



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JOYCE MARIA CORDEIRO CRUZ

**L-TRIPTOFANO EM RAÇÕES DE GALINHAS POEDEIRAS  
EM MUDA FORÇADA**

---

Londrina  
2015

JOYCE MARIA CORDEIRO CRUZ

**L-TRIPTOFANO EM RAÇÕES DE GALINHAS POEDEIRAS  
EM MUDA FORÇADA**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. João Waine Pinheiro

Londrina  
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

C957L Cruz, Joyce Maria Cordeiro.

L-Triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada / Joyce Maria Cordeiro Cruz. – Londrina, 2015.  
99 f. : il.

Orientador: João Waine Pinheiro.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Galinha – Alimentação e rações – Teses. 2. Aminoácidos na nutrição animal – Teses. 3. Ovos – Qualidade – Teses. 4. Nutrição animal – Teses. I. Pinheiro, João Waine. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.085:636.5

JOYCE MARIA CORDEIRO CRUZ

**L-TRIPTOFANO EM RAÇÕES DE GALINHAS POEDEIRAS EM  
MUDA FORÇADA**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. João Waine Pinheiro  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza  
UNOESTE – Presidente Prudente - SP

---

Prof. Dr. Alexandre Oba  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dra. Mara Regina Stipp Balarin  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 24 de fevereiro de 2015.

Aos meus pais, **Joaquim Vieira Cordeiro** e **Mary Araújo Cordeiro** (*in memoriam*), professores incansáveis e dedicados, meu espelho na vida e profissão.

Ao meu esposo, **Eduardo Martins Cruz**, pelo amor, apoio e compreensão.

Aos meus filhos, **Rodrigo Cordeiro Cruz** e **Cristiane Cordeiro Cruz Mendes**, razão da minha vida, orgulho, meu amor maior.

A toda família e amigos, sem seu apoio nada disto seria possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus sempre e por tudo!

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. João Waine Pinheiro, a dedicação e orientação neste trabalho e sobretudo ao apoio nos momentos de desânimo e cansaço ao longo deste caminho.

Ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal da UEL pela oportunidade oferecida.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Cornélio Procopio, que através do seu apoio na realização deste sonho, tornou este caminho menos pesado.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UEL pelos ensinamentos durante esta jornada.

A Prof. Dra. Solange de Paula Ramos do Departamento de Histologia do Centro de Ciências Biológicas da UEL, pela orientação nas análises histológicas e carinho com que sempre me recebeu e orientou.

Ao Prof. Dr Emerson José Venancio, do Departamento de Patologia do Centro de Ciências Biológicas da UEL, pela disposição em ensinar e orientar.

A Prof. Dra Mara Regina Stipp Balarin pelas valiosas sugestões e por ter permitido a realização das análises sanguíneas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UEL.

À Prof. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza, Prof. Dr. Alexandre Oba e Prof. Dr. Leandro das Dores Ferreira da Silva pelas sugestões.

Aos funcionários da Fazenda Escola da UEL que sempre foram gentis e incansáveis no assessorando dos trabalhos de campo.

A zootecnista Natália Stasiak, companheira nas análises dos ovos e ajuda nos trabalhos de campo.

Aos estagiários e futuros zootecnistas Eloá Fernandes, Talita Favareto Casini e Yuri Brovino, que auxiliaram no trabalho experimental, sempre com muita disposição.

Aos funcionários do Departamento de Patologia Aviária do Hospital Veterinário da UEL, principalmente a Dr. Kerley Cristina Medici, que auxiliaram nas coletas de sangue, abate e evisceração dos animais.

Aos funcionários e residentes do Laboratório de Histopatologia do Hospital Veterinário da UEL, pela orientação na preparação das lâminas histológicas.

A amiga Giselle de Assis Jacometti, companheira nas incontáveis viagens de Cornélio Procópio a Londrina, pelo apoio e carinho.

A todos aqueles que estiveram presentes neste caminho longo, cansativo e difícil, cujos resultados não seriam alcançados sem o apoio deles.

*“A idade não trás sabedoria somente pelo  
passar dos anos, simplesmente dá mais  
tempo e oportunidade de aprender  
sempre.”*

CRUZ, J.M.C. **L-Triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada**. 2015. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das inclusões de L-triptofano (L-Trp) na ração de muda, sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos, parâmetros hematológicos e histologia do baço de galinhas poedeiras durante a muda forçada e no período pós-muda. Um total de 160 galinhas poedeiras Leghorn brancas com 100 semanas de idade foram submetidas a um programa de muda forçada de 42 dias e a um segundo ciclo de postura de 112 dias. Nos primeiros 17 dias da muda os tratamentos experimentais consistiram de cinco rações, caracterizadas por uma ração basal-1 com quatro inclusões de L-Trp (0,043, 0,086, 0,129 e 0,172%), totalizando rações com 0,110; 0,152; 0,195; 0,238 e 0,280% de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 60g/ave/dia. Do 18º ao 42º dias da muda os tratamentos consistiram de uma ração basal-2 com as mesmas inclusões de L-Trp, totalizando rações com 0,120; 0,162; 0,205; 0,248 e 0,290% de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 100g/ave/dia. A partir do 43º dia as poedeiras foram alimentadas à vontade com uma mesma ração de postura. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 8 aves cada. Os tratamentos experimentais não tiveram efeitos na mortalidade, peso corporal, número de dias para parada de postura (PP), número de dias para retorno a postura (RP), desempenho produtivo, qualidade dos ovos, glicemia e parâmetros do eritrograma durante a muda forçada e no segundo ciclo de postura. As inclusões de L-Trp mantiveram os valores de leucócitos e de linfócitos durante a muda semelhantes aos valores do Dia 0 (D0 – Testemunha), não havendo efeito dos tratamentos sobre estes dois parâmetros no segundo ciclo de postura. Não houve efeito dos tratamentos experimentais sobre a relação heterófilo:linfócito durante a muda, havendo redução significativa dos valores deste parâmetro no segundo ciclo de postura para as inclusões de 0,086; 0,129 e 0,172% de inclusão de L-Trp nas rações durante a muda. Foi observada resposta linear no número de heterófilos no 42º dia da muda e resposta quadrática no 112º dia do segundo ciclo de postura com valor mínimo para a inclusão estimada de 0,157% de L-Trp. A inclusão de 0,086% de L-Trp nas rações de muda aumentaram a área relativa de polpa branca do baço. Considerando os valores da relação heterófilos:linfócitos no segundo ciclo de postura e o aumento da área relativa de polpa branca do baço durante a muda, conclui-se que a inclusão de 0,086% de L-Trp nas rações durante a muda forçada foi a mais eficiente.

**Palavras-chave:** Aminoácidos. Desempenho. Imunidade. Parâmetros sanguíneos. Qualidade do ovo.

CRUZ, J.M.C. **L-Tryptophan in feeds to laying hens in forced molting**. 2015. 99 p. Thesis. (Doctorate in Animal Science) – Londrina State University, Londrina, 2015.

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of L-tryptophan inclusions (L-Trp) in the diet of molt, on performance, egg quality, hematological parameters and histology of the spleen of laying hens during the forced molt and in the post-molt. One hundred and sixty white Leghorn hens of 100 weeks of age were subjected to a forced molt program of 42 days and a laying second cycle of 112 days. In the first 17 days of the molt the experimental treatments consisted of five diets, characterized by a basal-1 diet with four L-Trp inclusions (0.043, 0.086, 0.129 and 0.172%), totalizing diets with 0.110; 0.152; 0.195; 0.238 and 0.280% digestible tryptophan provided the diets in the amount of 60 g / bird / day. From 18<sup>th</sup> to 42<sup>th</sup> days of molt the treatments consisted of a basal-2 diet with the same inclusions of L-Trp, totalizing diets with 0.120; 0.162; 0.205; 0.248 and 0.290% digestible tryptophan, provided the diets in the amount of 100g / bird / day. From the 43<sup>th</sup> day, laying hens had been fed *ad libitum* with the same posture diet. The experimental design was completely randomized, with four replications of eight birds. During molt and second laying cycle the treatments had not effects on: mortality, body weight, number of days for laying stop (SL), number of days to return the laying (RL), production performance, egg quality, blood glucose and erythrocyte parameters. The L-Trp inclusions maintained the values of leukocytes and lymphocytes during molt similar to those of the day zero (D0, control), there is no effect of the treatments for these two parameters in the second laying cycle. No effects of experimental treatments on the heterophil: lymphocyte during molting, there was a significant reduction in the value of this parameter in the second laying cycle for the inclusions of 0.086; 0.129 and 0.172% inclusion of L-Trp in feed during molting. Linear response was observed in the number of heterophil on the 42<sup>th</sup> day of molt and quadratic response on the 112<sup>th</sup> day of the second laying cycle with minimum value for the inclusion of estimated 0.157% L-Trp. Inclusion of 0.086% L-Trp in the feed of molt increased the relative area of the white pulp of the spleen. Considering the the relationship of values heterophil: lymphocyte in the second laying cycle and the increase of the relative area of the white pulp of the spleen during molting it can be concluded that the inclusion of 0.086% L-Trp in feeds during the forced molting was more efficient.

**Key words:** Aminoacids. Blood parameters. Egg quality. Immunity. Performance.

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

<b>Figura 1</b> – Estrutura espacial do Triptofano .....	26
<b>Figura 2</b> – Formação da serotonina e melatonina a partir do Triptofano .....	27
<b>Figura 3</b> – Vias metabólicas do Triptofano .....	28

### ARTIGO 1

<b>Figura 1</b> – Efeito de regressão das inclusões de Trp durante a muda forçada sobre a PC (% de casca) dos ovos no segundo ciclo de postura .....	53
<b>Figura 2</b> – Efeito de regressão das inclusões de Trp durante a muda forçada sobre a uH (unidade Haugh) no segundo ciclo de postura.....	54

### ARTIGO 2

<b>Figura 1</b> – Glicemia ( $\text{mgdL}^{-1}$ ) das poedeiras no D0, 17 <sup>o</sup> e 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada e no segundo ciclo de postura.....	66
<b>Figura 2</b> – Eritrograma nos períodos analisados (a) He (Número de hemácias, milhões $\mu\text{L}^{-1}$ ); (b) Hb (Concentração de hemoglobina, g $\text{dL}^{-1}$ ); (c) VG (Volume globular, %); (d) VCM (Volume corpuscular médio, fL); (e) HCM (Hemoglobina corpuscular média, pg); (f) CHCM (Concentração da hemoglobina corpuscular média, %) .....	67
<b>Figura 3</b> – Efeito de regressão para o número de hemácias (milhões $\mu\text{L}^{-1}$ ) no 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada.. .....	68
<b>Figura 4</b> –Leucograma nos períodos analisados. (a) Número de leucócitos totais ( $\text{n } \mu\text{L}^{-1}$ ); (b) Heterófilos ( $\text{n} \mu \text{L}^{-1}$ ); (c) Linfócitos ( $\text{n } \mu\text{L}^{-1}$ ); (d) Relação heterófilo: linfócito (H:L).. .....	70
<b>Figura 5</b> – Efeitos de regressão para o número de leucócitos totais ( $\text{n } \mu\text{L}^{-1}$ ). (a) Efeito no 17 <sup>o</sup> dia da muda forçada; (b) Efeito no 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada .....	71
<b>Figura 6</b> – Efeitos de regressão para o número de heterófilos ( $\text{n} \mu \text{L}^{-1}$ ). (a) Efeito linear no 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada; (b) Efeito quadrático no 112 <sup>o</sup> dia do segundo ciclo de postura .....	72

<b>Figura 7</b> – Efeitos de regressão quadrático para o número de linfócitos. (n $\mu\text{L}^{-1}$ ). (a) Efeito no 17 <sup>o</sup> dia da muda forçada; (b) Efeito no 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada. ....	73
<b>Figura 8</b> – Áreas relativas (%) nos períodos analisados. (a) Polpa branca e (b) Polpa vermelha do baço de galinhas poedeiras suplementadas com diferentes inclusões de L-Trp durante o período de muda forçada .....	74
<b>Figura 9</b> - Fotomicrografias com cortes histológicos do baço de galinhas poedeiras (corados com hematoxilina e eosina). A: Dia 0 (controle); B: 17 <sup>o</sup> dia da muda forçada – Ração basal + 0,086% de Trp. C: 42 <sup>o</sup> dia da muda forçada – Ração basal + 0,086% de Trp.....	75
<b>Figura 10</b> – Efeito de regressão para área relativa (%) no 17 <sup>o</sup> dia da muda forçada: (a) Polpa branca e (b) Polpa vermelha dos baços das poedeiras. ....	75
<b>Figura 11</b> – Fotomicrografias com cortes histológicos do baço de galinhas poedeiras (corados com hematoxilina e eosina). <b>A:</b> D0 (controle); <b>B:</b> 112 <sup>o</sup> dia do segundo ciclo de postura – ração basal sem inclusão de Trp.. ....	77
<b>Figura 12</b> – Efeito de regressão da área relativa (%) no 112 <sup>o</sup> dia do segundo ciclo de postura. (a)Polpa branca e (b)Polpa vermelha dos baços de galinhas poedeiras .....	77

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

<b>Tabela 1</b> – Composição das rações experimentais fornecidas entre o 1º e 17º dias da muda forçada. ....	42
<b>Tabela 2</b> – Composição das rações experimentais fornecidas entre o 18º e 42º dias da muda forçada. ....	43
<b>Tabela 3</b> – Composição da ração fornecida no segundo ciclo de postura .....	44
<b>Tabela 4</b> – Peso corporal das poedeiras ao final dos períodos experimentais avaliados.....	47
<b>Tabela 5</b> – Variações de peso corporal das poedeiras durante os períodos experimentais avaliados.....	47
<b>Tabela 6</b> – Consumo de ração (CR), consumo de triptofano digestível (CTrp), peso do ovo (PO), gravidade específica (GE) e parada de postura (PP) das poedeiras durante a primeira fase da muda forçada (1 a 17 dias) .....	49
<b>Tabela 7</b> – Consumo de ração (CR), consumo de triptofano (CTrp), peso do ovo (PO), gravidade específica (GE) e retorno a postura (RP) das poedeiras durante a segunda fase da muda forçada (18 a 42 dias).. .....	50
<b>Tabela 8</b> – Consumo de ração (CR), % de postura, peso dos ovos (PO), massa de ovos (MO), conversão alimentar por massa de ovos (CAM) e conversão alimentar por dúzia de ovos (CAD) no segundo ciclo de postura. ....	51
<b>Tabela 9</b> – Gravidade específica (GE), espessura da casca (EC), porcentagem de casca (PC), unidade Haugh (uH), porcentagem de gema (PG) e porcentagem de albúmen (PA) no segundo ciclo de postura.....	52

### ARTIGO 2

<b>Tabela 1</b> – Composição das rações experimentais fornecidas entre o 1º e 17º dias da muda forçada. ....	61
<b>Tabela 2</b> – Composição das rações experimentais fornecidas entre o 18º e 42º dias da muda forçada. ....	62
<b>Tabela 3</b> – Composição da ração fornecida no segundo ciclo de postura .....	63
<b>Tabela 4</b> – Médias e desvio padrão de glicose sanguínea ( $\text{mg dL}^{-1}$ ) de galinhas poedeiras no dia D0, 17º e 42º da muda e no segundo ciclo de postura.....	65

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1	PROGRAMAS DE MUDA FORÇADA E SEGUNDO CICLO DE POSTURA.....	15
2.2	SISTEMA REPRODUTOR, FORMAÇÃO DO OVO E REGULAÇÃO NEUROENDÓCRINA.....	18
2.3	SISTEMA IMUNE DAS GALINHAS .....	21
2.4	SUPLEMENTAÇÃO DE TRIPTOFANO PARA GALINHAS POEDEIRAS.....	25
2.5	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	38
3.1	OBJETIVO GERAL .....	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
<b>4</b>	<b>ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO</b> .....	39
4.1	ARTIGO 1. L-TRIPTOFANO EM RAÇÕES DE GALINHAS POEDEIRAS EM MUDA FORÇADA COM ALIMENTAÇÃO RESTRITA – EFEITOS NO DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS.....	40
4.1.1	Introdução.....	41
4.1.2	Material e Métodos.....	41
4.1.3	Resultados e Discussão.....	46
4.1.4	Conclusões.....	55
4.1.5	Referências .....	55
4.2	ARTIGO 2. L-TRIPTOFANO EM RAÇÕES DE GALINHAS POEDEIRAS EM MUDA FORÇADA COM ALIMENTAÇÃO RESTRITA – PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E HISTOLOGIA DO BAÇO .....	58
4.2.1	Introdução.....	60
4.2.2	Material e Métodos .....	60
4.2.3	Resultados e Discussão.....	64
4.2.4	Conclusões.....	78
4.2.5	Referências Bibliográficas.....	78

<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>84</b>
	ANEXO A – Médias e desvios-padrão dos parametros analisados no Artigo 2 .....	85
	ANEXO B – Normas para preparação de artigos científicos para publicação na Revista Semina .....	92

## 1 INTRODUÇÃO

A moderna avicultura de postura caracteriza-se pela intensificação dos processos de criação, aumento no volume de produção e eficiência técnico-econômica do investimento (RUBIN, 2007).

