of growth hormone (GH) in poultry. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, p. 181-190, 1999.

ZULKIFLI, I., DUNNINGTON, E.A., GROSS, W.B., SIEGEL, P.B. Food restriction early or late in life and its effects on adaptability, disease resistance, and immunocompetence of heat-stressed dwarf and non dwarf chickens. **British Journal of Poultry Science**, v. 35, n.2, p. 203-13, 1994.

WOLF, M., INGBAR, S.H., MOSES, A.C. Thyroid hormone and growth hormone interact to regulate insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid and circulating levels in the rat. **Endocrinology**, v. 125, p. 2905-14, 1989.

## **CAPÍTULO 2 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO DE CARÇA EM FRANGOS DE CORTE**

**RESUMO** – O estresse térmico gera consideráveis perdas para a avicultura em decorrência do pior desempenho zootécnico e da qualidade da carcaça dos frangos de corte. Com o objetivo de avaliar os efeitos diretos do estresse térmico e da redução no consumo alimentar gerado pelo calor sobre o desempenho e a composição da carcaça, 441 frangos de corte, criados de 7 a 42 dias de idade, machos, da linhagem comercial Cobb-500<sup>®</sup>, foram distribuídos ao acaso em esquema “pair-feeding” (32°C/*Ad libitum*; TN/*Ad libitum*; TN/Restrito), totalizando 3 tratamentos com 7 repetições de 21 aves cada. Assim, os frangos do tratamento TN/Restrito foram mantidos em temperatura termoneutra (TN) e com fornecimento de ração equivalente ao dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum*. As aves do tratamento TN/*Ad libitum* receberam ração à vontade. Aos 42 dias de idade, o ganho de peso e a conversão alimentar foram influenciados negativamente pelo consumo de ração. O rendimento de carcaça e de gordura abdominal não foram alterados nem pela temperatura de criação nem pelo consumo de ração, enquanto que, o rendimento de asas foi influenciado por ambos. A restrição alimentar imposta pela exposição ao calor reduziu o rendimento de peito e aumentou o de coxas+sobrecoxas dos frangos expostos ao calor. Os frangos em estresse térmico apresentaram maior teor de extrato etéreo no peito e nas asas e menor teor de matéria mineral nas coxas+sobrecoxas. Para as demais composições bromatológicas analisadas sobre os cortes, não houve influência da temperatura nem do consumo de ração. Conclui-se que tanto a temperatura elevada quanto a redução do consumo de ração provocam alterações significativas no desempenho e na composição das carcaças em frangos de corte.

**Palavras-chave:** frangos de corte, estresse por calor, “pair-feeding”, desempenho, rendimentos de carcaça e de cortes comerciais

## Introdução

A avicultura brasileira tem sido nas últimas décadas uma das atividades agropecuárias de maior expressividade tanto em produtividade quanto no excelente desempenho alcançado na economia do país. Esse excepcional desenvolvimento tem como suporte os avanços nas áreas da genética, nutrição, manejo, ambiência e sanidade. Todavia, juntamente com esses progressos a avicultura brasileira enfrenta grandes desafios, sendo a temperatura ambiente um dos fatores de maior impacto no desempenho de frangos de corte. Por serem animais homeotérmicos, as aves necessitam manter a temperatura corporal dentro de uma faixa térmica estreita, onde a energia metabolizável usada para a termogênese é mínima e a energia líquida de produção é máxima (FURLAN & MACARI, 2002). Dessa forma, aves submetidas a temperaturas ambientais fora da zona de termoneutralidade respondem com comportamentos alimentares e atitudes físicas características. Nesse sentido, as altas temperaturas ambientais, característica de países tropicais como o Brasil, exercem grande influência no consumo de ração pelas aves e, com isto, afeta diretamente o ganho de peso e a conversão alimentar destes animais. Inúmeros trabalhos têm demonstrado que frangos de corte submetidos ao estresse térmico respondem com piora em seus índices zootécnicos. Segundo MAY et al. (1998), LANA et al. (2000), ABU-DIEYEH (2006) e FARIA FILHO (2006a), a exposição de frangos de corte ao calor reduz o consumo de ração, e conseqüentemente, o seu crescimento e ganho de peso.

Através da técnica de alimentação equivalente ou “pair-feeding”, utilizada neste experimento, é possível isolar os prejuízos causados pela ação direta do calor no metabolismo das aves do efeito da redução no consumo alimentar gerado pelo calor. Assim, FARIA FILHO (2006a) e SOUZA (2009) mostraram que 40% e 34% do pior ganho de peso das aves expostas ao calor devem-se aos efeitos diretos da temperatura sobre o metabolismo das aves, enquanto que, GERAERT et al. (1996a) e ABU-DIEYEH (2006) encontraram valores de 50 e 46%, respectivamente.

Outro problema relacionado à temperatura ambiental é que o rendimento da carcaça, dos cortes comerciais e a deposição de gordura abdominal em frangos de

corde também podem ser influenciados pela alta temperatura. Os frangos expostos ao calor apresentam maior rendimento de carcaça possivelmente em função do menor desenvolvimento dos órgãos viscerais e empenamento das aves submetidas ao estresse calórico (AIN BAZIZ et al., 1996), proporcionando um aumento na relação peso carcaça/peso corporal (FARIA FILHO, 2003; FARIA FILHO et al., 2006b). Alguns autores demonstraram que frangos criados em ambiente quente passam a depositar quantidade excessiva de gordura abdominal e na carcaça como resultado da associação entre baixo metabolismo basal e menor atividade física (AIN BAZIZ et al., 1996; CHENG et al., 1997a, b; OLIVEIRA NETO et al., 2000). O estresse por calor aumentou o rendimento do corte de coxas+sobrecoxas (OLIVEIRA NETO et al., 2000; ROSA, 2005) e reduziu o rendimento do peito (LEENSTRA & CAHANER, 1992; OLIVEIRA NETO et al., 2000). Já ROSA (2005), não observou a influência da temperatura elevada sobre o rendimento de peito e asas.

A temperatura de criação também influencia a composição bromatológica da carcaça e dos cortes comerciais (peito, coxas+sobrecoxas e asas). Segundo FARIA FILHO et al.(2006b), os frangos de corte expostos ao calor durante o período de 42 a 49 dias de idade apresentaram maior deposição de gordura e menor de proteína nas coxas+sobrecoxas, sem efeitos no peito e nas asas. Resultados semelhantes foram encontrados por GERAERT et al. (1996a), quando analisadas as carcaças de frangos expostos ao calor.

Em virtude dos inúmeros trabalhos científicos utilizarem-se da técnica de alimentação equivalente ou "pair-feeding" entre 21 e 42 dias de idade das aves, fase final de criação, este experimento teve por objetivo avaliar o efeito da temperatura e da restrição alimentar sobre as variáveis produtivas e fisiológicas de frangos criados entre o 7º e 42º dia de idade. Para tanto, suas possíveis relações sobre o desempenho zootécnico, os rendimentos de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal e os teores de proteína bruta, extrato etéreo, matéria seca e mineral dos cortes comerciais foram avaliadas entre 7 e 21 e 7 e 42 dias de idade.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas câmaras climatizadas do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal – SP.

No período pré-experimental, de 1 a 7 dias de idade, os frangos foram criados dentro da zona de termoneutralidade recomendada pelo Guia de Manejo da Cobb® (2008), com temperatura ambiente de  $31,80 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa do ar mantida em  $58,62 \pm 2,66\%$ . Durante esta etapa inicial, as aves receberam água e ração *Ad libitum*. As rações experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com minerais e vitaminas balanceadas. As aves receberam duas rações (Tabela 1), uma na fase inicial (1 a 21 dias de idade) e outra na fase final ou de crescimento (22 a 42 dias de idade).

Completados 7 dias, o peso médio do lote ( $170,42 \text{ g} \pm 5,04$ ) foi determinado e as unidades experimentais de mesmo peso médio foram montadas. Para tanto, foram utilizados 441 frangos de corte, machos, da linhagem comercial Cobb-500®, distribuídos ao acaso em um esquema temperatura/alimentação ( $32^{\circ}\text{C}/Ad \text{ libitum}$ ; TN/*Ad libitum*; TN/Restrito), totalizando 3 tratamentos com 7 repetições de 21 aves cada. O esquema temperatura/alimentação ou “pair-feeding”, proposto por GERAERT et al. (1996a), consiste em fornecer a mesma quantidade de alimento consumido pelas aves expostas ao calor para um grupo de aves em temperatura termoneutra (TN); assim torna-se possível isolar os efeitos causados pelo calor (efeito direto da temperatura e efeito da redução no consumo alimentar). Assim sendo, os frangos do tratamento TN/Restrito receberam a mesma quantidade de ração dos frangos criados em  $32^{\circ}\text{C}/Ad \text{ libitum}$  (quantidade do dia anterior). Para tanto, o consumo de ração das aves criadas em  $32^{\circ}\text{C}/Ad \text{ libitum}$  foi medido diariamente e essa quantidade foi fornecida no dia seguinte para as aves do tratamento TN/Restrito. As aves do esquema TN/*Ad libitum* receberam ração à vontade.

Os frangos foram criados em duas câmaras climatizadas, sendo uma regulada para manter a temperatura em  $32^{\circ}\text{C}$  (tratamento  $32^{\circ}\text{C}/Ad \text{ libitum}$ ) durante todo o período experimental e a outra regulada para manter a temperatura termoneutra

(tratamentos TN/Restrito e TN/*Ad libitum*), conforme as recomendações do Guia de Manejo da Cobb® (2008).

Tabela 1. Composição das rações experimentais (Fases Inicial e Final).

Ingredientes (%)	Fases	
	Inicial (1 a 21 dias)	Final (22 a 42 dias)
Milho	57,96	58,47
Farelo de soja	35,62	32,42
Óleo de soja	2,57	5,47
Fosfato bicálcico	1,82	1,68
Calcário calcítico	0,99	0,95
Sal comum	0,44	0,40
Cloreto de colina 60%	0,10	0,10
DL-metionina	0,15	0,14
L-lisina	0,16	0,18
Suplemento <sup>1</sup>	0,10	0,10
Promotor de crescimento <sup>2</sup>	0,04	0,04
Coccidiostático <sup>3</sup>	0,05	0,05
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Energia e Nutrientes	Composição	
Energia Metabolizável(kcal/kg)	3000	3200
Proteína (%)	21,40	20,00
Cálcio (%)	0,96	0,90
Fósforo disponível (%)	0,45	0,42
Sódio (%)	0,22	0,20
Potássio (%)	0,84	0,77
Cloro (%)	0,37	0,35
Colina (ppm)	1950	1868
Lisina digestível (%)	1,14	1,08
Metionina digestível (%)	0,45	0,42

<sup>1</sup>Suplemento mineral e vitamínico – níveis de garantia por kg do produto (vitamina A – 7000000 UI; vitamina D3 – 3000000 UI; vitamina E – 25000 mg; vitamina K – 980 mg; vitamina B1 – 1780 mg; vitamina B2 – 9600 mg; vitamina B6 - 3465 mg; vitamina B12 10000 mcg;; ac. nicotínico – 34650 mg; pantetonato de cálcio – 9500 mg; biotina – 1600mg; cobre – 10000 mg; iodo – 1300mg; manganês – 76260 mg; selênio – 273,6 mg; zinco – 91250 mg; antioxidante – 100 mg.  
<sup>2</sup> Bacitracina de Zinco 15%. <sup>3</sup> Coxistac 12%®.

As temperaturas e umidade relativa foram registradas de hora em hora durante o todo o período experimental (Tabela 2). O aquecimento das câmaras foi feito através de

postes com lâmpadas infravermelhas de 250 watts e o resfriamento através de refrigeradores. Todo o sistema de aquecimento e refrigeração foi controlado por termostatos e o programa de luz foi contínuo (24 horas de luz artificial) durante todo o período experimental, utilizando lâmpadas fluorescentes de 100 watts.

Tabela 2. Médias e desvio padrão da Temperatura Ambiente (T°C) e Umidade Relativa (UR%) registrados nas câmaras climatizadas, Quente (32°C) e Termoneutra (TN), durante os diferentes períodos de criação.

Períodos	CÂMARAS CLIMATIZADAS			
	Quente (32°C)		Termoneutra (TN)	
	T°C	UR(%)	T°C	UR(%)
8-14 dias	32,35 ± 0,39	64,48 ± 3,69	29,19 ± 0,70	73,05 ± 4,77
15-21 dias	32,23 ± 0,77	63,92 ± 4,66	27,06 ± 0,77	73,05 ± 4,37
22-28 dias	32,43 ± 0,16	57,08 ± 1,90	25,01 ± 0,34	65,17 ± 1,33
29-35 dias	32,30 ± 0,31	61,24 ± 0,91	22,91 ± 0,49	70,21 ± 1,92
36-42 dias	31,92 ± 0,57	62,71 ± 1,55	23,94 ± 0,89	71,91 ± 2,00

Para avaliar as características de desempenho, toda a ração fornecida, as sobras de ração e as aves foram pesadas no 7º, 14º, 21º, 28º, 35º e 42º dia de idade. As características avaliadas foram o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA=CR/GP), para os períodos de 7 a 21 dias e de 7 a 42 dias. Diariamente, registrou-se o número de aves mortas para efeito de ajuste no consumo de ração.

Aos 21 e 42 dias de idade procedeu-se a retirada de um frango por unidade experimental, o qual apresentava peso médio próximo (10% acima ou abaixo) ao do seu grupo experimental. Após jejum de alimento de 6 horas, os frangos foram insensibilizados por concussão cerebral e abatidos por sangria mediante corte da veia jugular, sendo posteriormente escaldados, depenados e eviscerados. Em seguida, as carcaças (incluindo cabeça, pescoço e pés) foram pesadas e os cortes comerciais foram feitos por uma única pessoa treinada. Foram avaliados o rendimento de carcaça, peito, coxas+sobrecoxas, asas e a porcentagem de gordura abdominal. O rendimento

de carcaça foi expresso em relação ao peso vivo em jejum, obtido antes do abate. Os demais rendimentos foram calculados em relação ao peso da carcaça limpa.

Os cortes de peito, coxas+sobrecoxas e asas das aves utilizadas no rendimento de cortes comerciais, após serem descongelados, foram triturados em moedor de carne comercial, pré-secos em estufa de ventilação forçada (55°C por 72h) e moídos em moinho de bola. Em seguida, foram analisados quanto ao teor de matéria seca (105°C por 12h) e mineral (600°C por 4h), extrato etéreo (lavagem sucessiva com éter de petróleo em extrator Soxhlet) e proteína bruta (método de micro-Kjeldahl). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com SILVA & QUEIROZ (2002), com exceção do teor de extrato etéreo, que neste experimento foi determinado pela diferença de peso entre o cartucho final e inicial.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento General Linear Model (GLM) do programa SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 1998) e em caso de diferença estatisticamente significativa as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **Resultados e Discussão**

### **Desempenho**

Os resultados para consumo de ração (CR), ganho de peso corporal (GP) e conversão alimentar (CA), nos períodos de 7 a 21 e 7 a 42 dias de idade das aves, submetidas aos três diferentes tratamentos de temperatura/alimentação estão apresentados na Tabela 3.

No período de 7 a 21 dias, os frangos de corte criados em 32°C/*Ad libitum* apresentaram CR 12% menor em relação aos frangos criados em TN/*Ad libitum*. Estes resultados são similares aos encontrados por YALÇIN et al. (1997) e URBANO (2006), os quais observaram redução de 15% e 14,9%, respectivamente, no CR de aves submetidas a altas temperaturas. De acordo com AIN BAZIZ et al. (1996) essa redução no CR pode alcançar até 36% para aves criadas em 32°C em comparação com aves

criadas em ambiente termoneuro. Segundo NIETO et al. (1997) a ingestão e metabolização dos alimentos produzem um efeito termogênico, o qual eleva a produção de calor pelas aves. Sabe-se que quando a temperatura ambiental é superior a zona de conforto térmico das aves, associada com alta umidade relativa do ar, esses animais apresentam grande dificuldade em dissipar calor e manter a homeotermia. Para KOH & MACLEOD (1999), essa redução no consumo de ração dos frangos de corte expostos ao calor, é uma tentativa de evitar a produção excessiva de calor, a qual se eleva com o aumento do consumo de ração. Como consequência direta da baixa ingestão de alimento, há menor consumo de nutrientes pela ave, que responde reduzindo sua taxa de crescimento e ganho de peso (ABU-DIEYEH, 2006; FARIA FILHO, 2006a).

Tabela 3. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para consumo de ração (CR, g), ganho de peso (GP, g) e conversão alimentar (CA, g/g) de frangos de corte (N= 7) nos períodos de 7 a 21 e 7 a 42 dias de idade.

<b>7-21 dias de idade</b>			
<b>Fatores</b>	<b>CR</b>	<b>GP</b>	<b>CA</b>
<b>T°C/alimentação</b>			
32°C/ <i>Ad libitum</i>	946 ± 20,15 <b>b</b>	690 ± 14,42 <b>b</b>	1,36 ± 0 <b>b</b>
TN/Restrito	887 ± 18,69 <b>c</b>	613 ± 12,64 <b>c</b>	1,45 ± 0,01 <b>a</b>
TN/ <i>Ad libitum</i>	1070 ± 1,26 <b>a</b>	802 ± 8,94 <b>a</b>	1,33 ± 0,02 <b>c</b>
<b>CV (%)</b>	1,83	1,77	0,98
<b>7-42 dias de idade</b>			
<b>Fatores</b>	<b>CR</b>	<b>GP</b>	<b>CA</b>
<b>T°C/alimentação</b>			
32°C/ <i>Ad libitum</i>	3420 ± 157,64 <b>b</b>	1928 ± 145,32 <b>b</b>	1,78 ± 0,06 <b>a</b>
TN/Restrito	3356 ± 137,94 <b>b</b>	1935 ± 101,58 <b>b</b>	1,74 ± 0,03 <b>a</b>
TN/ <i>Ad libitum</i>	4639 ± 59,85 <b>a</b>	2859 ± 31,93 <b>a</b>	1,62 ± 0,01 <b>b</b>
<b>CV (%)</b>	3,3	4,64	2,34

Médias ± desvios padrão seguidos de letras iguais na coluna, dentro de cada fator e período, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

O GP dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* foi 14% menor ao obtido pelos frangos do tratamento TN/*Ad libitum* e 11% maior que o dos frangos criados em TN/Restrito. Trabalhando com frangos de corte distribuídos no esquema de alimentação equivalente (“pair feeding”), AIN BAZIZ et al. (1996) observaram que aves expostas ao

calor, dos 14 aos 42 dias de idade, reduziram o ganho de peso em cerca de 23% quando comparadas às criadas em ambiente termoneutro. Em trabalho semelhante, GERAERT et al (1996a) constataram piores índices no desempenho de frangos criados em ambiente quente, entre os 14 e 49 dias de idade. No entanto, para URBANO (2006) os resultados de desempenho para GP, no período de 1 a 21 dias de idade, de frangos criados em ambiente quente (32°C) não diferiram dos criados em temperatura termoneutra.

Na avaliação do efeito da temperatura de criação sobre o CR e GP, observou-se que as aves do tratamento TN/Restrito, mantidas em temperatura termoneutra e com fornecimento de ração equivalente ao das aves do tratamento 32°C/*Ad libitum*, tiveram um menor consumo e ganharam significativamente menos peso no período de 7 a 21 dias de idade em relação as aves em estresse térmico. Provavelmente, o menor consumo por parte das aves restritas, decorra do fato de que o alimento fornecido para as mesmas é baseado na quantidade ingerida no dia anterior pelas aves do tratamento 32°C/*Ad libitum*. Conseqüentemente, o efeito deletério da restrição alimentar no início da criação resultou em danos permanentes as aves restritas, fazendo com que as mesmas não compensassem a redução no ganho de peso e apresentassem ao final de 21 dias o menor GP em relação às aves em estresse térmico. Ademais, outra explicação para este fato é a decorrência de um efeito cumulativo dos resultados de desempenho da 1ª semana de “pair-feeding” (7 a 14 dias; dados não mostrados) na semana seguinte do experimento. Isso porque, a diferença de temperatura entre as câmaras quente (32,35°C ± 0,39) e termoneutra (29,19°C ± 0,70) nesta primeira semana, não foi suficientemente significativa para promover um maior GP para as aves do tratamento TN/Restrito em relação as do tratamento 32°C/*Ad libitum*. Além disso, a CA do tratamento TN/restrito foi 7% pior que a dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* e TN/*Ad libitum*, sendo que esses últimos tratamentos foram semelhantes entre si. Dessa forma, as diferentes temperaturas não influenciaram os resultados da CA dos frangos de 7 a 14 dias de idade, resultados semelhantes aos encontrados por URBANO (2006) em frangos de 1 a 21 dias de idade submetidos à temperatura termoneutra e quente.

De fato, frangos na fase inicial, necessitam de temperatura ambiente elevada em função da imaturidade do sistema termorregulador, que de acordo com FURLAN & MACARI (2002), atinge sua plenitude entre os 10 e 15 dias pós-eclosão. Sendo assim, os frangos criados em 32°C/*Ad libitum*, possivelmente não tiveram elevados gastos para dissipação de calor durante esse período, como é característicos em situações de elevadas temperaturas para a manutenção da homeostasia corporal. Provavelmente, a maior ingestão de ração dos frangos expostos ao calor não elevou de maneira direta a produção de calor endógeno relacionado ao metabolismo da ingesta e, conseqüentemente, pode ter contribuído para uma CA semelhante ao dos criados em TN/*Ad libitum* e CR e GP maiores aos do TN/Restrito. Deste modo, estes resultados somaram-se aos da 2ª semana de “pair-feeding”, resultando para o período de 7 a 21 dias, em CR e GP 6% e 11%, respectivamente, maiores para os frangos criados em 32°C/*Ad libitum* em relação aos criados em TN/Restrito. A CA deste último grupo foi pior que a dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum*.

No período de 7 a 42 dias, os frangos de corte criados em 32°C/*Ad libitum* apresentaram CR 26% menor em relação aos frangos criados em TN/*Ad libitum* e não diferiram estatisticamente do tratamento TN/Restrito. Resultado semelhante foi encontrado por URBANO (2006), que observou uma redução de 21,3% no CR das aves expostas a 32°C em relação as criadas em ambiente termoneutro. FARIA FILHO (2006a) e SOUZA (2009), trabalhando em sistema “pair-feeding” com frangos de corte de 21 a 42 dias de idade, observaram, respectivamente, um CR 18% e 25,85% menor dos frangos criados a 32°C/*Ad libitum* em comparação aos criados em TN/*Ad libitum* e para AIN BAZIZ et al.(1996) essa redução pode chegar até 36%. Essa diminuição no consumo de ração é normal e ocorre para que seja mantida a temperatura corporal, a fim de evitar aumento na produção de calor proveniente da digestão e metabolismo dos nutrientes (AIN BAZIZ et al., 1996; KOH & MACLEOD, 1999). Todavia, a redução que o estresse por calor promove no consumo de ração não é maior que a redução sobre os índices produtivos (AIN BAZIZ et al., 1996; GERAERT et al.,1996a). Sob aspectos zootécnicos, a taxa de crescimento e de produção são altamente prejudicadas quando

o CR é reduzido, visto que, uma menor quantidade de nutrientes estará disponível para o metabolismo animal (ABU-DIEYEH, 2006).

O GP das aves criadas em 32°C/*Ad libitum* foi 33% menor ao obtido pelas aves criadas em TN/*Ad libitum* e estatisticamente similar ao das aves criadas em TN/Restrito (1% menor). Esses resultados corroboram com os achados de FARIA FILHO (2006a) e SOUZA (2009) que observaram, respectivamente, uma redução de 28% e 34,8% do GP dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* em comparação ao dos frangos criados em TN/*Ad libitum*. ROSA (2005), trabalhando com “pair-feeding” em duas linhagens de frangos de corte com potencial de crescimento diferenciado para ganho de peso (estabilizado e melhorado), observou que as aves do grupo genético estabilizado, mantidas em temperatura termoneutra e com consumo equivalente as aves do tratamento 32°C/*Ad libitum*, ganharam significativamente menos peso. Já para o grupo melhorado, o estresse térmico não interferiu no ganho de peso das aves.

Na tentativa de avaliar o efeito que o calor promoveu sobre o consumo de ração e desempenho dos frangos no período de 7 a 42 dias de idade, os resultados indicaram que 3% da perda total de GP foi devido à ação direta da temperatura e que os 97% restantes foi devido a redução no CR pelo calor. Para FARIA FILHO (2006a) e SOUZA (2009), 40% e 34% da perda total de GP foram devidos à ação direta da temperatura e os 60% e 66% restantes, respectivamente, foram devidos a redução no CR pelo calor. GERAERT et al. (1996a) e ABU-DIEYEH (2006) mostraram, respectivamente, que 50% e 46% da piora no GP deve-se aos efeitos direto da exposição a altas temperaturas. Estes resultados demonstraram que a exposição ao calor causa drástica queda nos índices zootécnicos das aves e que parte das perdas se deve à redução do consumo alimentar e a outra parcela ocorre devido aos efeitos diretos do calor no metabolismo das aves. Para tanto, esses autores também se utilizaram da técnica de alimentação equivalente ou “pair-feeding” entre a 4ª e 6ª semana de vida das aves (21 a 42 dias de idade), diferentemente deste experimento que a utilizou da 2ª a 6ª semana de vida das aves (7 a 42 dias de idades). SOUZA (2009) verificou que o calor causou efeito direto nas aves apenas durante a 6ª semana de vida, concordando com GERAERT et al., (1996a) que observaram efeito direto do calor no GP de aves de 4 a 6 semanas, não

havendo diferença nos frangos de 2 a 4 semanas (7 a 28 dias de idade). No período de 1 a 42 dias de idade, ROSA (2005) não observou diferenças no GP para frangos criados em temperatura termoneutra e consumo de ração em “pair-feeding”, comparados àqueles submetidos a estresse térmico. Deste modo, é razoável supor que as diferentes temperaturas entre as câmaras do tratamento 32°C/*Ad libitum* e TN/Restrito não afetaram significativamente no período 7 a 21 dias de idade das aves a ponto de promover o efeito direto do calor no GP dos frangos. Assim sendo, os melhores resultados de desempenho entre a 2ª e 4ª semana dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* somaram-se ao do período posterior contribuindo para um GP equivalente ao do TN/Restrito aos 42 dias de idade. A CA dos tratamentos 32°C/*Ad libitum* e TN/Restrito não diferiram estatisticamente, evidenciando que a temperatura de criação não influenciou a CA dos frangos de 7 a 42 dias de idade. Esses resultados concretizaram-se pelo fato de que, embora tenha ocorrido redução de consumo por efeito da elevação da temperatura de criação dos frangos, a proporção entre GP e CR manteve-se constante. LANA et al. (2000) e ROSA (2005) constataram que a CA não foi influenciada nem pela temperatura ambiente nem pela restrição alimentar nos frangos de 42 dias de idade. Todavia, FARIA FILHO (2006a) constatou que toda a piora na CA dos frangos entre 21 a 42 dias de idade foi devida aos efeitos direto da temperatura.