A indução das galinhas poedeiras a um novo ciclo produtivo por meio da muda forçada é uma prática zootécnica comum e uma necessidade da indústria avícola, que visa o melhor aproveitamento destas aves e a redução nos custos de produção (MURAKAMI et al., 2003). Segundo Webster (2003), a privação alimentar foi adotada como melhor método para a indução da muda forçada em galinhas poedeiras por ser o de mais fácil aplicação e o que apresenta melhores resultados. No entanto, este método tem sido questionado por ser estressante, podendo causar danos metabólicos e fisiológicos irreparáveis no organismo das aves, pois constitui um período de esvaziamento do sistema digestivo, perda de peso e parada reprodutiva (PARK et al., 2004). Tem-se pesquisado métodos alternativos de indução da muda forçada, que envolvem alterações no regime de alimentação, em quantidade e/ou qualidade, uso de componentes químicos e de hormônios, mas sem jejum alimentar. No entanto, estes métodos devem ser avaliados com mais profundidade a fim de garantir a produção, a saúde e o bem-estar animal (MAZZUCO et al., 2011).

A utilização da alteração do regime de alimentação, em quantidade e qualidade, na indução da muda tem sido utilizada com bastante sucesso em galinhas poedeiras (MAZZUCO et al., 2011). Contudo, não se sabe ao certo se os efeitos estressantes desta restrição alimentar podem ser superados por meio do fornecimento de nutrientes específicos nesta ração (RIBEIRO et al., 2008).

O aminoácido triptofano é um componente nutricional importante para as galinhas poedeiras, atuando em diversos processos e sistemas metabólicos e fisiológicos, constituindo nutriente fundamental para o seu crescimento, manutenção, produção e saúde (CASTRO et al., 2000). Além de atuar na função produtiva das galinhas (ROSTAGNO et al., 2011), o triptofano é precursor da serotonina, um neurotransmissor ligado à sensação de bem estar (CORZO et al., 2005), participando também de diversas outras substâncias corporais como a melatonina, triptamina, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>) e fosfato de NAD (NADP<sup>+</sup>), além de suprir as necessidades de ácido nicotínico (SAINIO et al., 1996).

São escassos os estudos sobre as recomendações nutricionais para galinhas poedeiras em muda forçada sem privação de alimento, bem como os efeitos da alimentação na muda no desempenho produtivo da galinha no ciclo de postura posterior (SCHMIDT et al.,

2010). Considerando os efeitos biológicos do triptofano, a inclusão deste aminoácido poderia reduzir o estresse da galinha poedeira durante a muda forçada, melhorando o desempenho, a qualidade dos ovos e o seu sistema imunológico.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho produtivo, a qualidade dos ovos, os parâmetros hematológicos (glicemia e hemograma) e as áreas relativas de polpa branca e de polpa vermelha do baço de galinhas poedeiras alimentadas com rações contendo diferentes inclusões de L-triptofano durante a muda forçada sem privação alimentar, bem como os efeitos destas inclusões no segundo ciclo de postura.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PROGRAMAS DE MUDA FORÇADA E SEGUNDO CICLO DE POSTURA

Atualmente a galinha de postura tem um potencial de produzir 360 ovos em um período de postura de 62 semanas, conforme o manual de uma linhagem comercial. Devido principalmente ao desgaste do sistema reprodutivo, na medida em que esta galinha envelhece os seus índices de produtividade e de qualidade dos ovos decaem (MURAKAMI et al., 2003). Assim, ao final do período de postura, o avicultor pode decidir se envia a poedeira velha para o abatedouro ou se prolonga a sua vida produtiva, submetendo-a a mais um ciclo produtivo, através do manejo da muda forçada.

A muda forçada, ou muda induzida, prática zootécnica comumente utilizada em granjas produtoras de ovos de galinha, tem por finalidade melhorar as condições físicas e fisiológicas da galinha em final de postura, por meio da recuperação do seu sistema reprodutivo que, após passar por um período de repouso, tem, em parte, a sua capacidade reprodutiva restaurada (PARK et al., 2004), adiando os custos decorrentes da formação de uma nova poedeira (SOUZA et al., 2010).

O método tradicional de aplicar a muda forçada consiste na retirada total do alimento e da iluminação artificial por 7 a 14 dias, causando perda de peso corporal e pausa reprodutiva, com posterior realimentação para indução a um novo período produtivo (AYGÜN; YETISIR, 2013). De acordo com Webster (2003), este método é o que traz os melhores resultados no ciclo de postura subsequente. No entanto, este sistema de indução da muda tem sido criticado, pois seus críticos afirmam ser o mesmo estressante, causador de sofrimento, podendo levar ao organismo danos metabólicos e fisiológicos irreparáveis (PARK et al., 2004).

O jejum alimentar causa esvaziamento do sistema digestivo, alterando as condições do microambiente do papo e do ceco (RICKE, 2003; PARK et al., 2004), além da perda de peso e parada reprodutiva (PARK et al., 2004). A privação alimentar provoca uma depressão do estado imunológico e, por conseguinte, a ocorrência de problemas sanitários. Sabe-se que em aves as bactérias patogênicas atingem a parte baixa do trato digestivo após vencerem a barreira do pH do papo, principalmente durante a privação total de alimento, quando este estará vazio e o pH do seu ambiente tende a ser menos ácido (TEIXEIRA; CARDOSO, 2011).

Os outros métodos de muda forçada utilizados atualmente compreendem o uso do controle quantitativo e/ou qualitativo da alimentação (DONALSON et al., 2005; AYGÜN; YETISIR, 2009; 2013) ou de alterações das concentrações de minerais na ração, como sódio (FRANZO et al., 2008), zinco (ABO ELOUUN, 2009) e cálcio (DICKEY et al., 2012), sendo menos estressantes e apresentando resultados similares ao método de jejum alimentar.

Os órgãos reprodutores das galinhas são orientados pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (MACARI; FURLAN, 1993). A diminuição de componentes no substrato circulante, decorrente do jejum alimentar da muda forçada, principalmente os aminoácidos, proporciona redução na secreção dos hormônios gonadotróficos, levando a atrofia do ovário e do oviduto (SOUZA et al. 2010; MAZZUCO, et al. 2011).

Segundo Webster (2003) as respostas fisiológicas e comportamentais das galinhas submetidas a longos períodos de privação de alimento podem ser divididas em três fases. A primeira tem a duração de alguns dias e se caracteriza por ajustes fisiológicos e metabólicos do organismo, diminuindo o catabolismo de proteínas e o gasto de energia. Há elevação temporária da corticosterona no plasma, o que promove a gluconeogênese, mantendo os níveis de glicose plasmática normal no início do manejo. A corticosterona elevada estimula o estado de alerta destas aves nas primeiras 48 horas do jejum da muda, ocasionando aumento na agressividade. Na segunda fase, que é a mais longa, as proteínas corporais são poupadas e os lipídios são catabolizados para fornecer energia, ocorrendo severa perda de peso corporal. As galinhas demonstram comportamento de repouso durante esta fase. A terceira fase começa quando o catabolismo protéico é acelerado, se caracterizando pela redução na atividade física. Portanto, a resposta fisiológica gradual à privação alimentar aperfeiçoa o processo entre a necessidade de manter constantes os níveis basais de nutrientes para sustentar a atividade vital e a necessidade de preservar as estruturas do corpo consideradas críticas, como músculos e órgãos.

A redução do peso corporal e dos órgãos dos sistemas digestório e reprodutivo, advindos da restrição alimentar da muda, podem comprometer o desempenho produtivo e reprodutivo da galinha no novo ciclo de postura, pois o organismo da ave pode não se recuperar inteiramente das alterações decorrentes deste manejo (SOUZA et al., 2010). As respostas metabólicas e fisiológicas ao estresse da muda podem ser medidas por meio do monitoramento da produção e qualidade dos seus ovos, de parâmetros ósseos, sanguíneos e comportamentais (MAZZUCO et al., 2009; 2011) e também imunológicos (KHODADADI et al., 2008; ABO ELOUUN, 2009), antes, durante e após o seu procedimento.

O entendimento das interações entre a nutrição, manejo e saúde é particularmente importante na busca da produtividade das aves (RUBIN, 2007). No entanto, não se sabe se os efeitos prejudiciais do estresse da restrição alimentar quantitativa e/ou qualitativa na muda forçada podem ser superados por meio do fornecimento de nutrientes específicos nas rações utilizadas neste período (RIBEIRO et al., 2008).

Avaliando métodos alternativos de manejo alimentar na muda forçada, Souza et al. (2010) concluíram que a restrição da ração em 50%, em relação ao consumo à vontade, se mostrou a mais indicada, considerando principalmente as condições de bem estar, facilidade de manejo e os resultados produtivos no segundo ciclo de postura.

Yousaf et al. (2008) ao avaliarem os efeitos de diferentes sistemas de manejo alimentar durante a muda induzida sobre a produção de ovos no ciclo de postura subsequente, verificaram que o melhor resultado foi para as galinhas alimentadas com uma ração contendo 0,35% de sulfato de cobre fornecida na quantidade de 35g de ração/dia nos primeiros 14 dias de muda e 45 g de ração/dia nas cinco semanas seguintes, quando comparadas com aves que permaneceram os primeiros 14 dias com privação total de alimento.

Apesar da muda forçada trazer benefícios produtivos às aves no novo ciclo de postura, a sua aplicação pode não ter efeito sobre alguns parâmetros fisiológicos importantes, principalmente os ligados à resposta imunológica. Neste sentido, Barua et al. (2001) verificaram que galinhas com 74 semanas de idade submetidas a privação total de alimento durante a muda tiveram a concentração da IgY no soro sanguíneo aumentada nos primeiros quatro dias de postura pós-muda, com queda após o décimo dia, retornando à mesma concentração da fase de pré-muda.

Abo Elouun (2009) comparou dois manejos alimentares (alfafa e zinco) em galinhas poedeiras submetidas a muda forçada, frente a um grupo testemunha, que não foi submetido a muda. Os autores encontraram elevação na IgY no soro sanguíneo das galinhas submetidas aos tratamentos experimentais, causada pela queda da secreção de estrogênio, como também elevação nas médias dos leucócitos e na relação heterófilo:linfócito, evidenciando estarem estressadas.

Testando sistemas de alimentação alternativos ao jejum alimentar durante a muda, Mazzuco et al. (2011), determinaram aumento da produção de ovos e na qualidade da casca dos ovos das galinhas com 80 semanas de idade no segundo ciclo reprodutivo, quando comparadas com as aves que não foram submetidas a muda. Determinou também que a relação heterófilos:linfócitos das galinhas submetidas à muda aumentou quando comparado

ao grupo controle (sem muda), evidenciando respostas de adaptação fisiológica ao processo de muda. Os autores concluem que há a possibilidade de submeter as galinhas à muda forçada sem a necessidade do uso do jejum alimentar.

## 2.2 SISTEMA REPRODUTOR, FORMAÇÃO DO OVO E REGULAÇÃO NEUROENDÓCRINA

O trato reprodutivo da galinha se divide em duas partes, ovário e oviduto. O ovário se caracteriza pela existência de numerosos folículos em diferentes estágios de desenvolvimento, contidos no interior de uma membrana folicular. Cada folículo é ligado ao ovário por um pedículo irrigado por duas a quatro artérias que formam uma rede capilar em torno da camada basal do ovário (POLLOCK; OROSZ, 2002).

O oviduto é dividido em cinco partes, infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina. O infundíbulo é a abertura proximal do oviduto e tem formato de funil. Na sua parte posterior apresenta uma região tubular chamada região chalazífera, que secreta uma fina camada de albúmen denso, a chalaza, que circunda a gema. O óvulo passa através do infundíbulo em aproximadamente 15 minutos. O magno é o local onde a maioria da albumina é adicionada ao ovo. No istmo são formadas as duas membranas da casca (interna e externa), havendo também a adição de uma pequena quantidade de proteína na clara e o início da calcificação da casca. Somente no istmo existem glândulas que assimilam aminoácidos que contém enxofre na sua estrutura, que são importantes para a produção das membranas da casca. O útero é composto de duas regiões anatomicamente distintas, cranial e distal. A porção cranial (curta) é responsável pela adição de água e eletrólitos à albumina, ocorrendo em seguida a calcificação da casca. A porção distal é semelhante a uma bolsa onde o ovo permanece até estar pronto para a ovipostura. O útero tem uma notável capacidade de extrair grandes quantidades de cálcio da corrente sanguínea, o que exige a liberação de cálcio armazenado nos ossos longos. A vagina é o canal para o ovo passar do oviduto à cloaca. A cloaca é comum ao aparelho reprodutor, urinário e digestivo (POLLOCK; OROSZ, 2002).

A hipófise anterior é indispensável ao desenvolvimento e manutenção da atividade do ovário e do oviduto das galinhas. Tal como nos mamíferos, nas galinhas existem dois hormônios hipofisários atuantes, o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). O ovário secreta três famílias de hormônios, estrógenos, andrógenos e progesterona (RUTZ et al., 2007)

Segundo Cardoso (2012), o hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRh), hormônio polipeptídico produzido no hipotálamo, transmite mensagens à hipófise para liberar

as gonadotrofinas, FSH e LH. A função do FSH é atuar nos folículos ovarianos, promovendo seu crescimento e proporcionando um meio adequado ao desenvolvimento dos óvulos (oócitos). O LH atua principalmente na iniciação do mecanismo de ovulação. Quando aumenta a concentração de LH no sangue, o folículo se rompe e libera o óvulo. Para Pollock e Orosz (2002), a ovulação ocorre sob influência multifatorial, sendo precedida por um pico de LH que ocorre num período de tempo relativamente fixo depois da oviposição ou ovipostura. Em galinhas, uma nova ovulação ocorre aproximadamente meia hora depois de um ovo ser posto.

Os estrógenos são abundantemente secretados no início da vida reprodutiva das poedeiras, já tendo valores séricos elevados duas semanas antes da primeira ovulação, induzindo a síntese protéica e lipídica da gema (RUTZ et al., 2007).

O fígado da galinha em reprodução sintetiza aproximadamente 2,5 g de proteína por dia, mediada pelo estrogênio, que age induzindo a codificação de ácidos nucléicos específicos e aumentando a massa do tecido hepático. As lipoproteínas específicas são sintetizadas constantemente, fazendo com que haja um fluxo contínuo do fígado para o ovário, via circulação sanguínea, de componentes que vão constituir a gema (POLLOCK; OROSZ, 2002).

De acordo com Donalson et al. (2005), durante a muda ocorre perda de peso do fígado reduzindo assim fontes de energia como glicogênio e lipídios, que são metabolizados no órgão. Isto é indicativo também da redução da síntese de componentes do ovo que são estrógeno dependentes. Quando as aves recebem rações com maior teor de energia no período pós-muda, ocorre o aumento do tamanho do fígado, com o aumento na síntese de esteróides ovarianos e maior síntese de componentes do ovo.

A alimentação influencia o funcionamento do fígado e o teor de alguns componentes da gema, ou seja, alterações alimentares ou no funcionamento hepático podem repercutir na composição da gema. A síntese da fosfolipoproteína da gema é dependente da síntese de estrogênio, que depende do funcionamento do fígado (DONALSON et al., 2005)

A gema do ovo é constituída por uma emulsão de água, lipídios, lipoproteínas, proteínas, minerais, vitaminas e pigmentos, sendo alguns destes componentes translocados do fígado ao interior da membrana folicular, no ovário, conjugados a proteínas transportadoras, via circulação sanguínea. A concentração total de sólidos da gema é de aproximadamente 50% do seu peso, podendo variar com a idade da ave, sendo as gorduras, as proteínas e as lipoproteínas os seus maiores constituintes. O plasma da gema é constituído por uma fração lipoproteica de densidade muito baixa (33%) e por outra fração solúvel em água

(5%), que contém levitinas, que são proteínas globulares livres de gordura, incluindo a  $\gamma$ -levitina, também conhecida como IgY (LI-CHAN et al., 1995). A IgY é o anticorpo predominante no soro sanguíneo das galinhas (4,5 a 5,0 mg/mL) e corresponde a IgG dos mamíferos, sendo transferida para a gema do ovo por um processo mediado por receptores ativos localizados na membrana do folículo ovariano maduro (MOHAMMED et al. 1998; MORRISON et al. 2001).

Como todo o sistema reprodutivo encontra-se sob controle neuroendócrino do eixo hipotálamo-hipófise anterior por meio da mediação dos hormônios GnRH, FSH e LH, que em situações de estresse, como a muda forçada, podem alterar o desenvolvimento e funcionamento das gônadas e conseqüentemente a produtividade em galinhas poedeiras (BARUA et al., 2000). Devido à presença de receptores, as células da granulosa dos folículos são os locais-alvos para o estrogênio. Os pequenos folículos do ovário constituem a principal fonte de estrogênio sendo a capacidade esteroidogênica deles regulada pelas gonadotropinas. A sensibilidade destes folículos ovarianos às gonadotropinas, bem como a sua taxa de crescimento diminuem com o envelhecimento, levando à menor produção de estrogênio e redução no recrutamento e maturação folicular, sugerindo que o envelhecimento e os esteróides gonadais afetam as funções foliculares.

A muda constitui um estresse crônico para as galinhas poedeiras, principalmente durante a fase de restrição alimentar, cuja finalidade é o descanso reprodutivo por meio da perda de peso e involução dos ovários (DAVIS et al., 2000). Na comparação entre sistemas de alimentação na muda, Landers et al. (2008), encontraram redução significativa no peso do ovário e do oviduto das galinhas submetidas a uma alimentação somente com alfafa moída à vontade ou a jejum completo por 9 dias. Para Khajali et al. (2008) a regressão do ovário e do oviduto estaria associado a menor atividade estrogênica, advinda da redução da secreção de GnRh, FSH e LH na muda, causada pelo aumento da secreção de glicocorticóides. Segundo Abo Elouun (2009), independente do sistema de manejo alimentar na muda, a perda de peso nos órgãos reprodutivos é proporcional a perda de peso corporal, sugerindo que a remoção da gordura acumulada aumenta a eficiência dos tecidos e melhora o desempenho produtivo no ciclo de postura subsequente.

Segundo Lima et al. (2012), a formulação de rações baseadas em aminoácidos, propiciam melhores condições metabólicas às aves, assim os aminoácidos podem ser considerados nutrientes funcionais. Dados histológicos provenientes de pesquisas realizadas pelos autores avaliando níveis crescentes de triptofano digestível em rações de poedeiras leves mostrou que este, em concentrações acima de 0,183% na ração, causou efeito

no magno, que apresentou dobras mais ramificadas e ativas, produzindo mais muco, o que agilizou a passagem do ovo pelo oviduto, sendo que o útero destas aves apresentou dobras secundárias mais ativas e com hiperplasia do epitélio, permitindo a formação de casca de melhor qualidade. Quando fixaram a relação Trp:Lys em 24,5%, o aumento dos níveis de Trp digestível proporcionou maior produção de albúmen, o que atribuíram a uma maior atividade das glândulas tubulares do magno. Observaram também aumento da capacidade absorptiva nos intestinos, o que melhorou a utilização dos nutrientes. Os autores concluíram que os efeitos gerados pela inclusão dos aminoácidos nas dietas vão além da melhoria dos índices zootécnicos, estando também associados a efeitos metabólicos e fisiológicos.

### 2.3 SISTEMA IMUNE DAS GALINHAS

O sistema imunológico que se divide em sistema imune inato e sistema imune adaptativo, constitui o principal mecanismo de defesa do organismo da galinha contra agentes agressores, compreendendo órgãos e células especializadas (CAMPBELL, 2004)

O sistema imune inato é constituído pelas barreiras físicas, mecânicas, bioquímicas, sistema fagocítico, células citotóxicas naturais, sistema complemento e citocinas. O sistema imune adaptativo é composto de órgãos e células linfóides. Os leucócitos, trombócitos e eritrócitos são gerados na medula óssea, que é também o local onde os eritrócitos, os heterófilos, basófilos, eosinófilos e monócitos sofrem o processo de desenvolvimento e maturação e migram para a circulação sistêmica e para tecidos e órgãos linfóides secundários (FERRO et al., 1994, MACARI et al., 2002; CAMPBELL, 2004).

Os heterófilos das aves são células funcionalmente semelhantes aos neutrófilos dos mamíferos (ETO, 2010). Apresentam núcleo segmentado (dois a três lóbulos), com heterocromatina formando massa densa e seus grânulos citoplasmáticos específicos são elípticos e esféricos de coloração acidófila (MACARI et al., 2002; CAMPBELL, 2004). Os heterófilos são as primeiras células a migrarem para o sítio inflamatório, além de realizarem fagocitose, também produzem citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8). Estas citocinas apresentam propriedades quimiotáticas e induzem a maturação e diferenciação dos leucócitos em aves (FERRO et al., 1994). Gross e Siegel (1983) relacionaram o aumento do número de heterófilos no sangue de galinhas como indicativos de estresse elevado.

Nas aves, os órgãos linfóides primários, timo e bursa de Fabricius, produzem, amadurecem e diferenciam os linfócitos em T (LT) e B (LB), que adquirem

competência ao expressarem seus receptores específicos, TCR (receptor da célula T) e BCR (receptor da célula B), respectivamente. Os tecidos linfóides secundários são o baço, localizado na região dorsal ao proventrículo, as tonsilas cecais e as placas de Peyer, localizadas na região do íleo, os tecidos linfóides associados às mucosas (MALTs), presentes no proventrículo, pulmões e pele, os nódulos linfóides epidérmicos, os tecidos linfóides associados ao trato reprodutivo, infundíbulo e mucosa vaginal e a glândula de Harder (ETO, 2010; ANDRADE, 2011). Como nas galinhas não são encontrados linfonodos (SCOTT, 2004), o baço é o principal órgão linfóide secundário nesta espécie. Nestes órgãos e tecidos também estão presentes células não linfóides, como macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, basófilos e heterófilos. Vale ressaltar a participação de um *pool* de células que recirculam para órgãos e tecidos (DELVES et al., 2011; ABBAS et al., 2012).

Na imunidade adaptativa, o sistema imune deve reconhecer as substâncias exógenas de forma específica, responder a estas substâncias e memorizá-las em caso de novas exposições (ANDRADE, 2011). Pode ser dividida em imunidade adaptativa humoral, que é caracterizada pela produção de anticorpos em resposta a um antígeno, e em imunidade celular ou mediada por células por meio de reações citotóxicas e fagocitose (RIQUELME SALAZAR, 2006).

Klasing (1998) cita que fatores relacionados à genética, à frequência da exposição a patógenos, bem como a eficácia dos programas de vacinação, são determinantes na incidência ou não de doenças em aves. Schade et al. (2005) afirmaram que a qualidade e a quantidade da resposta de anticorpos em aves dependem de diversos fatores, entre estes a nutrição e o manejo.

As galinhas poedeiras, à semelhança dos demais vertebrados, produzem anticorpos específicos para proteção contra organismos invasores. Uma vez estimuladas por antígenos e com assistência apropriada das células T-helper, as células B se diferenciam em plasmócitos produtores de anticorpos. Todavia, o desenvolvimento destas células é diferente quando comparado ao dos mamíferos. (TIZARD, 2002).

As células B precursoras, originadas das células tronco, crescem primeiramente no saco vitelino e, subsequentemente, na medula óssea. Essas células pré-B migram da medula óssea para a bursa de Fabricius, localizada próximo à cloaca (TIZARD, 2002). A bursa de Fabricius alcança seu tamanho máximo entre 8-10 semanas após o nascimento e involui gradativamente com a idade da ave (CIRIACO et al., 2003). Ela não é indispensável para a produção de moléculas de anticorpos, mas apresenta papel crítico na criação, diversificação e expansão do repertório dessas moléculas. A diversificação, isto é, o

desenvolvimento do repertório de anticorpos, ocorre dentro dos folículos bursais, por um processo chamado conversão gênica (RATCLIFFE, 2006).

Somente após o amadurecimento no microambiente bursal, as células B migram para os órgãos linfóides secundários como o baço, onde podem encontrar antígenos externos e secretar anticorpos. Dependendo do antígeno e do ensaio sorológico utilizado, os anticorpos específicos são usualmente detectados no soro entre 4 a 8 dias após a sua administração (TIZARD, 2002).

O baço é um órgão linfóide secundário que armazena os linfócitos provenientes dos órgãos linfóides primários. Assim como nos mamíferos, o baço das aves responde a antígenos presentes na circulação sanguínea, além de ser responsável pela seleção e destruição de hemácias envelhecidas (JEURISSEN, 1991; JOHN, 1994; SCOTT, 2004). Morfologicamente apresenta-se envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo denso que penetra no seu parênquima, formando pequenas trabéculas. Estas trabéculas permeiam regiões denominadas de polpa vermelha e polpa branca (STURKIE; BENZO, 1986; YASUDA et al., 2003). A polpa vermelha, onde há acúmulo de eritrócitos, é também constituída por sinusoides e cordões celulares que apresentam macrófagos, granulócitos, células reticulares e eventuais linfócitos circulantes. A polpa branca, rica em tecido linfóide (YASUDA et al., 1998, 2003) é constituída pelas ramificações da artéria trabecular, denominadas arteríolas centrais, envolvidas por bainhas de tecido linfóide, ricas em linfócitos T, denominadas bainhas linfóides periarteriolas (PALS). As ramificações finais das arteríolas centrais são conhecidas como capilares penicilares ou elipsoidais (JEURISSEN, 1991; JEURISSEN; JANSE, 1994) e são envolvidas por agrupamentos de células fibroblásticas reticulares e células fagocíticas denominados elipsoides (NAGY et al., 2005). Ao redor destas estruturas há acúmulo de linfócitos B, formando a polpa branca perielipsoidal (PWP) (OLÁH; VERVELDE, 2008). Entre estas regiões, também podem ocorrer centros germinativos (GC), que são formações nodulares, constituídas basicamente por agregados de células B, envoltos por delgada lâmina de tecido conjuntivo (JEURISSEN, 1991; JEURISSEN; JANSE, 1994; YASUDA et al., 1998). Segundo Eto (2010), o desencadeamento da resposta imune nas aves ocorre na polpa branca do baço.

De acordo com Klasing (1998), os níveis de nutrientes dietéticos ótimos para a produção e eficiência alimentar não garantem adequada resposta imune quando as aves são submetidas a desafios estressantes. A resistência imunológica aos desafios pode incorrer em um custo metabólico elevado devido ao redirecionamento de nutrientes, sendo que o custo desta resistência é igual ao custo metabólico do desafio. Estímulos, como lesão tecidual e estressores psicossociais, também podem induzir alterações metabólicas para ativação do

sistema imunitário, sendo assim estratégias imunonutritivas podem reduzir os custos da ativação excessiva do sistema imunitário (COLDITZ, 2002).

O estresse, ocasionado pelo jejum alimentar da muda forçada provoca o aumento do nível da corticosterona plasmática. A corticosterona, assim como o cortisol e a corticosterona, são glicocorticóides produzidos nas glândulas adrenais dos rins. Em situação de estresse, como o da muda forçada, através do fator de liberação da corticotropina, há uma estimulação do eixo hipotálamo-hipófise, ocasionando a liberação de ACTH, que estimula a adrenal a produzir corticosteróides, além de outros hormônios, que vão atuar nas células alvos, como também de neuropeptídios (encefalinas e endorfinas). As células que participam da resposta imune possuem receptores para os corticosteróides, que atuam sobre as células linfóides e portadoras de antígenos, inibindo a liberação de interleucinas IL-1, IL-6 e o fator de necrose tumoral (TNF), que são indispensáveis na estimulação e diferenciação dos linfócitos (WEBSTER, 2003). Sendo assim a efetividade do sistema imune pode ser reduzida pela ação dos hormônios relacionados ao estresse (TEIXEIRA; CARDOSO, 2011).