#### **Rendimento de carcaça e de cortes comerciais**

As médias observadas e os respectivos desvios-padrão para os rendimentos (%) da carcaça, peito, coxas+sobrecoxas (C+S), asas e de gordura abdominal (Gord.abd.) dos frangos, aos 21 e 42 dias de idade, submetidos a três diferentes tratamentos de temperatura/alimentação estão apresentados na Tabela 4.

Aos 21 dias de idade, os rendimentos de carcaça, peito e gordura abdominal dos diferentes tratamentos foram semelhantes estatisticamente, ou seja, nem a temperatura de criação nem o consumo diferenciado de ração causaram alterações nestes rendimentos. URBANO (2006) constatou a influência da temperatura ambiente para rendimento de peito, gordura abdominal e asas em frangos de corte criados no período

Tabela 4. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para rendimento (%) de carcaça, peito, coxas+sobrecoxas (C+S), asas e gordura abdominal (Gord.abd.) de frangos de corte (N= 7) aos 21 e 42 dias de idade.

21 dias de idade					
Fatores	Carcaça	Peito	C+S	Asas	Gord. Abd.
<b>T°C/alimentação</b>					
32°C/ <i>Ad libitum</i>	0,80 ± 0 a	0,27 ± 0,01 a	0,27 ± 0,01 a	0,10 ± 0,01 ab	0,02 ± 0,01 a
TN/Restrito	0,79 ± 0,02 a	0,28 ± 0,01 a	0,25 ± 0,01 b	0,11 ± 0 a	0,01 ± 0,01 a
TN/ <i>Ad libitum</i>	0,80 ± 0,02 a	0,29 ± 0,01 a	0,26 ± 0,01 ab	0,10 ± 0,01 b	0,02 ± 0 a
<b>CV (%)</b>	2,27	3,28	3,7	8,29	32,45
42 dias de idade					
Fatores	Carcaça	Peito	C+S	Asas	Gord. Abd.
<b>T°C/alimentação</b>					
32°C/ <i>Ad libitum</i>	0,85 ± 0,02 a	0,31 ± 0,03 b	0,34 ± 0,02 a	0,09 ± 0 b	0,02 ± 0,01 a
TN/Restrito	0,83 ± 0,01 ba	0,31 ± 0,01 b	0,34 ± 0,02 a	0,10 ± 0 a	0,02 ± 0 a
TN/ <i>Ad libitum</i>	0,82 ± 0,02 b	0,34 ± 0,02 a	0,24 ± 0 b	0,09 ± 0 b	0,02 ± 0,01 a
<b>CV (%)</b>	2,07	5,69	4,44	4,23	27,22

Médias ± desvios padrão seguidos de letras iguais na coluna, dentro de cada fator e dias de idade, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

de 1 a 21 dias de idade em temperatura quente e termoneutra. O mesmo autor não verificou variação significativa em razão da temperatura ambiente para os rendimentos de coxas+sobrecoxas e carcaça. O rendimento de coxas+sobrecoxas dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* foi estatisticamente similar aos dos frangos criados em TN/*Ad libitum* não diferindo este último do TN/Restrito. Já o rendimento de asas do 32°C/*Ad libitum* foi similar aos do TN/*Ad libitum* e TN/ restrito, sendo que, os rendimentos da câmara termoneutra diferiram estatisticamente entre si.

O rendimento de carcaça, aos 42 dias de idade, foi maior nos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* em relação aos criados em TN/*Ad libitum*, possivelmente em função do menor empenamento e desenvolvimento visceral das aves submetidas ao estresse calórico (AIN BAZIZ et al., 1996), proporcionando um aumento na relação peso carcaça/peso corporal (FARIA FILHO, 2003; FARIA FILHO et al., 2006b). Resultados semelhantes foram encontrados por OLIVEIRA NETO et al. (2000), enquanto que, ROSA (2005) constatou maior rendimento de carcaça para as aves com consumo de ração *Ad libitum*, independente da temperatura de criação (TN ou 32°C). Nesse sentido,

URBANO (2006) também não verificou influência da temperatura de criação no rendimento de carcaça.

Os rendimentos de peito e coxas+sobrecoxas das aves do tratamento 32°C/*Ad libitum* foram, respectivamente, menores e maiores em comparação aos das aves do tratamento TN/*Ad libitum*, não diferindo do tratamento TN/Restrito. Segundo AIN BAZIZ et al. (1996), o peito apresenta metabolismo glicolítico e tem a glicose como o seu substrato energético, enquanto que, os ácidos graxos são os substratos essenciais para o metabolismo oxidativo das coxas+sobrecoxas. Em virtude do metabolismo glicolítico da musculatura peitoral, o aumento da frequência respiratória das aves criadas em altas temperaturas conduz à maior atividade desta musculatura e, como as reservas de glicogênio no organismo são limitadas, o desenvolvimento peitoral é prejudicado. Contudo, o melhor rendimento de coxas+sobrecoxas dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum*, possivelmente ocorreu em virtude das quantidades consideráveis de gordura estocada nestes membros em ambiente quente. Resultados semelhantes foram encontrados em outros trabalhos (TEMIN et al., 1999; FARIA FILHO, 2003; FARIA FILHO, 2006a). O tratamento TN/ restrito apresentou um rendimento de asas maior aos dos tratamentos 32°C/*Ad libitum* e TN/*Ad libitum*, sendo estes semelhantes entre si. ROSA (2005) verificou que tanto a temperatura de criação quanto o consumo diferenciado de ração não influenciaram o rendimento das asas.

Aos 42 dias, não foram observadas diferenças na porcentagem de gordura abdominal entre os tratamentos, indicando que, nem o consumo diferenciado de ração nem a temperatura de criação influenciaram esse parâmetro. Da mesma forma, HOWLIDER & ROSE (1989) e GERAERT et al. (1993) verificaram que a elevação da temperatura não provocou alterações no peso relativo da gordura abdominal. Em contrapartida, outros autores verificaram um aumento na porcentagem de gordura abdominal em frangos criados no calor (OLIVEIRA NETO et al., 2000; AIN BAZIZ et al., 1996).

### **Composição bromatológica dos cortes comerciais**

As médias observadas e os respectivos desvios-padrão para matéria seca, proteína, extrato etéreo e matéria mineral dos cortes comerciais dos frangos de corte, aos 21 e 42 dias de idade, submetidos a três diferentes tratamentos de temperatura/alimentação estão apresentados na Tabela 5.

Aos 21 dias de idade, foram encontradas diferenças estatísticas na matéria mineral do peito, extrato etéreo das C+S e matéria seca das asas, indicando que, nos demais parâmetros tanto a temperatura quanto a restrição alimentar não tiveram efeito. Os frangos criados em 32°C/*Ad libitum* apresentaram menores teores de extrato etéreo e de matéria mineral, nas C+S e no peito, respectivamente, em relação aos criados em TN/*Ad libitum* e TN/Restrito que não diferiram estatisticamente, mostrando que, o resultado observado foi provocado pela temperatura. A matéria seca das asas do tratamento TN/Restrito não diferiu dos tratamentos 32°C/*Ad libitum* e TN/*Ad libitum*, sendo que, entre estes últimos foi encontrada diferença estatística.

Aos 42 dias de idade, os frangos de corte criados em 32°C/*Ad libitum* apresentaram maior teor de extrato etéreo no peito e nas asas em relação aos criados em TN/*Ad libitum* e TN/Restrito que não diferiram entre si, indicando que todo o efeito observado foi provocado pelo efeito da temperatura. Resultados semelhantes foram encontrados por FARIA FILHO (2006a) para o extrato etéreo das coxas+sobrecoxas e das asas de frangos de corte aos 42 dias de idade. Frangos expostos ao calor tendem a depositar mais gordura e menos proteína (CHENG et al., 1997a, b), resultado direto da associação entre baixo metabolismo basal e pouca atividade física (AIN BAZIZ et al., 1996). Reduzir a movimentação durante períodos quentes é uma forma interessante de se diminuir a produção de calor endógeno relacionada ao trabalho muscular, no entanto, diminui também o gasto energético do animal que passa então a depositar mais gordura. Além disto, a exposição ao calor também promove menores níveis plasmáticos de triiodotironina e maiores de corticosterona, ambos os hormônios reguladores do metabolismo energético animal (GERAERT et al., 1996 b).

Tabela 5. Médias observadas e resultados da análise de variância (CV, %) para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral do peito, das coxas+sobrecoxas (C+S) e das asas de frangos de corte (N= 7) aos 21 e 42 dias de idade.

<b>21 dias de idade</b>					
<b>T°C/Alimentação</b>					
<b>Cortes</b>		<b>32°C/Ad libitum</b>	<b>TN/Restrito</b>	<b>TN/Ad libitum</b>	<b>CV(%)</b>
Peito	Matéria Seca	30,34 ± 1,04	30,60 ± 1,25	30,11 ± 1,10	3,73
	Proteína Bruta	72,72 ± 3,07	73,61 ± 2,67	72,11 ± 3,44	4,23
	Extrato Etéreo	24,47 ± 2,66	23,87 ± 2,04	24,06 ± 2,49	9,98
	Matéria Mineral	4,74 ± 1,00 <b>b</b>	6,09 ± 0,58 <b>a</b>	5,93 ± 0,83 <b>a</b>	14,72
C+S	Matéria Seca	31,53 ± 1,08	32,48 ± 1,08	32,37 ± 1,05	3,33
	Proteína Bruta	58,34 ± 4,96	56,55 ± 3,37	54,44 ± 3,68	7,19
	Extrato Etéreo	30,94 ± 2,34 <b>b</b>	34,02 ± 1,68 <b>a</b>	35,11 ± 2,30 <b>a</b>	6,37
	Matéria Mineral	6,55 ± 1,52	6,48 ± 1,19	5,58 ± 0,84	19,58
Asas	Matéria Seca	34,87 ± 0,95 <b>a</b>	34,59 ± 0,80 <b>ab</b>	33,45 ± 0,91 <b>b</b>	2,58
	Proteína Bruta	53,56 ± 1,21	52,56 ± 2,53	52,98 ± 2,04	3,77
	Extrato Etéreo	34,35 ± 2,33	37,09 ± 2,08	35,86 ± 1,96	5,95
	Matéria Mineral	12,38 ± 1,70	11,97 ± 1,92	11,26 ± 1,26	13,88
<b>42 dias de idade</b>					
<b>T°C/Alimentação</b>					
<b>Cortes</b>		<b>32°C/Ad libitum</b>	<b>TN/Restrito</b>	<b>TN/Ad libitum</b>	<b>CV(%)</b>
Peito	Matéria Seca	28,53 ± 1,42	29,00 ± 1,24	28,11 ± 1,32	4,65
	Proteína Bruta	67,74 ± 5,58	68,51 ± 5,61	69,42 ± 3,16	7,18
	Extrato Etéreo	21,27 ± 3,84 <b>a</b>	16,43 ± 1,61 <b>b</b>	17,29 ± 1,69 <b>b</b>	13,76
	Matéria Mineral	4,06 ± 1,29	3,58 ± 0,61	3,27 ± 1,08	28,41
C+S	Matéria Seca	29,45 ± 1,26 <b>b</b>	31,18 ± 1,85 <b>ab</b>	32,53 ± 1,78 <b>a</b>	5,32
	Proteína Bruta	51,28 ± 4,11	48,06 ± 4,33	46,38 ± 2,89	7,87
	Extrato Etéreo	29,72 ± 2,77 <b>b</b>	32,18 ± 2,27 <b>ab</b>	35,29 ± 3,08 <b>a</b>	8,37
	Matéria Mineral	3,74 ± 0,89 <b>b</b>	5,17 ± 0,71 <b>a</b>	4,51 ± 0,62 <b>ab</b>	16,74
Asas	Matéria Seca	34,52 ± 1,32	34,90 ± 0,88	35,59 ± 0,89	2,95
	Proteína Bruta	48,74 ± 2,65	46,77 ± 2,23	47,57 ± 3,58	6,03
	Extrato Etéreo	40,83 ± 2,99 <b>a</b>	36,32 ± 3,30 <b>b</b>	35,14 ± 1,88 <b>b</b>	7,46
	Matéria Mineral	6,07 ± 1,75	6,44 ± 0,44	5,14 ± 1,46	22,8

Médias ± desvios padrão seguidos de letras iguais na linha, dentro de cada fator e dias de idade, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

O extrato etéreo e a matéria seca das C+S dos frangos criados em TN/Restrito não diferiram dos tratamentos 32°C/Ad libitum e TN/Ad libitum, sendo estes últimos

diferentes entre si. Já a matéria mineral das C+S dos tratamentos 32°C/*Ad libitum* e TN/Restrito foram diferentes estatisticamente, sendo os mesmos semelhantes ao tratamento TN/*Ad libitum*.