A nutrição possui relacionamento com a imunidade das aves, quer influenciando a síntese das imunoglobulinas, secreção hormonal ou alterando a população de microrganismos no intestino (KLASING, 1998). Bunchasak et al. (2005) relacionaram a concentração das imunoglobulinas séricas em poedeiras com os níveis dietéticos de proteína, em que os valores séricos da beta e da gamaglobulina se elevaram quando o teor protéico da ração passou de 14% para 18%. No mesmo sentido, Omara e Romeilah (2009) verificaram aumento nos títulos de imunoglobulinas em poedeiras que ingeriram ração com 2600 kcal de energia metabolizável (EM) por quilo, frente a uma ração controle, com 2800 kcal de EM/kg, o que atribuíram à presença do ácido linoleico, que pode estar associado a supressão da função imune nas aves. Estes trabalhos deixaram claro que as composições das rações podem modular a resposta imune das aves, devendo-se observar, sobretudo a concentração de nutrientes e os tipos de ingredientes utilizados, que eventualmente podem estar em níveis críticos.

Do ponto de vista prático, a susceptibilidade da ave a um desafio pode ser subdividida em dois componentes, resistência e persistência da produção. Resistência se refere a capacidade de uma variedade de sistemas anatômicos e fisiológicos, incluindo o sistema imune, em excluir o agente causador, como exemplo os patógenos. Persistência de produção se refere a capacidade de manter a sua produtividade (ex. crescimento, eficiência alimentar, produção de ovos) durante o desafio mesmo que a um custo nutricional elevado. Há muitas situações em que as dietas que maximizam o desempenho produtivo não propiciam

a máxima proteção imunológica. Isto pode ser facilmente verificado ao examinar as tabelas de exigências nutricionais que normalmente otimizam o desempenho produtivo em condições de ausência quase que completa de desafio sanitário (KLASING, 1998).

Até mesmo a ativação imunológica intestinal pode contribuir para mudanças nas exigências nutricionais. O aumento da atividade imunológica intestinal contribui para o aumento da proliferação de células de defesa, produção de anticorpos e aumento na secreção de mucinas, proteínas constituintes do muco entérico (OLIVEIRA NETO; OLIVEIRA, 2009).

Normalmente são observadas mudanças significativas no sistema imune e hematopoiético de poedeiras submetidas a muda (ALODAN; MASHALY, 1999). Durante a muda ocorre decréscimo do estrogênio e no número de células B (HOLT, 1992), o que pode contribuir para os aumentos na incidência de microrganismos indesejáveis no intestino das aves (PORTER; HOLT, 1992; HOLT et al. 1994).

Barua et al. (2000) encontraram redução na IgY da gema do ovo e aumento da sua concentração no soro de galinhas velhas, afirmando que o envelhecimento e a baixa produção de estrogênio afetam a função imunológica em aves.

Segundo Davis et al. (2000), a relação entre heterófilo:linfócito e os níveis de corticosterona plasmáticos constituem parâmetros para a avaliação da resposta a agentes estressores em aves. Gross e Siegel (1983) determinaram redução no número de linfócitos e aumento do número de heterófilos no sangue de galinhas como resposta ao estresse elevado. Como houve uma resposta direta entre os agentes estressores com o aumento do número de heterófilos e da relação heterófilos:linfócitos, os autores concluíram ser este um parâmetro viável na avaliação de estresse. A restrição alimentar para perda de peso na muda constitui um fator estressor crônico, que altera a relação heterófilo:linfócito, indicando uma adaptação fisiológica da ave (DAVIS et al., 2000).

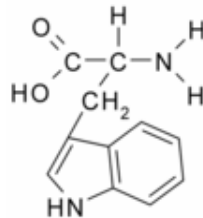
#### 2.4 SUPLEMENTAÇÃO DE TRIPTOFANO PARA GALINHA POEDEIRAS

Quimicamente, o triptofano (Trp), cujo nome sistemático é ácido 2-amino-3-indolpropanóico ou ácido 2-amino-3-indolpropiónico, se caracteriza como um aminoácido apolar, cuja cadeia lateral é R aromática,  $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$ , sendo a sua estrutura espacial apresentada na Figura 1. Possui massa molecular igual a 204,23; ponto de fusão a 290 °C e pH entre 5,5 e 7,0 e é hidrófobo (LEHNINGER, 2006).

Caracteriza-se como um aminoácido essencial para as galinhas poedeiras, visto ser sintetizado pelo organismo em velocidade aquém das necessidades fisiológicas, uma

vez que a seleção genética destas aves proporcionou alta produtividade e alta demanda nutricional. A essencialidade deste aminoácido destaca-se porque, além de participar da síntese protéica corporal e do ovo, é precursor de serotonina, um importante hormônio ligado à sensação de bem estar (HENRY et al. 1992), componente também de diversas outras substâncias corporais como a melatonina, triptamina,  $\text{NAD}^+$  e  $\text{NADP}^+$ , além de suprir as necessidades de ácido nicotínico (SAINIO et al., 1996), atuando também na resposta imunológica (EMADI et al, 2010).

**Figura 1** – Estrutura espacial do Triptofano

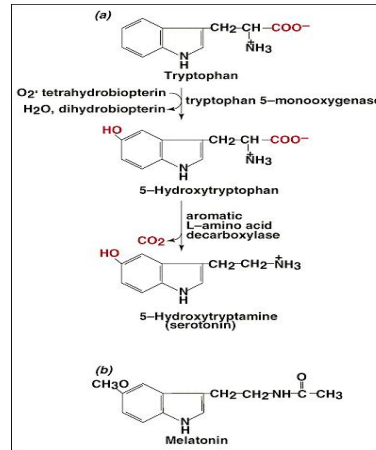


Fonte: Lehninger, 2006

Segundo Lehninger (2006), a conversão do Trp em serotonina se dá no cérebro pela sua hidroxilação (através da enzima triptofanohidroxilase) na posição 5-indol do anel, resultando na formação do 5-hydroxytryptofano, que é convertido por descarboxilação em 5-hydroxytryptamina (5HT), chamada de serotonina, originando também a melatonina (Figura 2).

A serotonina cerebral influencia a contração da musculatura lisa das arteríolas e dos bronquíolos, a regulação da temperatura corporal, do estado de alerta, da sensibilidade à dor, da ingestão de alimento, do comportamento sexual e da agressividade e assim como a melatonina, também é indutora do sono (LEATHWOOD, 1987).

**Figura 2** – Formação da serotonina e melatonina a partir do Triptofano.

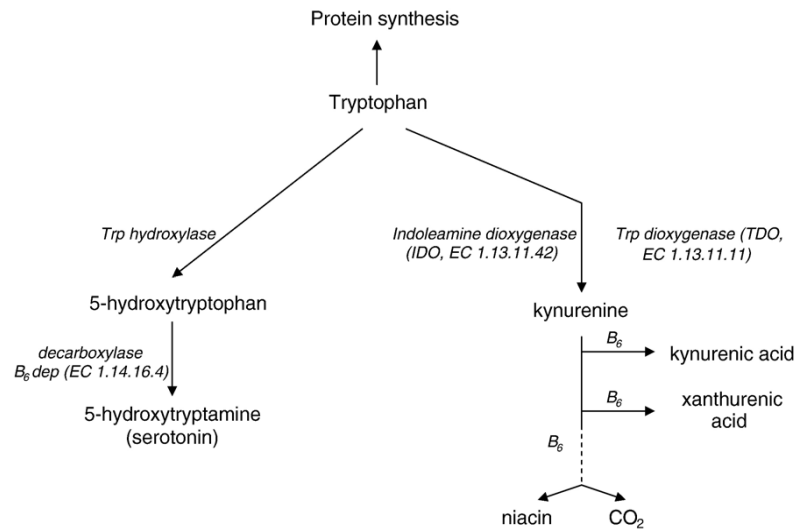


Fonte: Lehninger (2006)

Do ponto de vista quantitativo, o triptofano necessário para a produção de serotonina é muito baixo (menos de 10% da exigência). O transporte do Trp e sua disponibilidade no cérebro parece ser um dos passos limitantes para a síntese deste hormônio. A baixa concentração de triptofano na dieta deprime o consumo de ração, estando este mecanismo ligado à relação existente entre a sua ingestão e a secreção de serotonina. Outros mecanismos, como a modulação da sensibilidade à insulina e a secreção de grelina também podem estar envolvidos nos processos relacionados à fome e à saciedade (LE FLOC'H; SEVE, 2007).

O triptofano também tem relação com a síntese de melatonina, ou seja, o triptofano é precursor da serotonina e esta é convertida em melatonina. Este neuro-hormônio é produzido pela glândula pineal, e tem relação com o sono. A desnutrição, estresse e o envelhecimento podem reduzir a produção de melatonina (CARDOSO, 2012).

A maior parte da degradação do triptofano ocorre através da via da quinurenina (Figura 3), o qual está associado a defesa corporal e regulação da resposta imune.

**Figura 3** – Vias metabólicas do Triptofano

**Fonte:** Le Floch e Seve (2007)

Segundo Le Floch e Seve (2007), duas enzimas estão envolvidas na primeira etapa do catabolismo do triptofano em quinurenina, a triptofano dioxigenase (TDO), localizada no fígado, que degrada o seu excesso; e a enzima indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), produzida por células do sistema imunológico que atuam em tecidos atingidos por inflamações. Segundo estes autores, o aumento do catabolismo do Trp através da via IDO ocorre durante estados inflamatórios e de estresse imunológico, causando redução na sua disponibilidade, com efeitos negativos na produtividade das aves, estando, provavelmente, também envolvido na regulação da proliferação de células T e na produção de moléculas de antioxidantes.

Para Kerr et al.(2005), as suplementações dietéticas de Trp podem ser definidas como terapêuticas, uma vez que estas podem alterar os níveis cerebrais de serotonina. No entanto, apenas uma pequena parte deste aminoácido serve como precursor para a síntese deste hormônio, pois o cérebro produz apenas 1 a 2% da serotonina corporal total. Como a serotonina é incapaz de passar a barreira hemato-encefálica, suplementos nutricionais com precursores de 5-hidroxitriptamina, como o Trp, podem aumentar a serotonina cerebral somente em situações de deficiência mais severas do organismo.

Há comprovação do envolvimento do triptofano no sistema serotoninérgico (5-hidroxitriptofano), no desempenho produtivo e no comportamento anormal em aves. Estudos conduzidos por Shea et al. (1990) para avaliar a influência da suplementação de Trp em rações de galos matrizes de corte submetidos a um programa de jejum alimentar em dias alternados, entre as 4 e 20 semanas de idade, determinaram redução no número de bicadas em

relação ao grupo controle. Os animais adultos também foram analisados e apresentaram resultados semelhantes. Os autores concluíram que inclusões elevadas de Trp na dieta (1,5%) reduzem a agressividade de machos matrizes de corte, tornando-os socialmente mais estáveis.

Hierden et al. (2004) demonstraram agressividade em frangas de postura entre 34 e 50 dias de idade submetidas a agentes depressores de serotonina. No entanto, ao alimentarem estas frangas com rações suplementadas com 2% de Triptofano (a ração controle possuía apenas 0,16% de Trp) encontraram redução na agressividade, determinada pelo comportamento de bicadas. A suplementação aumentou significativamente os níveis de serotonina no cérebro destas aves.

Evidências apontam que a hipersecreção de glicocorticóides e de citocinas pró-inflamatórias, como a de IL-6, advinda do estresse da muda forçada, causaria prejuízo na neurotransmissão noroadrenérgica e serotoninérgica cerebral. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a influência das citocinas pró-inflamatórias na neurotransmissão. Entre eles, estão aqueles ligados à sua capacidade em reduzir a disponibilidade de triptofano para a síntese de serotonina. Uma teoria sugere que as citocinas pró-inflamatórias estariam implicadas na estimulação de aminoácidos que competem com o triptofano pela recaptação dentro do SNC. Outro mecanismo proposto é o de que essas citocinas reduziram a quantidade do triptofano disponível via ativação da enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO). Tal enzima converte o triptofano em quinurenina e ácido quinolínico, este último uma substância neurotóxica. Ou seja, em indivíduos estressados, haveria aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, o que levaria à ativação da enzima IDO, com conseqüente redução na disponibilidade de serotonina (MYINT; KIM, 2003).

Desenvolvendo estudos com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), Rizzo et al. (2008) ao testarem diversas inclusões de L-triptofano na ração destas aves nas fases de recria e de postura não encontraram efeitos no desempenho (consumo de ração, ganho médio de peso, conversão alimentar e taxa de mortalidade) e nos parâmetros fisiológicos (relação heterófilo:linfócito e concentração de corticosterona plasmática) inferindo que a eficiência do Trp só é comprovada em situações de estresse intenso.

Emadi et al. (2010), avaliaram o efeito do Trp na resposta imune inata, humoral e celular em frangos com 28 dias de idade submetidos a administração oral de extrato do vírus da doença infecciosa da bursa (IBDV). Estes frangos foram alimentados com rações suplementadas com L-triptofano nas fases inicial, crescimento e terminação. Os indicadores de imunidade foram interferon- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  e imunoglobulina G, por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) de amostras de sangue coletadas aos 27, 35, 42 e 49 dias de idade.

Os autores verificaram que a suplementação com Trp aumentou os níveis dos indicadores imunológicos, demonstrando haver uma relação estreita entre o Trp dietético e a modulação da resposta imune.

Carvalho (2005) observou que os níveis crescentes de triptofano digestível na ração influenciaram positivamente a produção, a massa de ovos, a conversão alimentar e o ganho de peso de poedeiras Hy-line W-36 entre 44 e 55 semanas de idade, estimando a exigência nutricional em 0,18 % da ração, que correspondeu a um consumo de 159 mg/ave/dia. Segundo Rostagno et al. (2011), as poedeiras leves com 1.500 g de peso vivo necessitam ingerir 185 mg de triptofano digestível/dia. Esta recomendação é aproximadamente 15,6% superior à do Nutritional Research Council (NRC, 1994), que preconiza um consumo de 160 mg/ave/dia.

Deponti et al. (2007) estudaram cinco concentrações de Trp nas rações para galinhas poedeiras (0,13; 0,15; 0,17; 0,19 e 0,21%), com o intuito de avaliar as exigências e o padrão de recuperação do desempenho das aves alimentadas com as rações deficientes neste aminoácido. Os autores constataram que a ração deficiente em Trp (0,13%) prejudicou a produção e a massa de ovos, sem afetar a sua qualidade interna (gema e albúmen), sendo o desempenho produtivo recuperado após a ingestão de ração com 0,21% de Trp por uma semana. As exigências em triptofano estabelecidas foram de 161 mg/dia para produção de ovos e 188 mg/dia para massa de ovos.

Segundo Lima et al. (2012), a melhoria dos índices zootécnicos das poedeiras advindos da suplementação das rações com L-triptofano se deve aos efeitos fisiológicos benéficos ocorridos no organismo, pois este aminoácido ocasiona modificações histológicas benéficas no trato reprodutor de poedeiras, com melhoria da atividade das glândulas tubulares do magno, que secretaram mais albúmen denso, além de alterações no trato digestório, que ocasionou melhoria na absorção de nutrientes, com aumento na produção de ovos e melhora na conversão alimentar.

Não foram encontrados trabalhos a respeito dos efeitos das inclusões de triptofano nas rações de galinhas poedeiras submetidas à muda forçada sem jejum alimentar.

## 2.5 REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Cellular and Molecular Immunology**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012. 525p.

ABO ELOUUN, S.A. Effect of two different induced molting programs on serum, egg yolk IgY concentrations and immune parameters in laying hens. **Egyptian Poultry Science**, Alexandria, v.29, n.1, p.357-371, 2009.

ALODAN, M.A.; MASHALY, M.M. Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n. 2, p. 171-177, 1999.

ANDRADE, F. G. **Análise da produção de anticorpos IgY e das características histológicas do baço e da medula óssea de galinhas poedeiras inoculadas com venenos de serpentes**. 2011. 100 folhas. Tese (Doutorado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

AYGÜN, A.; YETISIR, R. Researches on the responses of different hybrid layers with respect to egg production performances to forced molting programs with and without feed withdrawal. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v.8, n.12, p.2680-2686, 2009.

AYGÜN, A.; YETISIR, R. Effects of hen age and force molting programs on production performances during post molt period in laying hens. **International Journal of Applied Poultry Research**, Peshawar, v. 2, n. 1, p. 7-11, 2013.

BARUA, A.; FURUSAWA, S.; YOSHIMURA, Y. Influence of aging and estrogen treatment on the IgY concentration in the egg yolk of chicken, *Gallus domesticus*. **Journal Japanese Poultry Science**, Ibaraki, v.37, n.5, p.280-288, 2000.

BARUA, A.; FURUSAWA, S.; YOSHIMURA, Y. Effects of forced molting on the IgY concentration in egg yolk of chickens. **Poultry Science**, Champaign; v.38, n.2, p.169-174, 2001.

BUNCHASAK, C.; POOSUWAN, K.; NUKRAEW, R.; MARKVICHITR, K.; CHOOTHESA, A. Effect of dietary protein on egg production and immunity responses of laying hens during peak production period. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.4, n.9, p.701-708, 2005.

CAMPBELL, T. W. Hematology of birds. In: THRALL, M. A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. Cap. 17, p. 225-257.

CARDOSO, A.S. **Exigências nutricionais de treonina e triptofano digestível para poedeiras leves de 60 a 76 semanas de idade**. 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

CARVALHO, D.C.O. **Biodisponibilidade de fontes de metionina e exigências nutricionais de lisina e de triptofano para poedeiras leves, mantidas em ambiente de alta temperatura, na fase de produção**. 2005. 99f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CASTRO, A. J.; GOMES, P. C.; PUPA, J. M.R.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; NASCIMENTO A. H. Exigência de triptofano para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.29, n.6, p.1743-1749, 2000.

CIRIACO, E.; PINERA, P.P.; DÍAZ-ESNAL, B.; LAURÀ, R. Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). **Microscopy Research and Technique**, New York, v.62, n.6, p.482–487, 2003.

COLDITZ, L.G. Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. **Livestock Production Science**, Armidale, v.75, n.3, p.257–268, 2002.

CORZO, A.; KIDD, M.T.; THAXTON, J.P., KERR, B.J. Dietary tryptophan effects on growth and stress responses of male broiler chicks. **British Poultry Science**, Edinburg, v.46, n.4, p.478-484, 2005.

DAVIS, G.S.; ANDERSON, K.E.; CARROLL, A.S. The effects of long-term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. **Poultry Science**, Champaign, v.79, n. 4, p.514–518, 2000.

DELVES, P.J.; SEAMUS, J.M.; BURTON, D.R.; ROITT, I.M. **Roitt's essential immunology**. 12<sup>a</sup>ed. Oxford: Blackwell, 2011. 546 p. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=UegBn\\_GT3fkC&oi=fnd&pg=PR3&ots=WdktQqahqK&sig=IXRHMMGDsr2zpiiBy7M8I9b8v8s#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=UegBn_GT3fkC&oi=fnd&pg=PR3&ots=WdktQqahqK&sig=IXRHMMGDsr2zpiiBy7M8I9b8v8s#v=onepage&q&f=false)> Acesso em 04/12/2012.

DEPONTI, B.J.; FARIA, D.E.; FARIA FILHO, D.E.; ROMBOLA, L.G.; ARAUJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M. Exigências de triptofano e padrão de recuperação do desempenho de poedeiras comerciais após alimentação com rações deficientes em triptofano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, n.5, p.1324-1330, 2007.

DICKEY, E.R.; JOHNSON, A.K.; STALDER, K.J.; BREGENDAHL, K. Effects of a pre molt calcium and low-energy molt program on laying hen performance, egg quality and economics. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 2, p. 292–303, 2012.

DONALSON, L.M.; KIM, W.K.; WOODWARD, C.L.; HERRERA, P.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v.84, n.3, p.362–369, 2005.

EMADI, M.; JAHANSHIRI, F.; KAVEH, K.; HAIR-BEJO, M.; IDERIS, A.; ALIMON, R. Tryptophan stimulates immune response in broiler chickens challenged with infectious bursal disease vaccine. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 9, n.3, p. 610-616, 2010.

ETO, S.F. **Estudo das vias de inoculação sobre a resposta imune humoral e características histológicas do baço de galinhas poedeiras imunizadas com hemácia de carneiro**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

FERRO, P. J.; SWAGGERTY, C. L.; KAISER, P.; PEVZNER, I. Y.; KOGUT, M. H. Heterophils isolated from chickens resistant to extra-intestinal *Salmonella enteritidis* infection express higher levels of pro-inflammatory cytokine mRNA following infection than

heterophils from susceptible chickens. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 132, n. 6, p. 1029-1037, 1994.

FRANZO, V.S.; ARTONI, S.M.B.; VULCANI, V.A.S.; AMOROSO, L.; OLIVEIRA, D. Biometria do intestino de poedeiras comerciais submetidas a diferentes programas de muda forçada. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 874-882, 2008

GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, Jacksonville, v.27, n.1, p.972-979, 1983.

HENRY, Y.; SÈVE, B.; COLLÉAUX, Y.; GARNIER, P.; SALIGAUT, C.; JÉGO, P. Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.6, p.1873-1887, 1992.

HIERDEN, Y.M.; KOOLHAAS, J.M.; KORTE, S. M. Chronic increase of dietary l-tryptophan decreases gentle feather pecking behavior. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v.89, n.1, p.71-84, 2004.

HOLT, P. S. Effects of induced molting on immune responses of hens. **British Poultry Science**, Edinburg, v.33, n.1, p. 165-175, 1992.

HOLT, P. S.; BUHR, R. J.; CUNNINGHAM, D. L.; PORTER Jr., R. E. Effect of two different molting procedures on a *Salmonella enteritidis* infection. **Poultry Science**, Champaign, v.73, n.8, p. 1267–1275, 1994.

JEURISSEN, S. H. Structure and function of the chicken spleen. **Research in Immunology**, Amsterdam, v.142, n. 4, p. 352-355, 1991.

JEURISSEN, S. H. M.; JANSE, E. M. Germinal centers develop at predilected sites in the chicken spleen. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Merced, v. 27, n. 41, p. 237-355, 1994.

JOHN, J. L. The avian spleen: a neglected organ. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 69, n. 3, p. 327-351, 1994.

KERR, B.J.; MORAN JR, E.T.; KIDD, M.T. Effect of supplementary tryptophan prior to marketing on carcass quality in broilers. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.14, n.2, p.306-314, 2005.

KHAJALI, F.; KARIMI, S.; AKHARI, M.R. Physiological response and post molt performance of laying hens molted by non-feed removal methods. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, New York, v.3, n.1, p.13-17, 2008.

KHODADADI, I.H.; MORAVEJ, H.; SHIVAZAD, M.; MEHRABANI-YEGANEH, H. Comparison of four induced molting methods based on subsequent performance and welfare of single comb White leghorn hens. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 11, n. 1, p. 98-102, 2008.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, Champaign, v.77, n.8, p.1119-1125, 1998.

LANDERS, K.L.; MOORE, R.W.; HERRERA, P.; LANDERS, D.A.; HOWARD, Z.R.; MCREYNOLDS, J.L.; BRYD, J.A.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Organ weight and serum triglyceride responses of older (80week) commercial laying hens fed an alfalfa meal molt diet. **Bioresource Technology**, Trivandrum, v.99, n.14, p.6692–6696, 2008.

LEATHWOOD, P.D. Tryptophan availability a serotonin synthesis. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v.46, n.1, p 143-156, 1987.

LE FLOC'H, N.; SEVE, B. Biological roles of tryptophan and its metabolism: Potential implications for pig feeding. **Livestock Science**, Philadelphia, v.112, n.1, p.23-32, 2007.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LI-CHAN, E.C.Y.; POWRIE, W.D.; NAKAI, S. The chemistry of eggs and egg products. In: STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. (eds.), **Egg Science and Technology**. New York: Haworth Press, 1995. p.105-176.

LIMA, M.R.; COSTA, F.G.P.; GUERRA, R.R; DANTAS, L.S.; CAVALCANTE, L.E. Aminoácidos funcionais na nutrição de poedeiras. Revista Avisite. 10/05/2012 <[www.avisite.com.br/cet/img/20120510\\_aminoacidos.doc](http://www.avisite.com.br/cet/img/20120510_aminoacidos.doc)> Acesso em 31/10/2014.

MACARI, M.; FURLAN, L.R. Mecanismos fisiológicos envolvidos na muda forçada. In: **Curso de Fisiologia da Reprodução das Aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.106-111, 1993.

MACARI, M.; FURLAN, R. R.; GONZALES, E. **Fisiologia aviaria aplicada a frangos de corte**. 2. ed. São Paulo: FUNEP, 2002.

MAZZUCO, H.; AVILA, V.S.; MORES, R.; COLDEBELLA, A. Parâmetros bioquímicos sanguíneos e regressão de órgãos reprodutivos de poedeiras comerciais submetidas à muda induzida utilizando métodos convencional e alternativo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009.

MAZZUCO, H.; AVILA, V.S.; COLDEBELLA, A.; MORES, R.; JAENISCH, F. R. F.; LOPES, L.S. Comparison of the effect of different methods of molt: production and welfare evaluation. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, n.12, p. 2913–2920, 2011.

MOHAMMED, S.M.; MORRISON, S.; WIMS, L.; TRINH, K.R.; WILDEMAN, A.G; BONSELAAR, J.; ETCHES, R.J. Deposition of genetically engineered human antibodies into the egg yolk of hens. **Immunotechnology**, Amsterdam, v.4, n.2, p.115–125, 1998.

MORRISON, S.L.; MOHAMMED, M.S.; WIMS, L.A.; TRINH, R.; ETCHES, R. Sequence in antibody molecules important for receptor-mediated transport into the chicken egg yolk. **Molecular Immunology**, Amsterdam, v.38, n.8, p.619-625, 2001.

MURAKAMI, A. E.; FIQUEIREDO, D. F.; PERRUZI, A. Z.; FRANCO, J. R. G.;

SAKAMOTO, M. I. Níveis de sódio para poedeiras comerciais no primeiro segundo ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n. 6, p.1674-1680, 2003.

MYINT, A.M.; KIM, Y.K. Cytokine-serotonin interaction through IDO: a neurodegeneration hypothesis of depression. **MedHypotheses**, Birmingham, v.61, n. 5-6, p. 519-525, 2003.

NAGY, N.; BIRÓ, E.; TAKACS, A.; POLOS, M.; MAGYAR, A.; OLÁH, I. Peripheral blood fibrocytes contribute to the formation of the avian spleen. **Developmental Dynamics**, Tucson, v.232, n.1, p.55–66, 2005.

NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of Poultry**. 9. ed. Washington: National Academy Press, 1994. 173p.

OLÁH, I.; VERVELDE, L. Structure of the avian lymphoid system. In: DAVISON, F.; BERND, K. SCHAT, K. A. **Avian Immunology**. London: Elsevier, 2008, p. 13-50.

OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, W.P. Aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.38, p.205-208, 2009 (supl. especial).

OMARA, I.I.; ROMEILAH, R.M. Energy and methionine utilization in laying hens diets supplementation with folic acid. **Research Journal of Agriculture and Biological Science**, Pakistan, v.5, n.4, p.428-444, 2009.

PARK, S.Y.; KIM, W.K.; BIRKHOOD, S.G.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Induced molting issues and alternative dietary strategies for the egg industry in the United States. **World's Poultry Science Journal**, London, v.60, n.2, p.196-209, 2004.

POLLOCK, C.G.; OROSZ, S.E. Avian reproductive anatomy, physiology and endocrinology. **Veterinary Clinics Exotic Animal**, Amsterdam, v.5, n.3, p.441-474, 2002.

PORTER Jr., R. E.; HOLT, P. S. Effect of induced molting on the severity of intestinal lesions caused by *Salmonella enteritidis* infection in chickens. **Avian Diseases**, Jacksonville, v.37, n.4, p.1009–1016, 1993.

RATCLIFFE, M.J.H. Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development. **Developmental & Comparative Immunology**, Amsterdam, v.30, n.1-2, p.101-118, 2006.

RIBEIRO, A.M.L.; CANAL, C.W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A.F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n.4, p. 636-644, 2008.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.4, p. 632–639, 2003.

RIQUELME SALAZAR, P.C. **Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal em frangos de corte**. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Zootecnia), Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.

RIZZO, P. V.; GUANDOLIN, G.C.; AMOROSO, L.; MALHEIROS, R.D.; MORAES V.M.B. Triptofano na alimentação de codornas japonesas nas fases de recria e postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.37, n.6, p.1017-1022, 2008.

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

RUBIN, M.L. **Efeitos da metionina e da arginina sobre a resposta imune e o desempenho de frangos de corte**, 2007. 90f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RUTZ, F.; ANCIUT, M.A.; XAVIER, E.G.; ROLL, V.F.B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo em aves. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n.3, p. 307-317, 2007.

SAINIO, E. L.; PULKKI, K.; YOUNG, S.N. L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. **Amino Acids**, Vienna, v.10, n.1, p. 21-47. 1996.

SCHADE, R.; CALZADO, E.G.; SARMIENTO, R.; CHACANA, P.A.; PORANKIEWICZ-ASPLUND, J.; TERZOLO, H.R. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): A review of progress in production and use in research and in human and veterinary medicine. **ATLA – Alternatives to Laboratory Animal**, Baltimore, v.33, n.2, p.129-154, 2005.

SCHMIDT, M.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; NUNES, C.G.V.; NUNES, R.V.; CUPERTINO, E.S. Exigências nutricionais de treonina digestível para poedeiras semipesadas no segundo ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, n.5, p.1099-1104, 2010.

SCOTT, T. R. Our current understanding of humoral of poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n.4, p. 574-579, 2004.

SHEA, M.M.; MENCH, J.A.; THOMAS, O.P. The effect of dietary tryptophan on aggressive behavior in developing broiler breeder males. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n.10, p.1664-1669, 1990.

SOUZA, K.M.R.; CARRIJO, A.S.; ALLAMAN, I.B.; FASCINA, V.B.; MAUAD, J.R.C.; SUZUKI, F.M. Métodos alternativos de restrição alimentar na muda forçada de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, n.2, p.356-362, 2010.

STURKIE, P. D.; BENZO, C. A. **Avian physiology**. Springer: Verlag, 1986.

TEIXEIRA, R.S.C.; CARDOSO, W.M. Muda forçada na avicultura moderna. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.444-455, 2011.

TIZARD, I. The avian antibody response. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Amsterdam, v.11, n.1, p.2-14, 2002.