A proteína bruta do peito, C+S e asas e a matéria seca e mineral dos cortes de peito e asas não apresentaram diferenças, indicando que tanto a temperatura quanto a restrição alimentar não tiveram efeitos nos tratamentos.

## **Conclusões**

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- A restrição alimentar imposta pela exposição ao calor influenciou negativamente o desempenho e rendimento de peito e positivamente o rendimento de coxas+sobrecoxas das aves aos 42 dias de idade;
- O estresse por calor e o consumo de ração alteraram o rendimento de asas, mas não influenciaram o rendimento de carcaça e de gordura abdominal à idade de abate;
- O calor aumentou o teor de extrato etéreo no peito e nas asas e diminuiu o de matéria mineral nas coxas+sobrecoxas dos frangos de corte à idade de abate.

## **REFERÊNCIAS**

ABU-DIEYEH, Z. H. M. Effect of high temperature *per ser* on growth performance of broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, p. 19-21, 2006.

AIN BAZIZ, H., GERAERT, P.A., PADILHA, J.C.F., GUILLAUMIN S. Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 75, p. 505-513, 1996.

CHENG, T.K., HAMRE, M.L., COON, C.N. Effect of environmental temperature, dietary protein, and energy levels on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p. 1-17, 1997a.

CHENG, T.K., HAMRE, M.L., COON, C.N. Responses of broilers to dietary protein levels and amino acid supplementation to low protein diets at various environmental temperatures. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p. 18-33, 1997b.

COBB. Guia de Manejo para Frangos de Corte Cobb 500®. 2008, 72p.

FARIA FILHO, D.E. **Efeito de dietas com baixo teor protéico, formuladas usando o conceito de proteína ideal, para frangos de corte criados em temperaturas fria, termoneutra e quente**. 2003. 85 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

FARIA FILHO, D.E. **Aspectos produtivos, metabólicos, econômicos e ambientais da nutrição protéica para frangos expostos ao calor**. 73f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006a.

FARIA FILHO, D.E., ROSA, P.S., FIGUEIREDO, D.F., DAHLKE, F., MACARI, M., FURLAN, R.L. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 101-106, 2006b.

FURLAN, R.L., MACARI, M. Termorregulação. IN: MACARI, M., FURLAN, R.L., GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 209-230, 2002.

GERAERT, P.A., GUILLAUMIN, S., LECLERCQ, B. Are genetically lean broilers more resistant to hot climate?. **British Poultry Science**, v. 34, p. 643-653, 1993.

GERAERT, P.A., PADILHA, J.C.F., GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 195-204, 1996a.

GERAERT, P.A., PADILHA, J.C.F., GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 205-216, 1996b.

HOWLIDER, M.A.R., ROSE, S.P. Rearing temperature and the meat yield of broilers. **British Poultry Science**, v. 30, p. 61-67, 1989.

KOH, K., MACLEOD, M.G. Effects of ambient temperature on heat increment of feeding and energy retention in growing broilers maintained at different food intakes. **British Poultry Science**, v. 40, p. 511-516, 1999.

LANA, G.R.Q., ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., LANA, A.M.Q. Efeito da temperatura ambiente e da restrição alimentar sobre o desempenho e a composição da carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1117-1123, 2000.

LEENSTRA, F., CAHANER, A. Effects of low, normal and high temperatures on slaughter yield of broilers from lines selected for high weight gain, favorable feed conversion, and high or low fat content. **Poultry Science**, v. 71, p. 1994-2006, 1992.

MAY, J.D., LOTT, B.D., SIMMONS, J.D. The effect of environmental temperature and body weight on growth rate and feed:gain of male broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 499-501, 1998.

NIETO, R., AGUILERA, J.F., FERNÁNDEZ-FÍGARES, I., PIETRO, C. Effect of a low protein diet on the energy metabolism of growing chickens. **Archives of Animal**

**Nutrition**, Berlin, v. 50, p. 105-119, 1997.

OLIVEIRA NETO, A.R., OLIVEIRA, R.F.M., DONZELE, J.L., ROSTAGNO, H.S., FERREIRA, R.A., MAXIMIANO, H.C., GASPARINO, E. Efeito da Temperatura ambiente sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 183-190, 2000.

ROSA, P.S. **Desempenho e concentrações de alguns componentes do metabolismo intermediário de frangos com potencial de crescimento diferenciado submetidos ao estresse por calor**. 2005. 90 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

SAS<sup>®</sup> - Statistical Analysis System: General Linear Model (GLM) SAS Institute, 1998.

SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SOUZA, L.F.A. **Exposição crônica e cíclica ao calor em frangos de corte: desempenho, metabolização dos nutrientes e atividade de enzimas pancreáticas**. 51f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

TEMIM, S., CHAGNEAU, A.M., GUILLAUMIN, S., MICHEL, J., PERESSON, R., GERAERT, P.A., JESSERAUD, S. Effects of chronic heat exposure and protein intake on growth performance, nitrogen retention and muscle development in broiler chickens. **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 39, p. 145-156, 1999.

URBANO, T. **Níveis de inclusão de óleo de soja na ração de frangos de corte em**

**temperaturas termoneutra e quente**. 2006. 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

YALÇIN, S., SETTAR, P., OZKAN, S., CAHANER, A. Comparative evaluation of 3 commercial broiler stocks in hot vs temperate climates. **Poultry Science**, v. 76, p. 921-929, 1997.

### **CAPÍTULO 3 – EFEITO DA TEMPERATURA E DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SOBRE O PADRÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO (GHR), DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA I (IGF-I) E DE SEU RECEPTOR (IGF-IR) NO FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE**

**RESUMO** – O estresse térmico e a restrição alimentar exercem grande influência no perfil de expressão de genes relacionados ao crescimento, desenvolvimento e balanço energético em frangos de corte. Assim, o presente estudo foi realizado com o objetivo de verificar o efeito da temperatura e da restrição alimentar sobre o padrão de expressão hepático do receptor do hormônio do crescimento (GHR), do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) e seu receptor (IGF-IR), aos 21 e 42 dias de idade dos frangos de corte. Para tanto, aos 21 e 42 dias de idade, foram colhidas amostras de tecido hepático de 7 aves por tratamento (total de 21 aves/dia), para quantificação dos níveis de RNAm dos genes do GHR, IGF-I e do seu receptor (IGF-IR) pela técnica de PCR quantitativo em tempo real. Independente da temperatura de criação, a restrição alimentar exerce um efeito negativo na expressão do gene do GHR no fígado das aves jovens, sem maiores reflexos na expressão do gene do IGF-I, sugerindo que uma redução moderada nos níveis do RNAm do GHR não compromete a sinalização do eixo somatotrófico no fígado desses animais. O estresse térmico afeta a expressão dos genes hepáticos GHR e IGF-I somente nas aves adultas, as quais apresentam perfil inverso ao das aves restritas pelo “pair-feeding”, sugerindo que mediante ao estresse calórico a regulação do eixo hepático GH - IGF-I ocorre de maneira distinta da restrição alimentar. A reação de amplificação do gene IGF-IR apresentou formação de produtos de amplificação inespecíficos, assim como formação de estruturas secundárias das moléculas dos iniciadores (dímeros e “hairpins”), o que impossibilitou a análise dos resultados.

**Palavras-chave:** frangos de corte, estresse por calor, “pair-feeding”, RNAm de GHR, RNAm de IGF-I e de seu receptor IGF-IR

## Introdução

O crescimento animal é um processo complexo, dinâmico, controlado por uma variedade de hormônios que afetam diretamente o crescimento e desenvolvimento animal. Dentre os hormônios regulatórios, destacam-se pela sua importância o hormônio do crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), os quais interagem com seus respectivos receptores, GHR e IGF-IR, estimulando ou suprimindo eventos celulares que resultam no crescimento animal.

O GH sintetizado e armazenado nos somatotrófos, na glândula pituitária anterior, regula inúmeras funções celulares pela sua ligação aos seus receptores e pela ativação de uma cascata de sinalização intracelular. No entanto, a regulação da ligação do GH ao seu receptor (GHR) é muito complexa, haja vista os inúmeros relatos, ora de regulação positiva, ora negativa, tanto da sua atividade de ligação quanto da expressão do gene do GHR (MAO et al., 1997). Ademais, a regulação ocorre de acordo com a fase de desenvolvimento do animal, apresentando padrões diferenciados nos diferentes tecidos e/ou estados fisiológicos. Os resultados descritos na literatura, em relação ao efeito da restrição alimentar sobre os níveis de RNAm de GHR em diferentes animais, são conflitantes. DAUNCEY et al. (1994) relataram uma redução na expressão do GHR no fígado de suínos, enquanto que, um aumento tanto nos níveis de RNAm de GHR quanto na atividade de ligação do GH foram observados por COMBES et al. (1997). Analisando o efeito de diferentes níveis de restrição alimentar (quantitativa e qualitativa) no perfil de expressão do RNAm hepático em frangos de corte, GIACHETTO (2002) observou que a expressão foi reduzida pela restrição protéica, aumentando no início da puberdade com uma dieta balanceada. Segundo a autora, a expressão tanto do GH quanto do GHR é modulada, pelo menos em parte, pela quantidade e principalmente pela qualidade da dieta fornecida.

Apesar da presença do GH na circulação ser essencial para uma taxa de crescimento normal das aves, muitas ações do GH sobre o crescimento não são realizadas de maneira direta, mas através de fatores mediadores. Entre estes, o IGF-I se destaca por desempenhar um papel crítico na fisiologia do crescimento e

metabolismo das aves. A literatura mostra que a condição nutricional do animal, atua como fator regulador tanto da expressão hepática do IGF-I (BURNSIDE & COGBURN, 1992), quanto do seu receptor (MATSUMURA et al., 1996). Vários autores relataram que períodos de jejum ou restrição alimentar quantitativa resultaram tanto em uma diminuição na concentração plasmática de IGF-I (MORISHITA, et al., 1993; DEWIL et al., 1999) como em uma menor expressão do seu RNAm em frangos de corte (KITA et al., 1996, 1998; GIACHETTO, 2002).

O IGF-I exerce seus efeitos no crescimento e metabolismo das aves através da sua ligação aos seus receptores (IGF-IRs). Estes apresentam, portanto, importância fundamental nos mecanismos que levam aos processos de crescimento e desenvolvimento nos animais. Em ratos, há relatos de que a expressão do RNAm de IGF-IR é regulada pela fase de desenvolvimento (WERNER et al., 1989) e pela condição nutricional dos animais (LOWE et al., 1989). Em aves, no entanto, os relatos referentes ao efeito do estado nutricional na expressão gênica do IGF-IR são escassos. MATSUMURA et al.(1996) mostraram um aumento de cerca de 3 vezes no nível de expressão do RNAm do IGF-IR no músculo de frangos de corte submetidos à restrição alimentar, enquanto que, GIACHETTO (2002) não observou efeito algum na expressão do gene no músculo das aves restritas.

Um melhor conhecimento dos genes envolvidos no controle do crescimento e desenvolvimento, no balanço energético e na manutenção do peso corporal de frangos de corte e o entendimento de como a expressão dos mesmos é regulada pelo estado nutricional, estímulo hormonal e fator ambiental (temperatura), poderá colaborar eficientemente para melhores práticas de criação e de manejo destas aves.

Frente ao exposto, este trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da temperatura e da restrição alimentar nos padrões de expressão de genes pertencentes ao eixo somatotrófico (GHR, IGF-I e IGF-IR), identificados como importantes na regulação do crescimento e desenvolvimento das aves

## **Material e Métodos**

O experimento foi desenvolvido no Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal. Frangos de corte da linhagem comercial Cobb-500<sup>®</sup> foram criados do 7º ao 42º dia de idade em duas câmaras climatizadas, sendo uma regulada para manter a temperatura em 32°C durante todo o período experimental e a outra regulada para manter a temperatura termoneutra (TN), conforme as recomendações do Guia de Manejo da Cobb<sup>®</sup> (2008).

Aos 7 dias de idade, o peso médio do lote (170,42 g ± 5,04) foi determinado e as unidades experimentais de mesmo peso médio foram montadas. Para tanto, foram utilizados 441 frangos de corte, machos, distribuídos ao acaso em um esquema temperatura/alimentação (32°C/*Ad libitum*; TN/*Ad libitum*; TN/Restrito), totalizando 3 tratamentos com 7 repetições de 21 aves cada. O esquema temperatura/alimentação ou “pair-feeding”, proposto por GERAERT et al.(1996), consiste em fornecer a mesma quantidade de alimento consumido pelas aves expostas ao calor (32°C) para um grupo de aves em temperatura termoneutra (TN); assim torna-se possível isolar os prejuízos causados pela ação direta do calor no metabolismo das aves, do efeito da redução no consumo alimentar gerado pelo calor. Dessa forma, os frangos do tratamento TN/Restrito receberam a mesma quantidade de ração dos frangos criados em 32°C/*Ad libitum* (quantidade do dia anterior). Para tanto, o consumo de ração das aves criadas em 32°C/*Ad libitum* foi medido diariamente e essa quantidade foi fornecida para as aves do tratamento TN/Restrito. As aves do esquema TN/*Ad libitum* receberam ração à vontade.