WEBSTER, A.B. Physiology and behavior of the hen during induced molt. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.6, p.992-1002, 2003.

YASUDA, M.; TAURA, Y.; YOKOMIZO, Y.; EKINO, S. A comparative study of germinal center: fowls and mammals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious diseases**, New York, v. 21, n. 3, p. 179-189, 1998.

YASUDA, Y.; KAJIWARA, E.; EKINO, S.; TAURA, Y.; HIROTA, Y.; HORIUCHI, H.; MATSUDA, H.; FURUSAWA, S. Immunobiology of chicken germinal center: I. Changes in surface Ig class expression in the chicken splenic germinal center after antigenic stimulation. **Developmental & Comparative Immunology**, Amsterdam, n. 27, n.2, p. 159-166, 2003.

YOUSAF, M.; AHMAD, N.; KHAN, S.; AHMAD, T. Effect of non-feed withdrawal induced molting techniques on feather molt scoring and egg production of caged hens. **Sarhad Journal Agriculture**, Peshawar, v.24, n.2, p. 331-338, 2008.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

- Avaliar, em galinhas poedeiras, os efeitos de diferentes inclusões do aminoácido L-triptofano na ração durante a muda forçada com alimentação restrita, bem como os seus efeitos no segundo ciclo de postura

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de galinhas poedeiras submetidas a muda forçada com alimentação restrita, alimentadas com rações contendo diferentes inclusões de L-triptofano, bem como os seus efeitos no segundo ciclo de postura.
- Avaliar os parâmetros hematológicos (glicemia, leucograma e eritrograma) e as áreas relativas de polpa branca e de polpa vermelha do baço de galinhas poedeiras submetidas a muda forçada com alimentação restrita, alimentadas com rações contendo diferentes inclusões de L-triptofano, bem como os seus efeitos no segundo ciclo de postura.

#### **4 ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO**

**Artigo 1.** L-triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada sem jejum alimentar  
– Efeitos no desempenho e qualidade do ovo.

**Artigo 2.** L-triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada sem jejum alimentar  
– Parâmetros hematológicos e histologia do baço.

## 4.1 ARTIGO 1

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da *Revista Semina*

**L-triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada sem jejum alimentar– Efeitos no desempenho e qualidade dos ovos.**

**L-tryptophan in laying hens molt forced feed without fasting - Effects on performance and quality of eggs.**

**Resumo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das inclusões de L-triptofano (L-Trp) na ração de muda, sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de galinhas poedeiras durante a muda forçada e no período pós-muda. Um total de 160 galinhas poedeiras Leghorn brancas com 100 semanas de idade foram submetidas a um programa de muda forçada de 42 dias e a um segundo ciclo de postura de 112 dias. Nos primeiros 17 dias da muda os tratamentos experimentais consistiram de cinco rações, caracterizadas por uma ração basal-1 com quatro inclusões de L-Trp (0,043, 0,086, 0,129 e 0,172%), totalizando rações com 0,110; 0,152; 0,195; 0,238 e 0,280% de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 60g/ave/dia. Do 18º ao 42º dias da muda os tratamentos consistiram de uma ração basal-2 com mesmas inclusões de L-Trp, totalizando rações com 0,120; 0,162; 0,205; 0,248 e 0,290% de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 100g/ave/dia. A partir do 43º dia as poedeiras foram alimentadas à vontade com uma mesma ração de postura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 8 aves cada. No 17º dia da muda as poedeiras perderam em média 19,9% do seu peso vivo, que foi recuperado no 42º dia. A parada na postura ocorreu em média aos 8,8 dias e o seu retorno aos 39,3 dias. A mortalidade foi de 0% nos 17 primeiros dias, 1,25% do 18º ao 42º dia da muda e de 1,25% no segundo ciclo de postura. Os tratamentos experimentais não mostraram efeitos na mortalidade, peso corporal, número de dias para parada de postura (PP), número de dias para retorno a postura (RP), desempenho produtivo e qualidade dos ovos. Concluiu-se que a inclusão de L-triptofano nas rações durante a muda forçada com alimentação restrita não interfere no desempenho produtivo e qualidade dos ovos das poedeiras.

**Palavras Chave:** Conversão alimentar. Produtividade. Regeneração ovariana. Segundo ciclo de postura.

**Abstract**

The objective of this study was to evaluate the effects of L-tryptophan inclusions (L-Trp) in the diet of molt, on performance and egg quality of laying hens during the forced molt and in the post-molt. One hundred and sixty white Leghorn hens 100 weeks of age were subjected to a forced molt of program of 42 days and a laying second cycle of 112 days. In the first 17 days of the molt the experimental treatments consisted of five diets, characterized by a basal-1 diet with four L-Trp inclusions (0.043, 0.086, 0.129 and 0.172%), totalizing diets with 0.110; 0.152; 0.195; 0.238 and 0.280% digestible tryptophan, provided the diets in amount of 60 g / bird / day. From 18<sup>th</sup> to 42<sup>th</sup> days of molt the treatments consisted of a basal-2 diet with the same inclusions of L-Trp, totalizing diets with 0.120; 0.162; 0.205; 0.248 and 0.290% digestible tryptophan, provided the diets in the amount of 100g / bird / day. From the 43<sup>th</sup> day, laying hens had been fed *ad libitum* with the same posture diet. The experimental design was completely randomized with four replications of eight birds. On the 17<sup>th</sup> day of the molt the layings lost on average 19.9% of their body weight, which was recovered on 42<sup>th</sup> day.

The laying stop occurred on average at 8.8 days and your return to 39.3 days. The mortality rate was 0% in the first 17 days, 1.25% in the period of 18 to 42 days of molt and 1.25% in the second laying cycle. The treatments showed no effects on mortality, body weight, number of days for laying stop (LS), number of days to laying return (LR), production performance and egg quality. It was concluded that the inclusion of L-tryptophan in feed during the molt with restricted feeding does not interfere with productive performance and egg quality of laying.

**Keywords:** Feed conversion. Ovarian recovery. Productivity. Second laying cycle.

## Introdução

Na avicultura industrial, a muda forçada é o manejo utilizado para permitir mais um ciclo produtivo as galinhas poedeiras, que ao envelhecerem perdem a capacidade reprodutiva, ocorrendo piora na qualidade dos seus ovos (MURAKAMI et al., 2003).

Considerado um procedimento estressante, várias pesquisas foram conduzidas na busca de práticas para induzir a muda forçada em galinhas sem o uso da restrição total de alimentos, entre estes o controle quantitativo e/ou qualitativo da alimentação (DONALSON et al., 2005; AYGÜN; YETISIR, 2009; 2013). Porém, segundo Park et al. (2004) há evidências de que caso a muda forçada não seja adequadamente realizada, poderão ocorrer danos irreparáveis ao organismo das aves, com consequências no ciclo de postura subsequente.

O triptofano, aminoácido essencial para galinhas poedeiras, é precursor da serotonina, um neurotransmissor ligado à sensação de bem estar, que auxilia no controle do estresse (CORZO et al., 2005) e participa dos processos metabólicos de diversas substâncias corporais como da melatonina (LI et al., 2007), do ácido nicotínico ou niacina (vitamina B<sub>3</sub>), que é um componente precursor das coenzimas NAD<sup>+</sup> e NADP<sup>+</sup> (MARIN, 2014) e de respostas imunológicas (EMADI et al., 2010). Além disto o triptofano tem demonstrado efeitos benéficos sobre os parâmetros produtivos e de qualidade dos ovos de galinhas poedeiras (CALDERANO et al., 2012).

Considerando os efeitos do triptofano sobre o estresse e metabolismo, há necessidade de pesquisar seus efeitos durante a muda forçada e no segundo ciclo de postura, portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de galinhas poedeiras alimentadas com rações contendo diferentes inclusões de L-triptofano durante a muda forçada sem jejum alimentar e os seus efeitos no segundo ciclo de postura.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de avicultura de postura da Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, tendo o seu protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, processo CEUA nº10.965.2013.83. Para a região, durante o período experimental, a temperatura média foi de 19,66 °C e a umidade relativa média foi de 53,39% segundo

dados do Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR – Londrina/PR.

Foram utilizadas 160 galinhas poedeiras leves tipo Leghorn com 100 semanas de idade, previamente submetidas ao controle individual de produção de ovos por 14 dias. Ao final deste período, as aves foram uniformizadas pelo peso corporal (média de 1567,13 g) e intensidade de postura (média de 75,35 % de % de postura) e distribuídas em 20 gaiolas de arame, oito aves por gaiola, que constituiram as parcelas experimentais. Estas gaiolas, medindo 100x40x40 cm, com disponibilidade de 500 cm<sup>2</sup>/ave, estavam dispostas em quatro filas sobrepostas, laterais a um corredor central, em um aviário convencional para postura, aberto, com 24 m de comprimento, 5,50 m de largura e 2,80 m de pé-direito, com cobertura de telhas de fibrocimento. Foram utilizados bebedouros tipo copo, dispostos lateralmente entre as divisórias das gaiolas, atendendo a quatro aves cada e comedouros, tipo calha, de madeira, instalados à frente das gaiolas.

A muda forçada teve duração de 42 dias, sendo que uma semana antes do seu início as poedeiras foram submetidas a um programa de alimentação pré-muda conforme o manual da linhagem genética e a um programa de iluminação de 24 horas de luz/dia (luz natural + artificial), que foi reduzido somente a luz natural do 1º até 20º dia da muda, sendo restabelecida a partir no 21º dia, quando foram fornecidas 14 horas de luz/dia, seguida de aumentos semanais de 1 hora até totalizar 17 horas de luz/dia.

Nos primeiros 17 dias da muda, caracterizados pela perda de peso corporal e parada reprodutiva, estas galinhas foram submetidas a cinco tratamentos experimentais, constituídos por uma ração basal-1 contendo 0,11 % de triptofano digestível, 2.500 kcal de energia metabolizável por quilograma (EM kg<sup>-1</sup>) e 12,6 % de proteína bruta (PB), adicionada com 0,043, 0,086, 0,129 e 0,172 % do aminoácido L-Triptofano 99 % (Trp), totalizando cinco rações com 0,110; 0,152; 0,195; 0,238 e 0,280 % de triptofano digestível (Tabela1), fornecidas na quantidade de 60 g/ave/dia.

**Tabela 1** - Composição das rações experimentais fornecidas entre o 1º e 17º dias da muda forçada.

Ingrediente (kg ton <sup>-1</sup> )	Basal-1	L-Triptofano (%)			
		0,043	0,086	0,129	0,172
Farelo de trigo	495,260	495,260	495,260	495,260	495,260
Milho	446,110	446,110	446,110	446,110	446,110
Farelo de Soja	12,810	12,810	12,810	12,810	12,810
Calcário	34,550	34,550	34,550	34,550	34,550
Fosfato bicálcico	3,690	3,690	3,690	3,690	3,690
Supl. vit+mineral <sup>1</sup>	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Cloreto de colina	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
DL-Metionina (99%)	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
Areia fina lavada	5,000	4,570	4,140	3,710	3,280
L-triptofano (99%)	0,00	0,430	0,860	1,290	1,720
<b>Exigências atendidas</b>					
EM <sup>2</sup> (Kcal kg <sup>-1</sup> )	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500
Proteína bruta (%)	12,600	12,600	12,600	12,600	12,600
Cálcio (%)	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500

Fósforo disponível (%)	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250
Isoleucina digestível (%)	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320
Lisina digestível (%)	0,360	0,360	0,360	0,360	0,360
Metionina digestível (%)	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160
Met+Cist. <sup>3</sup> digestível (%)	0,360	0,360	0,360	0,360	0,360
Valina digestível (%)	0,430	0,430	0,430	0,430	0,430
Triptofano digestível (%)	0,110	0,152	0,195	0,238	0,280
Sódio (%)	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Relação triptofano:lisina	0,306	0,422	0,538	0,655	0,772

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

<sup>2</sup>Energia metabolizável ; <sup>3</sup>Metionina + cistina

**Fonte:** Elaboração dos autores.

Do 18º ao 42º dia da muda, fase de indução ao retorno à postura, as poedeiras foram alimentadas com cinco rações experimentais, constituídas por uma ração basal 2, contendo 0,12 % de triptofano digestível, 2.815 kcal de EM/kg e 14,3 % de PB, adicionada com 0,043, 0,086, 0,129 e 0,172 de L-triptofano 99 % (Trp), totalizando cinco rações com 0,120; 0,162; 0,205; 0,248 e 0,290 % de triptofano digestível (Tabela 2), fornecidas na quantidade restrita de 100 g/ave/dia.

**Tabela 2** - Composição das rações experimentais fornecidas entre o 18º e 42º dias da muda forçada.

Ingrediente (kg ton <sup>-1</sup> )	Basal-2	L-Triptofano (%)			
		0,043	0,086	0,129	0,172
Milho	675,310	675,310	675,310	675,310	675,310
Farelo de Soja	122,400	122,400	122,400	122,400	122,400
Far. Carne e ossos (45%)	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
Calcário	109,240	109,240	109,240	109,240	109,240
Fosfato bicálcico	11,740	11,740	11,740	11,740	11,740
Óleo de soja	7,890	7,890	7,890	7,890	7,890
Supl. Vit+mineral <sup>1</sup>	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Cloreto de colina	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Cloreto de sódio	2,940	2,940	2,940	2,940	2,940
DL-Metionina (99%)	2,730	2,730	2,730	2,730	2,730
L-Lisina (99%)	3,900	3,900	3,900	3,900	3,900
L-Valina (100%)	2,170	2,170	2,170	2,170	2,170
L-Isoleucina (100%)	2,170	2,170	2,170	2,170	2,170
Amido	1,480	1,160	0,810	0,520	0,200
Areia fina lavada	0,950	1,220	1,510	1,740	2,010
L-Alanina (99%)	4,580	4,200	3,830	3,460	3,080
L-Triptofano (99%)	0,000	0,430	0,860	1,290	1,720
<b>Exigências atendidas</b>					
EM <sup>2</sup> (Kcalkg <sup>-1</sup> )	2.815	2.815	2.815	2.815	2.815
Proteína bruta (%)	14,300	14,300	14,300	14,300	14,300
Cálcio (%)	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
Fósforo disponível (%)	0,590	0,590	0,590	0,590	0,590
Isoleucina digestível (%)	0,670	0,670	0,670	0,670	0,670
Lisina digestível (%)	0,840	0,840	0,840	0,840	0,840
Metionina digestível (%)	0,470	0,470	0,470	0,470	0,470
Met+Cist <sup>3</sup> digestível (%)	0,670	0,670	0,670	0,670	0,670
Valina digestível (%)	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720

Triptofano digestível (%)	0,120	0,162	0,205	0,248	0,290
Sódio (%)	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Relação triptofano:lisina	0,143	0,190	0,238	0,286	0,333

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

<sup>2</sup>Energia metabolizável ; <sup>3</sup>Metionina + cistina

**Fonte :** Elaboração dos autores.

No 43º dia iniciou-se o segundo ciclo de postura, que teve a duração de 112 dias, durante os quais todas as galinhas foram alimentadas à vontade com a mesma ração de postura contendo 2.815 kcal de EM/kg, 16,36 % de PB e 0,15 % de triptofano digestível (Tabela 3).