### **Procedimentos experimentais**

#### **Coleta tecidual e isolamento do RNA total**

No 21º e 42º dia de idade, 7 aves de cada tratamento (total de 21 aves/dia) foram pesadas e sacrificadas por deslocamento cervical e, com a utilização de instrumentos cirúrgicos esterilizados, amostras de tecido do fígado foram coletadas para as análises das expressões dos genes do GHR, IGF-I e do seu receptor (IGF-IR). Imediatamente

após as coletas, as amostras foram embaladas em papel alumínio, identificadas, congeladas em nitrogênio líquido e transferidas para freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior extração de RNA total e quantificação dos padrões de expressão gênica pela técnica de qRT-PCR.

As extrações do RNA total das amostras de fígado foram realizadas utilizando-se o Kit RiboPure<sup>™</sup> da Ambion. Aproximadamente 50mg do tecido foram pulverizados em almofariz contendo nitrogênio líquido. Após maceração, o material foi transferido para um tubo estéril de 1,5 mL contendo 1 mL de TRI Reagent (solução com fenol e tiocianato de guanidina), incubando-o à temperatura ambiente por 5 minutos. Em seguida, adicionou-se 200  $\mu\text{L}$  de clorofórmio e o tubo foi vigorosamente agitado por 15 segundos, sendo posteriormente incubado por 5 minutos à temperatura ambiente. Após este procedimento, centrifugou-se a amostra a  $12.000 \times g$  por 10 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante (cerca de 400  $\mu\text{L}$ ) foi cuidadosamente transferido para um novo tubo estéril de 1,5 mL, adicionando-se 200  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto e agitando-se imediatamente por 5 segundos para evitar a precipitação do RNA. A seguir, transferiu-se a amostra para uma coluna contida no Kit, acoplada em um tubo estéril de 2,0 mL, e centrifugou-se o conjunto à temperatura ambiente por 30 segundos. O filtrado foi descartado e a coluna retornou para o mesmo tubo. A lavagem da coluna constituiu-se de três etapas. Na primeira, adicionou-se ao centro da coluna 250  $\mu\text{L}$  de Wash Solution centrifugando-a por 30 segundos à temperatura ambiente. O filtrado resultante foi descartado, e a coluna acoplada ao mesmo tubo. Para eliminar os fragmentos residuais de DNA, a coluna foi incubada por 30 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$  com uma solução composta por 20  $\mu\text{L}$  da enzima RQ1 – RNase-free DNase (Prodinol,  $1\text{U}/\mu\text{L}$ ), 8  $\mu\text{L}$  de 10 x Reaction buffer e 52  $\mu\text{L}$  de água DEPC. Para a segunda etapa de lavagem, adicionou-se 250  $\mu\text{L}$  de Wash Solution ao centro da coluna, centrifugando-a por 30 segundos à temperatura ambiente. O filtrado resultante foi descartado, e a coluna acoplada ao mesmo tubo. Repetiu-se o mesmo processo para a terceira lavagem utilizando-se agora 500  $\mu\text{L}$  de Wash Solution na coluna. A seguir, a coluna foi transferida para um novo tubo estéril de 1,5 mL.

Para o processo de eluição do RNA, pipetou-se 100  $\mu\text{L}$  de Elution Buffer aquecido ( $55^{\circ}\text{C}$ , 10 minutos) no centro da coluna, incubando-a a temperatura ambiente por 2 minutos. A mesma foi então submetida à centrifugação por 30 segundos a temperatura ambiente. Todo o conteúdo filtrado (RNA total) foi estocado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para o início da síntese de DNA complementar (cDNA).

Uma alíquota da amostra foi submetida à leitura em espectrofotômetro (ND-100 NanoDrop Technologies), no comprimento de onda de 260nm ( $A_{260\text{nm}}$ ) e 280nm ( $A_{280\text{nm}}$ ), para verificação de sua concentração e pureza (SAMBROOK et al., 1989). A amostra de RNA foi considerada de boa qualidade quando a razão  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$  foi entre 1,8 e 2,0.

Para avaliar a quantidade e a qualidade do RNA extraído, amostras de RNA total foram submetidas ao equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) que separa e detecta fragmentos de RNA pela aplicação de eletroforese capilar (CE) com detecção de fluorescência induzida a laser (LIF).

As análises foram realizadas com o Kit Agilent RNA 6000 Nano (Agilent Technologies), composto por “chips” e reagentes próprios para amostras de RNA. Os “chips” são estruturalmente formados por microcanais interconectados que permitem a separação por tamanho dos fragmentos de RNA via CE e detecção pela LIF, presente no sensor do equipamento. Assim sendo, seguiu-se as recomendações do fabricante para o preparo do “chip” de separação de eletroforese em gel, introdução dos marcadores de tamanho, amostras e corantes. Dessa forma, aplicou-se nos reservatórios indicados no “chip”, o gel com intercalador fluorescente (9  $\mu\text{L}$ ), o marcador de corrida (5  $\mu\text{L}$ ), as amostras (1  $\mu\text{L}$ ) e o padrão de tamanho de corrida (1  $\mu\text{L}$ ). O “chip” foi introduzido no equipamento, com tempo de análise para 12 amostras de aproximadamente 30 minutos entre preparação, aplicação das amostras, análise e coleta de dados. A quantidade foi expressa em  $\text{ng}/\mu\text{L}$  e a qualidade, pelo número de integridade do RNA (RIN).

Os dados obtidos foram analisados no “software” da Agilent Biosizing (Versão A. 02.12). A presença das bandas de RNA ribossomal (18S e 28S) no gel de eletroforese

capilar (Figura 1) e os picos das bandas 18S e 28S nos eletroferogramas (Figura 2), foram analisados e considerados para a integridade e qualidade do RNA extraído.

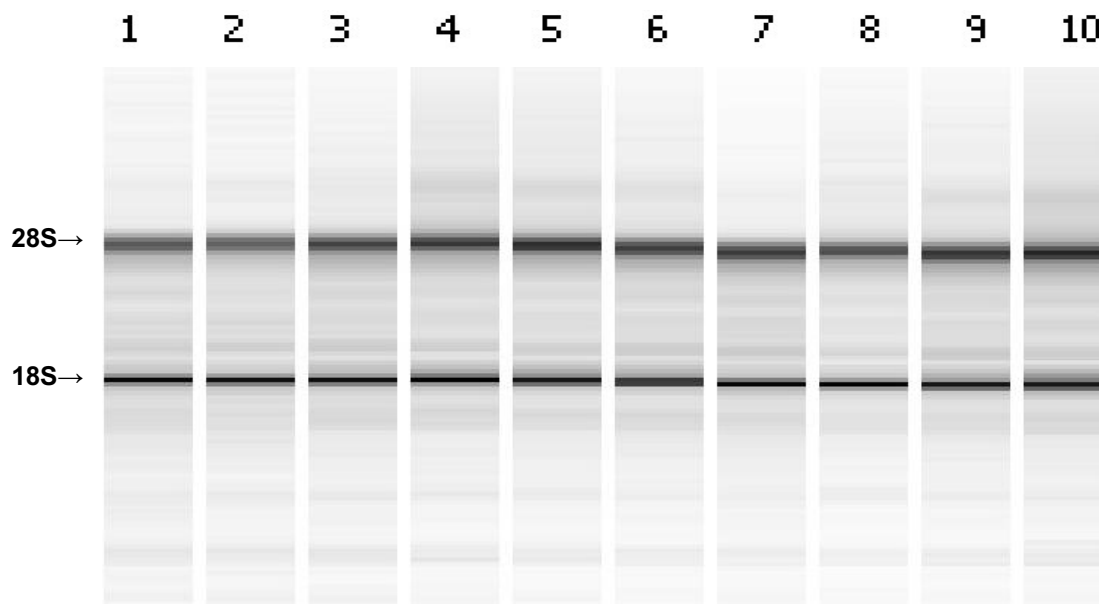


Figura 1. Eletroforese capilar em gel virtual de 1  $\mu$ L de RNA total extraído do fígado de frangos de corte de dez extrações (1-10), utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando as bandas de RNA ribossomal (28S e 18S).

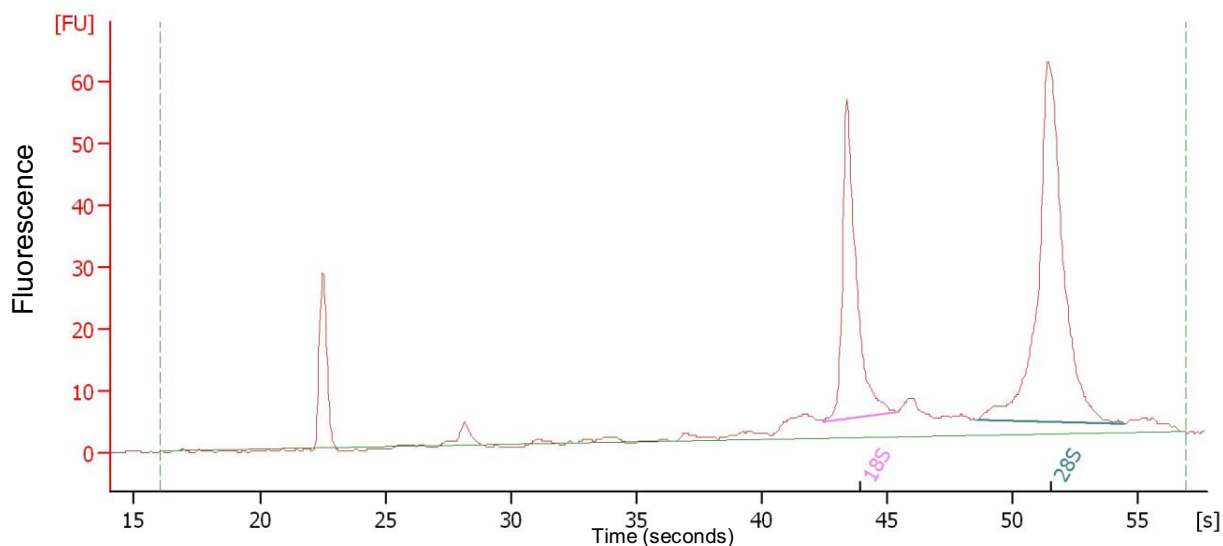


Figura 2. Eletroferograma de uma amostra de RNA total extraído do fígado de frango de corte, utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando os picos das bandas 28S e 18S de RNA ribossomal.

A integridade do RNA total também foi analisada através de eletroforese em gel de agarose (1,5%) em condições desnaturantes, observando-se a presença das bandas de RNA ribossomal (18S e 28S) (Figura 3). Para tanto, pesou-se 0,6 g de agarose em um erlenmayer de 125 mL e adicionou-se ao mesmo 32,5 mL de água DEPC e 4 mL de tampão de corrida 10 x concentrado (MOPS 20 mM pH 7,0, acetato de sódio 5 mM, EDTA 5 mM pH 8,0), submetendo-o em seguida ao microondas por 1,5 minutos. Após esse procedimento, adicionou-se 3,2 mL de formaldeído e a solução foi transferida para a cuba de eletroforese. Uma alíquota de RNA total (2,0  $\mu$ g) foi preparada com 0,5  $\mu$ L de brometo de etídeo, 3  $\mu$ L de água DEPC e 15  $\mu$ L de tampão de amostra (750  $\mu$ L de formamida, 90  $\mu$ L de formaldeído, 150  $\mu$ L de tampão de corrida 10 x, 135  $\mu$ L de água DEPC, azul de bromofenol 0,4%) e incubada a 65°C por 7 minutos antes de ser aplicada no gel solidificado. O gel foi então submetido à eletroforese por cerca de 2 horas, a 90 V.

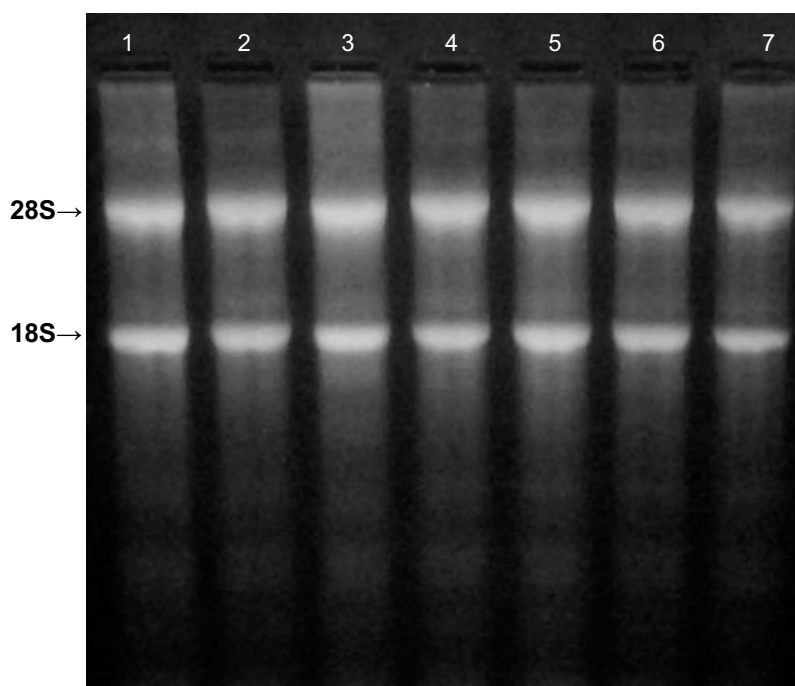


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1,5%, de 2  $\mu$ g RNA total extraído do fígado de frangos de corte de sete extrações (1-7), utilizando-se o Kit RiboPure™ da Ambion, evidenciando as bandas de RNA ribossomal (28S e 18S).

### **Síntese e purificação da primeira fita de cDNA**

A síntese da primeira fita de DNA complementar (cDNA) por transcrição reversa (RT) foi realizada através do Kit comercial SuperScript™ III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen Life Technologies, USA), a partir de 5 µg de RNA total de fígado e utilizando-se oligo (dT) como iniciador. Para tanto, foram adicionados em um microtubo específico para reações de PCR, 5 µg de RNA total, 1 µL de oligo (dT)<sub>20</sub> (50 µM), 1 µL de tampão de anelamento e água tratada com DEPC, para um volume final de 8 µL. A reação de síntese do cDNA em termociclador (MJ Research, INC.), compreendeu uma desnaturação inicial de 65°C por 5 minutos, seguida de anelamento dos iniciadores a 20°C por 5 minutos. Posteriormente, as amostras foram mantidas no gelo, adicionando-se a cada reação 10 µL de 2X First-Strand Reaction Mix e 2 µL SuperScript™ III/RNaseOUT™ Enzyme Mix. A reação prosseguiu com a extensão da fita a 50°C por 60 minutos seguida de inativação da enzima a 80°C por 5 minutos. Após essas etapas, as fitas molde de RNA foram removidas através de digestão com a enzima Ribonuclease H (1U), por 22 minutos a 37°C. A seguir, adicionou-se a cada amostra, 1 µL de EDTA (5M, pH 8,0) e 3 µL de água milli-Q autoclavada, seguindo-se de rápida centrifugação. As amostras foram transferidas para tubos estéreis de 1,5 mL devidamente identificados.

Para iniciar o processo de precipitação do cDNA, adicionou-se por reação 25 µL de água milli-Q autoclavada, 5 µL de acetato de sódio (3M, pH 5,2) e 125 µL de álcool etílico absoluto gelado. Após misturar gentilmente a reação, os tubos foram mantidos a -20°C "over night". No dia seguinte, as amostras foram submetidas à centrifugação por 20 minutos, a 4°C, a velocidade máxima. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (pelete) foi lavado com 1 mL de álcool etílico 70% gelado. As amostras foram novamente submetidas à centrifugação por 6 minutos, a 4°C, a velocidade máxima, descartando-se o sobrenadante. O pelete então foi seco em bomba à vácuo por 10 minutos e ressuspendido em 52 µL de água milli-Q autoclavada. Os cDNAs foram quantificados em espectrofotômetro (ND-1000 NanoDrop Technologies), armazenados em freezer a -20°C para posterior realização do PCR em tempo real.

### Reação de PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR)

A expressão dos genes GHR (receptor do hormônio do crescimento), IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina I) e do IGF-IR (receptor do IGF-I) foi avaliada pela técnica de PCR em tempo real (qRT-PCR). As seqüências dos oligonucleotídeos utilizados nas reações de qRT-PCR foram previamente publicadas, sendo as do GHR e IGF-I descritas por WANG et al. (2007) e as do IGF-IR por TOSCA et al. (2007). Os genes 28S,  $\beta$ -actina e GAPDH (gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase) foram testados como genes normalizadores. Na tabela 1 estão presentes as seqüências dos oligonucleotídeos com os respectivos números de acesso no “GenBank” e temperatura de anelamento. Todas as reações de qRT-PCR foram feitas com sete replicatas biológicas e duas replicatas técnicas. Para tanto, foram utilizadas 6,5  $\mu$ L do reagente Power Sybr Green (Applied Biosystems), 0,6  $\mu$ M de cada iniciador específico para cada gene, 40 ng de cDNA e água MilliQ (ultrapura) autoclavada para um volume final de 12,5  $\mu$ L. Em todos os casos, os controles negativos (água ao invés de cDNA) foram incluídos para a transcrição reversa.

Tabela 1. Seqüências dos oligonucleotídeos utilizados na reação de qRT-PCR com os respectivos números de acesso no “Genbank” e temperatura de anelamento (TA°C).

Gene <sup>1</sup>	Nº de acesso (“GenBank”)	Seqüência dos oligonucleotídeos (5'→3')	TA(°C)
GHR	NM_001001293	F <sup>2</sup> GATGACTCCGATGAAAAGAACAGA	56.1
		R <sup>2</sup> ATCCTTGGCTCCCAAGCAA	56.7
IGF-I	NM_001004384	F TGGCCTGTGTTTGCTTACCTT	56.0
		R TACGAACTGAAGAGCATCAACCA	56.1
IGF-IR	NM_205032	F GGCCTGCCGCAATTACTACTA	55.8
		R CGCCAGCCCTCAAACCTTGT	57.3
$\beta$ -actina	NM_205518	F TGGGTATGGAGTCCTGTGGT	53.6
		R AGGGCTGTGATCTCCTTCTG	52.9
GAPDH	AF047874	F GGATACACAGAGGACCAGGTTGT	55.6
		R TTGCTGTATCCAAACTCATTGTCA	56.0
28S	FM165415	F GGCGAAGCCAGAGGAAACT	55.5
		R GACGACCGATTTGCACGTC	55.9

<sup>1</sup>GHR= receptor do hormônio do crescimento; IGF-I= fator de crescimento semelhante à insulina I; IGF-IR= receptor do IGF-I; GAPDH= gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase.

<sup>2</sup>F= forward; R= reverse.

A reação foi então submetida ao protocolo de ciclos, seguindo as orientações do fabricante no aparelho GeneAmp 7500 (Applied Biosystems), descrito a seguir: 2 minutos a 50°C, 10 minutos a 95°C, seguidos de 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C. Por fim, foi empregado um ciclo final com temperatura crescente de 60°C a 95°C para obtenção da curva de dissociação dos produtos da reação utilizada para análise da especificidade da amplificação.

Dos seis genes utilizados no experimento foi possível avaliarmos cinco, uma vez que a reação de amplificação do gene IGF-IR apresentou formação de produtos de amplificação inespecíficos, assim como formação de estruturas secundárias das moléculas dos iniciadores (“hairpins” e dímeros). Como o método de detecção utilizado é o de Syber Green não foi possível identificar nos resultados qual sinal foi proveniente do “amplicon” e qual foi proveniente de moléculas não desejadas.

Assim, para os outros genes (GHR, IGF-I, GAPDH, 28S e  $\beta$ -actina) os resultados foram analisados com base no valor de “threshold cycle” (Ct) ou linha de corte, definido após a reação, sendo este ponto correspondente ao momento em que a amplificação atinge um limiar, que permite a análise quantitativa da expressão do fator avaliado em relação ao gene normalizador. Os valores de Ct foram obtidos utilizando-se o software ABI Prism 7500 SDS versão 1.1 (Applied Biosystems), sendo posteriormente normalizados ( $\Delta$ Ct) com base nos valores de Ct obtidos para o gene normalizador. Já os níveis relativos de expressão dos genes avaliados foram calculados de acordo com o método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  ou “fold change”, descrito por LIVAK & SCHMITTGEN (2001).

## **Resultados e Discussão**

### **Análises para a determinação do gene normalizador**

Os genes 28S,  $\beta$ -actina e GAPDH candidatos a gene normalizador tiveram suas taxas de expressão analisadas pelos programas geNorm (geNorm Software) e NormFinder (NormFinder Software).

O programa geNorm é uma poderosa ferramenta a ser usada na seleção dos melhores genes para normalização usando o princípio de que a taxa de expressão de dois genes normalizadores deva ser a mesma entre todas as amostras testadas, independentemente das condições experimentais, isto é, não faz distinção entre situações intra-grupos (entre indivíduos, por exemplo) e inter-grupos (entre diferentes tecidos e células) (OHL et al., 2006). Dessa forma, VANDESOMPELE et al. (2002), definem como parâmetro para quantificar a estabilidade de genes candidatos a gene normalizador o valor de M (“M-value”), onde os valores mais baixos indicam uma expressão mais estável.

De acordo com o proposto e fazendo-se o uso do programa geNorm, o GAPDH se comportou como o melhor candidato a gene normalizador, com os menores valores de “M-value” nas idades analisadas. Dessa forma, o GAPDH foi considerado entre os candidatos a normalizador, o gene de menor interferência experimental aos 21 e 42 dias de idade dos frangos de corte, com valores de “M-value” de 0,7984 e 0,4956, respectivamente.

Por outro lado, o princípio do programa NormFinder é baseado na escolha de dois genes que tenham a menor variação de expressão tanto nas situações inter como na intra-grupos. Assim sendo, o GAPDH também se comportou como o melhor gene normalizador aos 21 dias de idade, apresentando o menor índice de variabilidade (0,1784) tanto entre os candidatos a gene normalizador quanto entre a melhor combinação de dois desses genes gerada pelo programa NormFinder (Tabela 2). Entretanto, aos 42 dias de idade a análise feita pelo programa considerou a combinação dos genes GAPDH e 28S a mais estável, ou seja, menor índice de variabilidade (0,1709) entre os genes avaliados (Tabela 3).

Valendo-se do princípio do programa NormFinder (análises de expressão inter e intra-grupos), consideramos neste experimento o GAPDH como o melhor gene normalizador aos 21 dias de idade (Figura 4), e sua combinação com o gene 28S aos 42 dias de idade das aves (Figura 5).

Tabela 2. Variabilidade de expressão entre os candidatos a gene normalizador e a da melhor combinação de dois genes gerada pelo programa NormFinder aos 21 dias de idade das aves.

Gene	Variabilidade		
$\beta$ -actina	0,3290	Variabilidade do melhor gene (GAPDH)	0,1784
28S	0,6098	Variabilidade da melhor combinação de 2 genes	0,2019
GAPDH	0,1784	Melhor combinação de 2 genes	$\beta$ -actina e GAPDH

Tabela 3. Variabilidade de expressão entre os candidatos a gene normalizador e a da melhor combinação de dois genes gerada pelo programa NormFinder aos 42 dias de idade das aves.

Gene	Variabilidade		
$\beta$ -actina	0,2309	Variabilidade do melhor gene (GAPDH)	0,2056
28S	0,3441	Variabilidade da melhor combinação de 2 genes	0,1709
GAPDH	0,2056	Melhor combinação de 2 genes	28s e GAPDH

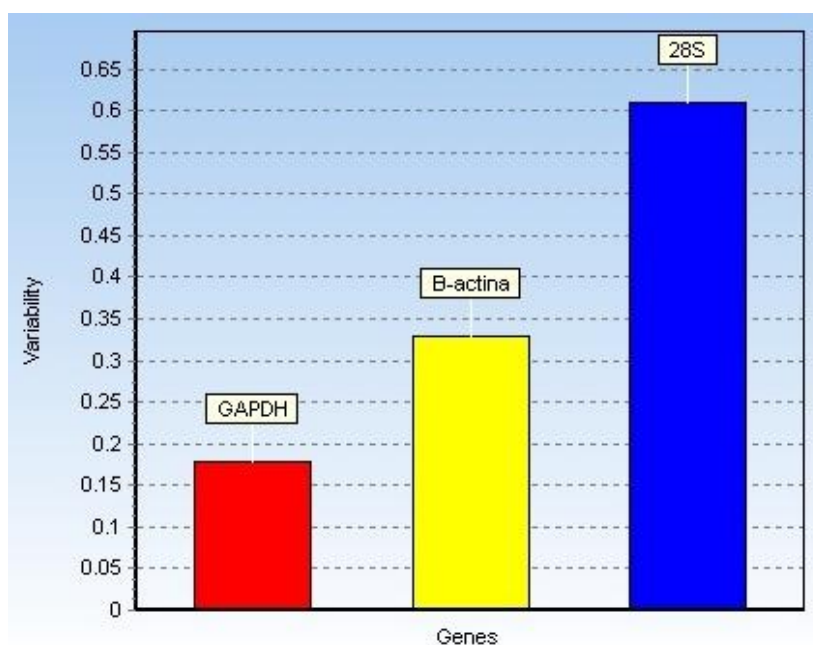


Figura 4. Estabilidade dos 3 genes candidatos a melhor gene normalizador segundo o programa NormFinder aos 21 dias de idade das aves. O gene com o menor valor de variabilidade é o de menor interferência experimental (GAPDH).