As rações foram calculadas com base nas recomendações do manual da linhagem, e as composições dos ingredientes utilizados nas formulações das rações foram as citadas nas tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2011). Para que as rações experimentais fossem isoprotéicas e isocalóricas foram utilizadas areia fina lavada, amido e L-alanina (99%). A fonte de triptofano foi o L-triptofano (99%).

**Tabela 3** - Composição da ração fornecida no segundo ciclo de postura.

Ingredientes	Kg ton <sup>-1</sup>
Milho	654,140
Farelo de soja 45%	183,950
Farinha carne e ossos 45%	50,000
Óleo de soja	7,440
Calcário	91,400
Fosfato bicálcico	6,3400
Sup. vitamínico+mineral <sup>1</sup>	2,000
Cloreto de sódio	2,600
Cloreto de colina	0,500
DL-metionina (99%)	1,380
L-lisina (99%)	0,250
<b>Exigências atendidas</b>	
Energia metabolizável (kcal kg <sup>-1</sup> )	2815
Proteína bruta (%)	16,360
Cálcio (%)	4,310
Fósforo disponível (%)	0,500
Isoleucina digestível (%)	0,570
Lisina digestível (%)	0,710
Metionina digestível (%)	0,370
Meioninat+Cistina digestível (%)	0,600
Treonina digestível (%)	0,520
Triptofano digestível (%)	0,150
Valina digestível (%)	0,650
Sódio (%)	0,170

Relação Triptofano: Lisina

0,211

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

**Fonte :** Elaboração dos autores.

Todas as coletas de dados foram consideradas por parcela experimental (repetição).

Foram determinados os pesos corporais das poedeiras no primeiro, 17<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> dias da muda e no 112<sup>o</sup> dia do segundo ciclo de postura.

As ofertas e as sobras das rações foram determinadas no 1<sup>o</sup>, 17<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> dia da muda e a cada 28 dias no segundo ciclo de postura, sendo o seu consumo, expresso em g/ave/dia, estimado pela divisão do consumo total pelo número de aves. Quando ocorreram mortes, o consumo foi dividido pela média ponderada de aves no período.

A produção de ovos foi registrada diariamente. Durante a muda, a parada de postura (PP) foi considerada a partir do momento em que nenhum ovo foi obtido por três dias seguidos, sendo o seu retorno (RP) considerado a partir do momento em que foi obtido pelo menos um ovo por três dias seguidos.

O peso médio unitário dos ovos foi determinado diariamente nos primeiros 17 dias, no 28<sup>o</sup>, 35<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> dias da muda. No segundo ciclo de postura os pesos foram determinados a partir das pesagens de todos os ovos produzidos na parcela nos dois últimos dias de cada período de 28 dias, dividindo-se o peso total dos ovos pelo número de ovos produzidos, sendo expresso em gramas (g). A massa de ovos correspondeu ao produto da produção de ovos pelo seu peso médio.

A gravidade específica (GE, gcm<sup>3-1</sup>) dos ovos foi obtida após a pesagem unitária de todos os ovos produzidos diariamente nos primeiros 17 dias, no 28<sup>o</sup>, 35<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> dias da muda, e nos dois últimos dias de cada período de 28 dias do segundo ciclo de postura, utilizando a metodologia descrita por Freitas et al. (2004).

No segundo ciclo de postura, após a determinação da GE, dois ovos com o peso médio de cada parcela foram quebrados sobre uma mesa de vidro para a avaliação da altura (mm) e do peso (g) do albúmen e também da gema (g). O peso (g) e a espessura (mm) da casca com as membranas foram determinadas após a sua lavagem em água corrente e secagem a temperatura ambiente por 72h. A partir dos dados obtidos, foram determinadas a unidade Haugh (uH), a porcentagem de albúmen (%), a porcentagem de gema (%), a porcentagem de casca (%) e a espessura da casca (mm).

A altura do albúmen foi determinada utilizando um micrometro de precisão (Mitutoyo, Santo Amaro, Brasil), em um ponto médio entre a sua borda externa e a lateral da gema, perpendicular a chalaza (BOARD et al., 1994). A unidade Haugh (uH) foi obtida por meio da fórmula definida por Stadelman (1995), em que  $uH = 100 \times \log (H + 7.57 - 1.7 \times W^{0.37})$ , sendo H = altura do albúmen (mm); 7,57 = fator de correção para altura do albúmen; 1,7 = fator de correção para peso do

ovo e  $W$  = peso do ovo (g). Quanto maior o seu valor, melhor será a qualidade dos ovos, que são classificados segundo a United States Department of Agriculture (USDA) em ovos tipo AA (100 até 72), A (71 até 60), B (59 até 30), C (29 até 0) (BARBOSA FILHO, 2004).

O peso do albúmen (PA) foi determinado em gramas, a partir da diferença entre o peso do ovo (PO) e o peso da gema (PG) somado ao peso da casca (PC) ( $PA=PO - (PG+PC)$ ), sendo relacionada percentualmente ao peso do ovo.

A gema foi separada manualmente do albúmen. O resíduo do albúmen aderido foi removido com o auxílio de papel absorvente, sendo pesada em balança de precisão e determinada a sua proporção em relação ao peso do ovo.

A casca dos ovos, após secagem, foi pesada em balança de precisão (Metler Toledo, Barueri, Brasil), tendo a sua proporção determinada em relação ao peso do ovo. A sua espessura foi determinada com auxílio de um micrômetro digital (Mitutoyo, Santo Amaro, Brasil), em milímetros, em quatro locais: duas medições na sua região mais larga em lados opostos e mais duas, sendo uma em cada extremidade. Os dados obtidos foram transformados no valor médio de cada unidade experimental.

As conversões alimentares por massa de ovos e por dúzia de ovos foram determinadas somente no segundo ciclo de postura. A conversão alimentar por massa de ovos ( $\text{kg kg}^{-1}$ ) foi calculada como a relação entre consumo de ração e a massa de ovos produzida, sendo expressa em kg de ração por kg de massa ovo ( $\text{kg kg}^{-1}$ ). A conversão alimentar por dúzia de ovos foi calculada por meio da relação entre o consumo de ração e o total de dúzias de ovos na parcela, sendo expressa em kg de ração por dúzia de ovos ( $\text{kg dz}^{-1}$ ).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos as análises de normalidade e homogeneidade e posteriormente submetidos a análise de variância utilizando o programa estatístico R (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). Após as análises de variância (ANOVA) e havendo efeito significativo, os níveis de inclusão do L-Trp na ração na muda e os seus efeitos no segundo ciclo de postura foram comparados utilizando o teste de Tukey. Diferenças foram consideradas significativas se  $P < 0,05$ . A soma dos quadrados dos efeitos do triptofano foi decomposta nos efeitos linear e quadrático para as inclusões de L-Trp nas rações e na escolha do modelo de regressão foram considerados o nível de significância e o coeficiente de determinação.

## **Resultados e Discussão**

Os tratamentos experimentais não tiveram efeitos ( $P > 0,05$ ) na taxa de mortalidade durante a muda e no segundo ciclo de postura. A taxa de mortalidade foi nula (0%) nos primeiros 17 dias, 1,25 % dos 18 aos 42 dias de muda e 1,25 % no segundo ciclo de postura. Estes valores são similares aos obtidos por Aygün e Yetisir (2009) que determinaram 1,25 % de mortalidade das

poedeiras durante a muda forçada sem jejum alimentar. No presente trabalho a baixa mortalidade observada pode ser consequência da seleção e padronização das poedeiras antes do início do experimento.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos ( $P>0,05$ ) para os pesos corporais das galinhas no 17º e 42º dia da muda e no segundo ciclo de postura (Tabela 4). As galinhas tiveram uma redução média de 19,99% no peso corporal nos primeiros 17 dias da muda, em relação ao peso inicial (Tabela 5). Baker et al. (1983) e Yousaf et al. (2008) enfatizam que o melhor desempenho produtivo das poedeiras no segundo ciclo de postura está diretamente relacionado com a perda de massa corporal durante a muda, e que esta deve ser de 25 a 30 %. De acordo com Berry (2003) a perda de 25% no peso corporal indica regressão completa do ovário das galinhas. A regressão do ovário, que ocorre devido a parada da síntese de gonadotrofinas, constitui o fator mais importante da muda, pois está diretamente relacionado com o processo de regeneração do trato reprodutor (ARAÚJO et al., 2007).

No 42º dia da muda foi observada recuperação do peso corporal das poedeiras em relação ao 17º dia da muda (1571,09 g vs 1253,74 g) acima do esperado, indicando provável ganho de peso compensatório de 25,35 % (Tabela 5). O ganho de peso compensatório é um fenômeno observado em animais submetidos a um período de restrição alimentar seguido de realimentação, em que exibem velocidades aceleradas na síntese de proteína muscular. Em frangos de corte o fenômeno do crescimento compensatório advém da redução das exigências nutricionais de manutenção durante o período de realimentação, sendo que quanto maior a severidade da restrição, maior é o período exigido para a recuperação do peso (YU; ROBINSON,1992).

**Tabela 4** - Peso corporal das poedeiras ao final dos períodos experimentais avaliados.

Inclusão de L-Trp (%)	Peso médio (g)			
	Muda Forçada(dia)			2º Ciclo (dia)
	1º	17º	42º	112º
0,000	1541,03±24,46	1259,22±12,76	1553,13±36,04	1627,01±21,25
0,043	1591,56±26,78	1262,66±21,75	1592,50±29,32	1666,28±44,63
0,086	1562,56±31,56	1250,94±36,72	1566,72±45,65	1628,59±66,06
0,129	1575,72±57,00	1257,81±46,58	1590,31±54,32	1679,93±96,34
0,172	1564,78±39,15	1238,09±47,06	1552,81±12,75	1607,08±43,94
Média	1567,13	1253,74	1571,09	1641,78
Valor-P	0,5468	0,8748	0,4285	0,4327
ER	NS	NS	NS	NS

ER = Efeito de regressão; NS= não significativo.

Fonte : Elaboração dos autores.

**Tabela 5** - Variações de peso corporal das poedeiras durante os períodos experimentais avaliados.

Inclusão de L-Trp (%)	Variação no Peso (%)		
	Muda Forçada (dia)		2º Ciclo (dia)
	1º a 17º	18º a 42º	1º a 112º
0,000	-18,28±1,16	+23,33± 1,72	+4,79±2,03
0,043	-20,66±1,28	+26,12± 0,99	+4,64±2,75
0,086	-19,95±0,95	+25,25± 1,47	+3,93±2,17
0,129	-20,17±1,52	+26,49± 4,03	+5,58±2,93
0,172	-20,88±1,95	+25,57± 5,28	+3,51±3,33
Média	-19,99	+25,35	+4,49
Valor-P	0,1301	0,6699	0,8350
ER	NS	NS	NS

ER = Efeito de regressão; NS= não significativo.

**Fonte** : Elaboração dos autores.

Aos 112 dias do segundo ciclo de postura observou-se um aumento médio de 4,49% de peso corporal em relação ao primeiro dia da muda, o que era esperado devido ao CR no segundo ciclo de postura acima do relatado no manual da linhagem (103g/ave/dia).

Para as avaliações realizadas na primeira fase da muda forçada (1º ao 17º dias), o consumo de ração (CR, g/ave/dia), o peso médio do ovo (PO, g), a gravidade específica do ovo (GE,  $\text{gcm}^{-3}$ ) e os dias para a parada de postura das poedeiras (PP, dias) não foram influenciados pelos tratamentos experimentais ( $P>0,05$ ) (Tabela 6).

O consumo de triptofano digestível (CTrp, mg/ave/dia), apresentou resposta linear crescente ( $\hat{Y} = 0,0659+0,5979X$  com  $R^2=1,00$  e Valor- $P<0,0001$ ). Como a ingestão da ração foi limitada a 60g de ração  $\text{ave}^{-1} \text{dia}^{-1}$ , o aumento na ingestão diária de L-Trp ocorreu em função do aumento crescente nas rações experimentais.

Com relação ao PO, as médias obtidas foram inferiores às determinadas por Dickey et al. (2012), que encontraram peso médio igual a 65,5 g em galinhas de 80 semanas de idade submetidas à muda forçada com dietas compostas por casca de soja ou por farelo de trigo. Os autores atribuíram o fato à baixa quantidade de energia consumida pelas aves. A baixa ingestão de proteína e de energia influenciam negativamente o peso dos ovos (MOGHADDAM et al., 2012). No presente experimento, nos primeiros 17 dias de muda as poedeiras consumiram 149 kcal de EM/dia e 7,46 g de PB/dia.

**Tabela 6** - Consumo de ração (CR), consumo de triptofano digestível (CTrp), peso do ovo (PO), gravidade específica (GE) e parada de postura (PP) das poedeiras durante a primeira fase da muda forçada (1 a 17 dias).

Inclusão de L-Trp (%)	Parâmetros				
	CR (g/ave/dia)	CTrp (mg/ave/dia)	PO (g)	GE (g cm <sup>3-1</sup> )	PP (dias)
0,000	59,89±0,04	65,90±0,04	61,68±3,70	1,071±0,013	8,25±2,06
0,043	59,85±0,07	90,97±0,11	64,55±2,69	1,068±0,011	8,75±1,71
0,086	59,88±0,06	116,16±0,12	61,11±4,95	1,071±0,010	9,25±2,22
0,129	59,86±0,08	141,27±0,19	65,41±3,53	1,069±0,011	9,00±1,41
0,172	59,82±0,05	166,30±0,14	63,39±4,76	1,066±0,010	8,75±2,06
Média	59,86	116,11	63,23	1,069	8,80
Valor-P	0,5882	<0,0001	0,0626	0,8112	0,9577
ER	NS	<sup>1</sup> L**	NS	NS	NS

NS= não significativo; \*\* (P<0,01); ER= efeito de regressão; <sup>1</sup>L = Efeito de regressão linear.

**Fonte** : Elaboração dos autores.

O valor médio da GE foi de 1,069 g cm<sup>3-1</sup>, indicando baixa qualidade de casca. A GE está relacionada com a quantidade de casca depositada, sendo que 1,080 g cm<sup>3-1</sup> corresponde ao limite entre a baixa e alta qualidade (HARDER et al. 2008). A qualidade da casca está ligada sobretudo ao consumo de cálcio. Em seu estudos Carvalho e Fernandes (2013) relataram que a maior parte do cálcio utilizado para a formação da casca do ovo é proveniente da dieta. Neste experimento, as rações de muda continham 1,5% de Ca, o que correspondeu à ingestão de 0,9 g de cálcio/dia, quantidade esta abaixo das 4,3 g/ave/dia recomendadas pelo manual da linhagem. Outro fator que pode ter influenciado na qualidade da casca foi a baixa ingestão diária de vitamina D, que está diretamente relacionada com o mecanismo de transporte do cálcio para a glandula da casca (BERRY, 2003).

Observou-se que a parada de postura (PP) ocorreu aos 8,8 dias após o início da muda. Este valor é maior que os 5,75 dias e aos 4,42 dias encontrados por Donalson et al. (2005) em galinhas alimentadas à vontade com rações contendo 70% de alfafa, ou submetidas a jejum alimentar, respectivamente. Os autores concluíram que a maior persistência da postura das galinhas alimentadas com a ração contendo alfafa ocorreu em função da ingestão diária de energia.