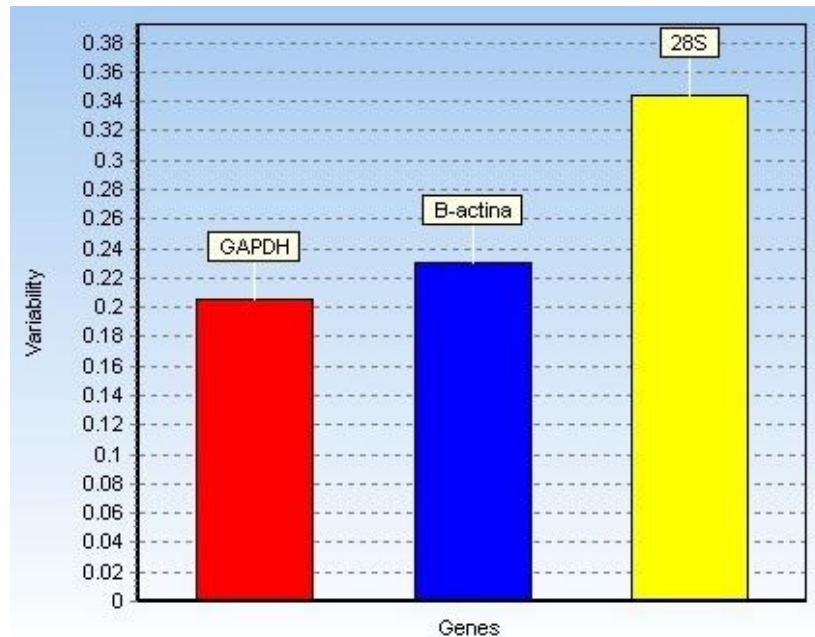


Figura 5. Estabilidade dos 3 genes candidatos a melhor gene normalizador segundo o programa NormFinder aos 42 dias de idade das aves. O gene com a menor interferência experimental é aquele com o menor valor de variabilidade (combinação do gene 28s com gene GAPDH)

#### **Análise da expressão gênica dos genes GHR e IGF-I aos 21 e 42 dias de idade das aves**

A expressão relativa para cada gene foi determinada pelo método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  ou “fold change” (LIVAK & SCHMITTGEN, 2001), onde o  $\Delta Ct$  foi dado pela diferença entre o “threshold cycle” (Ct) do gene avaliado e o Ct do gene normalizador, enquanto que, o  $\Delta\Delta Ct$  foi determinado pela diferença entre o  $\Delta Ct$  de cada tratamento experimental (32°C/*Ad libitum* e TN/Restrito) e o  $\Delta Ct$  do tratamento referência (TN/*Ad libitum*), utilizado como controle nessa pesquisa.

Assim sendo, os resultados da expressão relativa ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) da abundância de transcritos dos genes GHR e IGF-I no fígado dos frangos, aos 21 e 42 dias de idade, submetidos aos três diferentes tratamentos de temperatura/alimentação, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Expressão relativa ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) dos genes GHR e IGF-I no tecido hepático de frangos de corte (N= 7) aos 21 e 42 dias de idade.

<b>21 dias de idade</b>			
<b>T°C/alimentação</b>	<b>32°C/Ad libitum</b>	<b>TN/Restrito</b>	<b>TN/Ad libitum</b>
$2^{-\Delta\Delta Ct}$ - GHR	0,603	0,627	1,000
$2^{-\Delta\Delta Ct}$ - IGF-I	1,266	1,113	1,000
<b>42 dias de idade</b>			
<b>T°C/alimentação</b>	<b>32°C/Ad libitum</b>	<b>TN/Restrito</b>	<b>TN/Ad libitum</b>
$2^{-\Delta\Delta Ct}$ - GHR	1,611	0,356	1,000
$2^{-\Delta\Delta Ct}$ - IGF-I	0,791	1,224	1,000

Os dados apresentados na Tabela 4 evidenciam que, independentemente da temperatura ambiental, a restrição alimentar afetou os perfis da expressão dos genes GHR e IGF-I no fígado de frangos submetidos a diferentes temperaturas, tanto aos 21 quanto aos 42 dias de idade. Entretanto, a magnitude e a tendência das variações observadas foram influenciadas tanto pela idade, quanto pela temperatura ambiente.

Nesse sentido, observa-se que as aves do tratamento TN/Restrito apresentaram quantidades relativas de RNAm do GHR menores do que aquelas apresentadas pelas aves do tratamento referência (TN/Ad libitum), tanto aos 21 quanto aos 42 dias de idade. Contudo, verifica-se que a redução na expressão do gene do GHR foi consideravelmente mais acentuada nas aves adultas, que apresentaram valores 64,4% menores do que os observados no tratamento referência, enquanto que nas aves mais jovens essa diferença foi de apenas 37,3%, ou seja, quase a metade do valor apresentado pelas aves adultas. Por outro lado, as quantidades relativas de RNAm do IGF-1 foram discretamente superiores as do tratamento referência, apresentando valores de 11,3% e 22,4% para as idades de 21 e 42 dias, respectivamente.

Já em relação ao tratamento 32°C/Ad libitum, observa-se que o perfil de expressão do GHR e do IGF-1 no fígado das aves aos 21 dias de idade foi similar ao das aves de mesma idade do tratamento TN/Restrito, ressaltando-se que apesar da magnitude moderada (26,6%), a expressão relativa do IGF-1 foi 2,35 vezes maior em relação ao tratamento TN/Restrito, diferença essa que pode ter contribuído para o

melhor desempenho das aves submetidas ao tratamento 32°C/*Ad libitum* aos 21 dias de idade. Por outro lado, aos 42 dias de idade as aves do tratamento 32°C/*Ad libitum* apresentaram um padrão de expressão dos genes estudados completamente diferente daquele apresentado pelas aves do tratamento TN/Restrito, no qual se destaca uma expressão relativa (em relação ao tratamento TN/*Ad libitum*) consideravelmente mais elevada do gene do GHR (61,1%), enquanto que a do IGF-1 sofreu uma redução apenas moderada, da ordem de aproximadamente 21%.

É consensual que o GH exerce considerável influência em um grande número de processos metabólicos nas aves, atuando diretamente nas células alvo, mediante ligação com seu receptor (GHR), ou indiretamente, modulando a produção de outros hormônios, dentre os quais os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) que, agem de maneira endócrina e/ou parácrina ou autócrina e possuem um papel crucial na modulação do crescimento e do metabolismo desses animais.

Estudos quantitativos sobre a expressão dos genes do GH na hipófise anterior e do GHR no fígado de aves submetidas às mesmas condições têm demonstrado que os perfis de expressão desses genes são inversamente relacionados, notadamente no período de 21 a 42 dias de idade (HULL & HARVEY, 1998; ZHAO et al., 2003; Lu et al., 2008), fato este que fornece considerável evidência de que a expressão do GHR no fígado é modulada pelo GH. De fato, o relato de que o número de receptores hepáticos de GH foi inversamente correlacionado com a concentração plasmática de GH (VANDERPOOTEN et al., 1991), já fornecia a base fisiológica para o estabelecimento dessa relação. Assim sendo, tais evidências sugerem fortemente que estes dois genes podem exercer um papel sensorial, retransmitindo o sinal do perfil da expressão invertida para os mecanismos celulares de regulação do crescimento (Lu et al., 2008).

Elevações nas concentrações plasmáticas de GH têm sido observadas nos casos de restrição alimentar (HOCKING et al., 1994; BUYSE et al., 2000), restrição protéica (LAUTERIO & SCANES 1987) e jejum (SCANES et al., 1981). McMURTRY et al. (1988) e BUYSE et al. (1997) também relataram elevadas concentrações circulantes desse hormônio durante a realimentação no plasma de frangos de corte previamente restritos. No entanto, GIACHETTO (2002) observou níveis inferiores de RNAm do GH

no cérebro de aves com restrição energética em relação às aves controle, aumentando consideravelmente a expressão de GH daquelas quando realimentadas.

A condição nutricional também exerce influência sobre o nível de RNAm do GHR hepático. Assim, os níveis de expressão do GHR foram reduzidos em 46,1% pela restrição alimentar qualitativa em frangos de corte, ao passo que a quantidade de transcritos desse gene apresentou um aumento de 45,6% nas aves de postura que receberam dieta formulada para frangos de corte (ZHAO et. al., 2003). Reduções na produção de RNAm do GHR também foram observadas por GIACHETTO (2002) em frangos de corte em respostas a dieta com baixo teor de proteína. Assim sendo, verifica-se que o estado nutricional do animal é um dos fatores que exerce grande influência sobre o nível de RNAm do GH pituitário e do GHR hepático.

A indução da síntese de IGF-I pelo GH está associada tanto a um aumento nos níveis de RNAm do IGF-I quanto na transcrição do seu gene (BICHELL et al., 1992). Em aves, BURNSIDE & COGBURN (1992), relataram uma alta correlação entre expressão hepática de RNAm de IGF-I e seus níveis plasmáticos durante o desenvolvimento pós-eclosão, com um pico de ambos na 4<sup>a</sup> semana de idade. LU et al. (2008) verificaram uma relação positiva de expressão entre os níveis de RNAm do IGF-I e GH até os 28 dias de idade, sugerindo que o IGF-I é o ponto-chave de controle do eixo GH – IGF-I nas quatro primeiras semanas de idade das aves.

A expressão gênica do IGF-I exhibe uma tendência decrescente em animais em jejum, sugerindo que os níveis de RNAm podem ser regulados, pelo menos em parte, a nível transcricional (STRAUS & TAKEMOTO, 1990). Além dessa regulação, alterações pós-transcricionais no RNAm e pós-traducionais na proteína também contribuem para a determinação da quantidade de IGF-I circulante. A literatura também evidencia que a condição nutricional do animal atua como fator regulador tanto da expressão hepática do IGF-I (BURNSIDE & COGBURN, 1992) quanto dos seus níveis plasmáticos. Vários autores relataram que períodos de jejum ou restrição alimentar em frangos de corte resultaram tanto em uma diminuição na concentração plasmática de IGF-I (MORISHITA, et al., 1993; DEWIL et al., 1999) como em uma menor expressão de seu RNAm (KITA et al., 1996, 1998; GIACHETTO, 2002).

Baseados nos resultados relatados na literatura, os dados sugerem que, mediante a restrição alimentar a regulação da expressão do GH e de sua concentração plasmática ocorrem de maneira distinta daquela observada durante o desenvolvimento.

Embora os níveis de RNAm de GH, assim como suas concentrações plasmáticas não tenham sido quantificadas no presente trabalho, é razoável supor que a redução nos níveis hepáticos de RNAm do GHR observada aos 21 e 42 dias de idade das aves do tratamento TN/Restrito e aos 21 dias nas aves do tratamento 32°C/*Ad libitum* seja devida ao aumento na produção de GH induzido pela restrição alimentar.

Ainda, supondo que a concentração circulante do GH tenha sido aumentada pela restrição alimentar, pode-se inferir, que a resposta hepática ao GH também foi elevada, em termos de produção do IGF-I, nas aves criadas em TN/Restrito aos 21 e 42 dias de idade e nas submetidas ao tratamento 32°C/*Ad libitum*, aos 21 dias de idade. No entanto, os maiores níveis de expressão do IGF-I nas aves submetidas aos tratamentos experimentais (TN/Restrito e 32°C/*Ad libitum*) não proporcionaram um melhor desempenho frente às aves do tratamento controle (Tabela 3, Capítulo 2). É interessante ressaltar que, a redução dos níveis de RNAm do GHR nas aves dos tratamentos TN/Restrito e 32°C/*Ad libitum* aos 21 dias de idade e nas aves do tratamento TN/Restrito aos 42 dias de idade, não afetou de forma negativa as quantidades de RNAm do IGF-I, sugerindo que a diminuição do RNAm do GHR, pelo menos na magnitude observada no presente trabalho, não interferiu na sinalização celular pelo GH.

Ademais, vale ressaltar que mecanismos regulatórios distintos devem estar envolvidos na expressão hepática do IGF-I. Envolvidos neste complexo e integrado sistema de regulação estão além do hormônio de crescimento e dos receptores hepáticos do hormônio de crescimento, proteínas carreadoras do IGF-I circulante e os hormônios tireoideanos (WOLF et al., 1989).

Aos 42 dias de idade, os níveis de RNAm do IGF-I e GHR foram, respectivamente, 43% menores e 126% maiores, no tratamento 32°C/*Ad libitum* em relação ao tratamento TN/Restrito. Considerando-se que o consumo de ração e ganho de peso entre esses tratamentos foram iguais (Tabela 3, Capítulo 2), as diferenças

observadas na expressão desses genes pertencentes ao eixo somatotrófico, decorreram muito provavelmente, de outros efeitos provocados pelo estresse térmico, que não a redução no consumo.

A importância do sistema endócrino como mediador da aclimação ao estresse ambiental, do crescimento e do metabolismo animal é evidente e, portanto, não é surpreendente que o estresse térmico apresente um efeito relevante sobre os hormônios circulantes. Na literatura, alterações hormonais induzidas pelo estresse térmico têm sido relatadas por vários autores (JOHNSON & VANJONACK, 1976; COLLIER et al., 1982; McGUIRE et al., 1991; RHOADS et al., 2009; RHOADS et al., 2010). No entanto, são raros os experimentos que avaliam simultaneamente os efeitos do estresse térmico e de alterações na ingestão de alimentos sobre parâmetros endócrinos. Até o presente momento, não há na literatura dados referentes à expressão de genes do eixo somatotrófico em resposta tanto ao efeito direto do estresse térmico quanto do efeito da redução no consumo alimentar gerado pelo calor em aves.

Segundo BAUMAN & VERNON (1993), o eixo hipotálamo – hipófise – fígado está acoplado em animais com balanço energético positivo, ou seja, a síntese e a secreção do IGF-I são dependentes da ligação do GH (endógeno ou exógeno) aos seus receptores hepáticos, enquanto que, durante períodos de balanço energético negativo, como a desnutrição ou quando a demanda energética de produção excede o consumo de energia, o eixo torna-se desacoplado. Dessa forma, os mesmos pesquisadores observaram em vacas leiteiras que quando o estado nutricional é gravemente comprometido por um jejum a curto prazo, as concentrações basais de IGF-I são mais baixas e a capacidade do GH exógeno para aumentar os níveis de IGF-I é suprimida. Um impacto similar do estado nutricional sobre o eixo GH – IGF-I foi observado em bovinos (BREIER & GLUCKMAN, 1991) e outras espécies, incluindo humanos (CLEMMONS & UNDERWOOD, 1991).

No entanto, em situação de estresse térmico, mesmo com redução no consumo, alguns pesquisadores relataram diminuição nos níveis de GH (MITRA et al., 1972; MOHAMMED & JOHNSON, 1985; McGUIRE et al., 1991). Os efeitos do estresse térmico sobre variáveis do GH foram também avaliados por RHOADS et al. (2009) em

bovinos. Os autores não observaram diferenças nas características de pulsabilidade do hormônio, no seu fator de liberação (GHRF) e nas suas concentrações circulantes, que foram similarmente reduzidas tanto nas vacas submetidas ao estresse térmico quanto nas criadas em sistema “pair-feeding”. Apesar das similaridades nas concentrações plasmáticas de GH, os níveis de RNAm do IGF-I foram reduzidos nos animais em estresse térmico, mas não nos animais em “pair-feeding” (RHOADS et al. 2010), resultados semelhantes aos encontrados neste experimento, sugerindo que um desacoplamento do eixo hepático GH – IGF-I pode ocorrer durante o estresse térmico. Estes autores também observaram que os níveis de GHR hepático foram reduzidos no estresse térmico, mas não nos animais em sistema “pair-feeding”, embora os mesmos não tenham encontrado uma explicação plausível para o fato. Em contrapartida, neste experimento, um aumento nos níveis do GHR foi observado nas aves do tratamento 32°C/*Ad libitum*, sugerindo que a expressão do GHR nas aves submetidas ao estresse térmico ocorre de acordo com aquela observada durante a fase final do crescimento (LU et al., 2008), cujos níveis aumentam constantemente, entre 28 e 42 dias de idade, e inversamente aos níveis de GH.

Ainda, de acordo com os resultados apresentados na literatura, os dados sugerem que, mediante o estresse térmico a regulação do eixo hepático GH – IGF-I pode ocorrer de maneira distinta daquela observada durante a restrição alimentar aos 42 dias de idade das aves.

Baseado na hipótese de que os níveis de GH plasmático diminuem durante o estresse térmico, poder-se-ia pensar que a capacidade de resposta hepática ao GH envolve, pelo menos em parte, mecanismos independentes da redução no consumo de ração.

## **Conclusões**

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- Independente da temperatura de criação, a restrição alimentar exerce um efeito negativo na expressão do gene do GHR no fígado das aves jovens, sem maiores reflexos na expressão do gene do IGF-I, sugerindo que uma redução moderada nos níveis do RNAm do GHR não compromete a sinalização do eixo somatotrófico no fígado desses animais.
- O estresse térmico afeta a expressão dos genes hepáticos GHR e IGF-I somente nas aves adultas, as quais apresentam perfil inverso ao das aves restritas pelo “pair-feeding”, sugerindo que mediante ao estresse calórico a regulação do eixo hepático GH - IGF-I ocorre de maneira distinta da restrição alimentar.

## REFERÊNCIAS

- BAUMAN, D.E., VERNON, R.G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annual Review Nutrition**, v. 13, p. 437–461, 1993.
- BICHELL, D. P., KIKUCHI, K., ROTWEIN, P. Growth hormone rapidly activates insulin-like growth factor I gene transcription in vivo. **Molecular Endocrinology**, v. 6, p.1899-1908, 1992.
- BREIER, B.H., GLUCKMAN, P.D. The regulation of postnatal growth: Nutritional influences on endocrine pathways and function of the somatotrophic axis. *Livestock Production Science*, v. 27, p. 77-94, 1991.
- BUYSE, J., DECUYPERE, E., VELDHUIS, J.D. Compensatory growth of broiler chickens is associated with an enhanced pulsatile growth hormone (GH) secretion: preferential amplification of GH secretory burst mass. **British Poultry Science**, v. 38, p. 291-296, 1997

BUYSE, J., DECUYPERE, E., DARRAS, V.M., VLEURICK, L.M., JUN, E.R., VELDHUIS, J.D. Food restriction and feeding of broiler chickens is associated with rapid and interdependent changes in the somatotrophic and thyrotrophic axes. **British Poultry Science**, v. 41, p. 107-116, 2000.

BURNSIDE & COGBURN. Developmental expression of hepatic growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in the chicken. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 89, p. 91-96, 1992.

CLEMMONS, D.R., UNDERWOOD, L.E. The regulation of postnatal growth: Nutritional influences on endocrine pathways and function of the somatotrophic axis. **Annual Review Nutrition**, v. 11, p. 393-412, 1991.

COBB. Guia de Manejo para Frangos de Corte Cobb 500®. 2008, 72p.

COLLIER, R.J., BEEDE, D.K., THATCHER, W.W., ISRAEL, L.A., WILCOX, C.J. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. **Journal Dairy Science**, v. 65, p. 2213-2227, 1982.

COMBES, S., LOUVEAU, I., BONNEAU, M. Moderate food restriction affects skeletal muscle and liver growth hormone receptors differently in pigs. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 1944-1949, 1997.

DAUNCEY, M.J., BURTON, K.A., WHITE, P., HARRISON, A.P., GILMOUR, R.S., DUCHAMP, C., CATTANEO, D. Nutritional regulation of growth hormone receptor gene expression. **FASEB Journal**, v. 8, p. 81-88, 1994.

DEWIL, E., DARRAS, V.M., SPENCER, G.S.G., LAUTERIO, T.J., DECUYPERE, E. The regulation of GH-dependent hormones and enzymes after feed restriction in dwarf and control chickens. **Life Sciences**, v. 64, n. 16, p. 1359-1371, 1999.

GERAERT, P.A.; PADILHA, J.C.F.; GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 195-204, 1996.

GIACHETTO, P.F. **Ganho compensatório em frangos de corte: desempenho, característica de carcaça, níveis plasmáticos de hormônios e expressão do GH, IGF-I e seus receptores**. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

HOCKING, P.M., BERNARD, R., WILKIE, R.S., GODDARD, C. Plasma growth hormone and insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations at the onset of lay in ad libitum and restricted broiler breeder fowl. **British Poultry Science**, v. 35, p. 299-308, 1994.

JOHNSON, H.D., VANJONACK, W.J. Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. **Journal Dairy Science**, v. 59, p. 1603-1617, 1976.

KITA, K., TOMAS, F.M., OWENS, P.C., KNOWLES, S.E., FORBES, B.E., UPTON Z., HUGHES, R., BALLARD, F.J. Influence of nutrition on hepatic IGF-1 mRNA levels and plasma concentrations of IGF-1 and IGF-2 in meat-type chickens. **Journal of Endocrinology**, v. 149, p. 181-190, 1996.

KITA, K., HANGSANET, K., SHIBATA, T., CONLON, M.A., SASAKI, T., SAITO, N., OKUMURA, J. Refeeding increases hepatic insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene expression and plasma IGF-I concentration in fasted chicks. **British Poultry Science**, v. 39, p. 679-682, 1998.

LAUTERIO, T.J., SCANES, C.G. Hormonal responses to protein restriction in two strains of chickens with different growth characteristics. **Journal of Nutrition**, v. 117, n. 4, p. 758-763, 1987.

LIVAK, J.K; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LOWE, W.L, ADAMO, M., WERNER, H., ROBERTS, C.T., LEROITH, D. Regulation by fasting of rat insulin-like growth factor-I and its receptor. **Journal of clinical Investigation**, v. 84, p. 619-626, 1989.

LU, F.Z., WANG, X.X., PAN, Q.X., HUANG, R.H., LIU, H.L. Expression of genes involved in the somatotropic, thyrotropic, and corticotropic axes during development of Langshan and Arbor Acres chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 2087–2097, 2008.

MAO, J.N., COGBURN, L.A., BURNSIDE, J. Growth hormone down-regulates growth hormone receptor mRNA in chickens but developmental increases in growth hormone receptor mRNA occur independently of hormone action. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 129, p. 135-147, 1997.

MATSUMURA, Y., DOMEKI, M., SUGAHARA, K., KUBO, T., ROBERTS Jr., C.T., LeROITH, D., KATO, H. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I receptor mRNA levels in growing chickens. **Bioscience, Biotechnology and biochemistry**, v. 60, n. 6, p. 976-982, 1996.

McGUIRE, M.A., BEEDE, D.K., COLLIER, R.J., BUONOMO, F.C., DELORENZO, M.A., WILCOX, C.J., HUTINGTON, G.B., REYNOLDS, C.K. Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lactating Holstein cows. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 2050–2056, 1991.

McMURTRY, J.P., PLAVNIK, I., ROSEBROUGH, R.W., STEELE, N.C., PROUDMAN, J.A. Effect of early feed restriction in male broiler chicks on plasma metabolic hormones

during feed restriction and accelerated growth. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 91A, n. 1, p. 67-70, 1988.

MITRA, R., CHRISTISON, G.I., JOHNSON, H.D. Effect of prolonged thermal exposure on growth hormone (GH) secretion in cattle. **Journal Animal Science**, v. 34, p. 776–779, 1972.

MOHAMMED, M.E., JOHNSON, H.D. Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of Holstein cows exposed to heat stress. **Journal Dairy Science**, v. 68, p. 1123–1133, 1985.

MORISHITA, D., SASAKI, K., WAKITA, M., HOSHINO, S. Effects of fasting on serum insulin-like growth factor-I (IGF-1) levels and IGF-1-binding activity in cockerels. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 139, p. 363-370, 1993.

OHL, F., JUNG, M., RADONIĆ, A., SACHS, M., LOENING, S.A., JUNG, K. Identification and Validation of Suitable Endogenous Reference Genes for Gene Expression Studies of Human Bladder Cancer, **Journal Urology**, Inglaterra, v. 175, p. 1915-1920, 2006.

RHOADS, M.L., RHOADS, R.P., VANBAALE, M.V., COLLIER, R.J., SANDERS, S.R., WEBER, W.J., CROOKER, B.A., BAUMGARD, L.H. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal Dairy Science**, v. 92, p. 1986-1997, 2009.

RHOADS, M.L., KIM, J.W., COLLIER, R.J., CROOKER, B.A., BOISCLAIR, Y.R., BAUMGARD, L.H. RHOADS, R.P. Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 170-179, 2010.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular Cloning: a laboratory manual. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SCANES, C.G., GRIMINGER, P., BUONOMO, F.C. Effects of dietary restriction on circulating concentrations of growth hormone in growing domestic fowl (*Gallus domesticus*). **Experimental Biology Medicine**, v. 168, p. 334-337, 1981.

STRAUS, D.S, TAKEMOTO, C.D. Effect of fasting on insulin like growth factor-I (IGF-I) and growth hormone receptor mRNA levels and IGF-1 gene transcription in rat liver. **Molecular Endocrinology**, v. 4, p. 91-100, 1990.

TOSCA, L., CHABROLLE, C., CROCHET, S. et al. IGF-1 receptor signaling pathways and effects of AMPK activation on IGF-1-induced progesterone secretion in hen granulosa cells. **Domestic Animal Endocrinology**, v 34, p. 204-216, 2007.

VANDERPOOTEN, A., DARRAS, V.M., HUYBRECHTS, L.M., RUDAS, P., DECUYPERE, E., KUHN, E.R. Effect of hypophysectomy and acute GH administration on GH binding to chicken liver membrane. **Journal of Endocrinology**, v. 129, p. 199-205, 1991.

VANDESOMPELE, J., DE PRETER, K., PATTYN, F., POPPE, B., VAN ROY, N., DE PAEPE, A., SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes, **Genome Biology**, Estados Unidos, v. 3 (34), 2002.

ZHAO, R., MUEHLBAUER, E., DECUYPERE, E., GROSSMANN, R. Effect of genotype-nutrition interaction on growth and somatotropic gene expression in the chicken. **General and Comparative Endocrinology**, v. 136, p. 2-11, 2003.

WANG, X., CARRÉ, W., SAXTON, A.M., COGBURN, L.A. Manipulation of thyroid status and/or GH injection alters hepatic gene expression in the juvenile chicken. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 117, p.174-188, 2007.

WERNER, H., WOLOSCHAK, M., ADAMO, M. et al. Developmental regulation of the rat insulin-like growth factor-I receptor gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 86, p. 7451-7455, 1989.

WOLF, M.; INGBAR, S.H.; MOSES, A.C. Thyroid hormone and growth hormone interact to regulate insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid and circulating levels in the rat. **Endocrinology**, v. 125, p. 2905-14, 1989.