Souza et al. (2010) também atribuíram à ingestão diária de energia o fato de que galinhas poedeiras em muda, submetidas a alimentação com uma ração com restrição qualitativa dos seus nutrientes em 50 % terem interrompido a ovopostura em 8 dias, enquanto que aquelas submetidas à restrição de 75 % ou ao jejum total suspenderam a produção em 6 dias. Dickey et al (2010) comenta que, devido a necessidade de produção dos hormônios gonadotróficos, a supressão na ingestão do cálcio durante o jejum da muda forçada faz com que a ovopostura cesse em menor tempo, quando comparado com outros tipos de alimentação.

Os tratamentos experimentais não tiveram efeito (P>0,05) para CR, PO e GE no período compreendido entre o 18º e 42º dias da muda e no número de dias para o retorno à postura (Tabela 7).

**Tabela 7** - Consumo de ração (CR), consumo de triptofano (CTrp), peso do ovo (PO), gravidade específica (GE) e retorno a postura (RP) das poedeiras durante a segunda fase da muda forçada (18 a 42 dias).

Inclusão de L-Trp (%)	Parâmetros				
	CR (g/ave/dia)	CTrp (mg/aveqdia)	PO (g)	GE (g cm <sup>3-1</sup> )	RP (dias)
0,000	91,13±2,60	109,40±3,12	64,53±2,79	1,089±0,006	38,75±3,86
0,043	93,29±3,09	149,30±4,95	65,84±2,94	1,088±0,004	40,50±1,73
0,086	92,76±1,11	185,50±2,23	63,07±3,22	1,089±0,004	39,75±1,50
0,129	94,02±2,46	225,70±5,90	65,80±2,42	1,085±0,007	38,75±1,26
0,172	92,63±1,51	259,40±4,24	66,32±5,31	1,087±0,001	38,75±3,86
Média	92,77	185,83	65,11	1,088	39,3
Valor-P	0,5010	<0,0001	0,6882	0,7045	0,8420
ER	NS	L**	NS	NS	NS

ER=efeito de regressão; NS=não significativo; L = Efeito de regressão linear; \*\*( $P<0,01$ ).

**Fonte** : Elaboração dos autores.

O CR foi de 92,77 g/ave/dia, quantidade inferior ao esperado, que era de 100g/ave/dia, o que correspondeu à ingestão de 13,26 g de PB e 261,14 kcal de EM/ave/dia. Este consumo explica o ganho compensatório observado no período, pois os excessos de PB e EM ingeridos foram depositados como massa corporal, já que as poedeiras ainda não estavam em plena ovopostura.

O CTrp apresentou resposta linear crescente significativa ( $P<0,05$ ) em virtude das suas suplementação nas rações, expresso pela equação  $\hat{Y}=0,1106+0,9410X$  com  $R^2= 0,99$  e Valor- $P<0,0001$ .

O peso médio dos ovos (65,11 g) se explica pela maior ingestão diária de proteína pelas aves (13,26 g), em relação aos primeiros 17 dias (7,46 g), estando de acordo com as afirmativas de Gunawardana et al. (2009) e de Moghaddam et al. (2012).

O valor médio de GE (1,088g cm<sup>3-1</sup>), indica boa qualidade da casca dos ovos, como sugerido por Harder et al. (2008). O aumento na ingestão diária de cálcio e de vit. D pode explicar este valor mais elevado, em relação aos primeiros 17 dias de muda forçada.

O RP ocorreu em média aos 39,3 dias após o início da muda. Willis et al. (2009) estudando em galinhas poedeiras os efeitos da muda forçada sem jejum alimentar, observaram que quanto mais rápido estas aves entravam em descanso reprodutivo, mais rapidamente retornavam à produção de ovos, efeito semelhante ao da perda de peso corporal, que quanto maior, mais rápido o retorno a postura.

Segundo Scherer et al. (2009), quanto maior o período de descanso do trato reprodutivo e a perda de peso das aves, mais eficiente será a regressão do ovário e oviduto na muda, e mais eficiente será o seu posterior desenvolvimento e regeneração epitelial. No presente trabalho, independente do tratamento experimental, as aves tiveram um período de descanso semelhante, com parada de postura aos 8,8 dias e retorno à postura aos 39,3 dias, indicando que a regeneração do ovário e do oviduto foi similar para todas as aves submetidas aos diferentes tratamentos.

Houve efeito residual significativo ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos experimentais na muda sobre a produção de ovos (% Postura), PO e CAD, não sendo observados efeitos sobre os demais parâmetros produtivos estudados (Tabela 8).

**Tabela 8** - Consumo de ração (CR), % de postura, peso do ovo (PO), massa de ovos (MO), conversão alimentar por massa de ovos (CAM) e conversão alimentar por dúzia de ovos (CAD) no segundo ciclo de postura.

Inclusão de L-Trp (%)	Parâmetros de desempenho					
	CR (g/ave/dia)	%Postura	PO (g)	MO (g)	CAM (kg kg <sup>-1</sup> )	CAD (kg dz <sup>-1</sup> )
0,000	109,34±10,73	79,85±6,80a	68,40±1,61 a	54,61±4,79	2,00±0,27	1,65±0,22a
0,043	110,52±13,32	73,17±5,75 b	69,87±2,04 a	51,07±3,37	2,13±0,27	1,81±0,24ab
0,086	109,89±13,25	82,53±5,76 a	67,65±2,01 b	55,86±4,61	1,98±0,27	1,60±0,22a
0,129	111,76±15,83	75,77±9,08 a	69,06±1,68 a	52,55±6,65	2,10±0,38	1,90±0,32b
0,172	110,99± 12,54	79,55±4,98 a	68,50± 1,60a	54,50±3,86	2,04±0,25	1,68±0,21ab
Média	110,51	78,69	68,69	54,04	2,06	1,73
Valor-P	0,985	0,001	0,014	0,055	0,075	0,005
ER	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si ( $P < 0,05$ ); ER = efeito de regressão; NS= não significativo.

**Fonte** : Elaboração dos autores.

Para a % Postura, a inclusão de 0,043 % de L-Trp ocasionou a menor média, enquanto os demais tratamentos não diferiram entre si, indicando que a ração basal sem adição de L-Trp garantiu a produção de ovos no segundo ciclo de postura. A média obtida para a ração basal (79,85%) está no intervalo citado por Bell (2003), para quem a produção de ovos varia entre 75 e 85% no segundo ciclo de postura. Antes do início da muda, a taxa de postura das aves deste experimento era de 75,35%, havendo, portanto, considerável elevação no seu valor no segundo ciclo de postura considerando a idade elevada das aves, concordando com os resultados obtidos por Alodan e Mashaly (1999), que também encontraram aumento significativo na produção de ovos após a muda forçada.

A menor média de PO ( $P < 0,05$ ) foi obtida para o tratamento com a inclusão de 0,086% de L-Trp, não sendo observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os demais tratamentos experimentais, indicando também que a ração basal sem inclusão de L-Trp garantiu um PO semelhante às demais inclusões de L-Trp. O valor mais elevado de PO (68,69g), em relação ao obtido na fase da muda, pode ser atribuído ao maior consumo diário de ração pelas aves nesta fase e segundo Dickey et al. (2012), o peso dos ovos é influenciado pelo consumo de energia e de proteína.

Os efeitos residuais significativos sobre % Postura e PO não se traduziram em efeitos significativos ( $P > 0,05$ ) na MO, que apresentou médias semelhantes entre os tratamentos experimentais. O valor médio de MO determinado (54,04 g), foi superior ao encontrado por Scherer et al. (2009), 45,4 g, e por Souza et al. (2010), 44,44 g, em galinhas pós muda forçada.

A pior média para CAD ( $P < 0,05$ ), ocorreu para a inclusão de 0,129 % de L-Trp na ração de muda, enquanto que as médias dos demais tratamentos não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ),

indicando suficiência da ração basal sem inclusão de L-Trp para esta característica. Este resultado contradiz os de Lima et al. (2012), para quem as suplementações de Trp nas rações ocasionaram modificações histológicas benéficas no trato digestório de poedeiras, com melhora na absorção de nutrientes, aumento na produção de ovos e maior eficiência na conversão alimentar por dúzia de ovos.

Com relação à qualidade dos ovos, os tratamentos experimentais na muda não tiveram efeito ( $P>0,05$ ) no segundo ciclo de postura para a gravidade específica (GE), espessura da casca (EC), porcentagem de gema (PG) e porcentagem de albúmen (PA) (Tabela 9).

A média de GE obtida ( $1,078 \text{ g cm}^{-3}$ ) indica que de forma geral as cascas dos ovos tinham baixa qualidade. Segundo Harder et al. (2008) o valor de  $1,080 \text{ g cm}^{-3}$  corresponde ao limite entre uma casca de baixa e de alta qualidade. Quanto menor o seu valor, maior é o percentual de ovos quebrados.

**Tabela 9**– Gravidade específica (GE), espessura da casca (EC), porcentagem de casca (PC), unidade Haugh (uH), porcentagem de gema (PG) e porcentagem de albúmen (PA) no segundo ciclo de postura.

Inclusão de L-Trp (%)	Parâmetros de Qualidade dos Ovos					
	GE ( $\text{g cm}^{-3}$ )	EC (mm)	PC	uH	PG	PA
0,000	1,080±0,007	0,589±0,024	8,844±0,358	85,344±3,579	26,465±0,622	64,691±0,658
0,043	1,079±0,012	0,586±0,021	8,601±0,302	84,726±3,722	26,958±1,789	64,442±1,938
0,086	1,076±0,007	0,580±0,015	8,555±0,353	87,862±3,017	26,648±0,697	64,798±0,719
0,129	1,075±0,007	0,579±0,020	8,248±0,286	86,492±3,657	26,730±1,121	65,022±0,999
0,172	1,081±0,011	0,581±0,016	8,601±0,387	86,705±2,739	26,276±1,069	64,124±1,237
Média Geral	1,078	0,583	8,615	86,426	26,620	64,815
Valor-P	0,2443	0,5775	0,0476	0,0424	0,798	0,823
ER	NS	NS	Q**	Q*	NS	NS

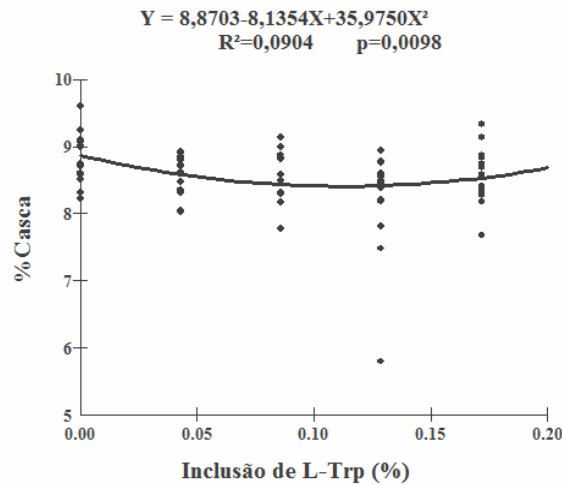
ER = efeito de regressão; \*\* ( $P<0,01$ ), \* ( $P<0,05$ ); Q=Efeito de regressão quadrático; NS= não significativo.

**Fonte** : Elaboração dos autores

Segundo Ramos et al. (1999) a casca do ovo tende a enfraquecer com o decorrer do tempo pós muda, causado pelo aumento do seu tamanho e pela sua má calcificação. De acordo com Keshavarz e Nakajima (1993), o decréscimo da qualidade da casca com a idade é resultado da queda de habilidade na absorção de cálcio intestinal e mobilização do cálcio ósseo, que é de 60 % em aves jovens reduzindo para 40 % nas mais velhas.

Observou-se efeito quadrático significativo ( $P<0,01$ ) das inclusões de L-Trp sobre a porcentagem de casca (PC) no segundo ciclo de postura, expresso pela equação  $Y=8,8703-8,1354X+35,9750X^2$  com  $R^2=0,09$  e Valor-P=0,0098, em que a inclusão estimada de 0,112 % L-Trp causou a sua menor proporcionalidade (Figura 1). Este resultado discorda dos obtidos por Lima et al. (2012), para quem, por melhorar a capacidade absorptiva das vilosidades no intestino delgado, as inclusões de Trp na ração das galinhas aumentam a síntese da casca do ovo.

**Figura 1** - Efeito de regressão das inclusões de Trp durante a muda forçada sobre a PC (% de casca) dos ovos no segundo ciclo de postura.



**Fonte :** Elaboração dos autores.

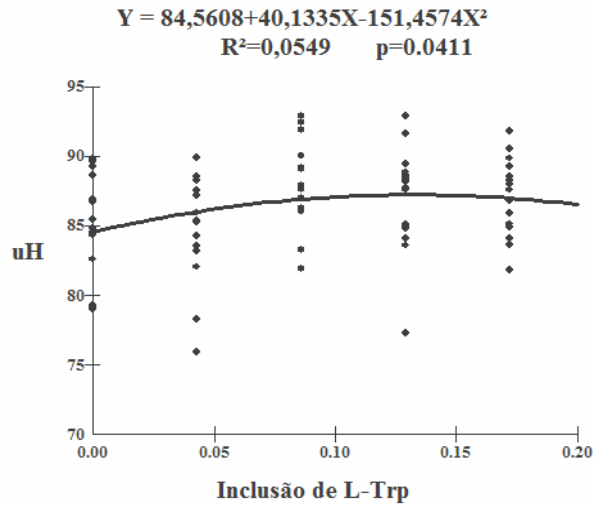
As porcentagens da gema (PG) e de albúmen (PA) são obtidas a partir dos seus pesos em relação ao peso do ovo. As diferenças significativas advindas dos tratamentos na muda sobre o PO no segundo ciclo de postura não se refletiram nos valores relativos destas variáveis.

O tamanho e a constituição da gema dependem basicamente de componentes oriundos do fígado. Há uma correlação positiva entre o peso do fígado e o peso da gema, e entre esta e o peso do ovo. Como não foram verificadas diferenças nas proporcionalidades da gema em relação ao ovo, supõe-se que as poedeiras tinham fígado de mesmo tamanho, indicando recuperação deste órgão de forma igual para os diferentes tratamentos na muda forçada.

Com relação à percentagem do albúmen, sabe-se que, além do magno, a sua secreção também ocorre no infundíbulo, no istmo e no útero das galinhas. Os resultados obtidos neste experimento permitem concluir que as inclusões de L-Trp durante a muda forçada não tiveram os mesmos efeitos estimulantes nas glândulas secretoras albúmen, como os encontrados no magno por Lima et al. (2012).

Houve efeito residual quadrático significativo ( $P < 0,05$ ) das inclusões de triptofano nas rações durante a muda sobre a uH no segundo ciclo de postura, expresso pela equação  $Y = 84,5608 + 40,1335X - 151,4574X^2$  com  $R^2 = 0,0549$  e Valor- $P = 0,0411$ , sendo o seu valor máximo estimado para a inclusão de 0,132% L-Trp (Figura 2).

**Figura 2** - Efeito de regressão das inclusões de Trp durante a muda forçada sobre a uH (unidade Haugh) no segundo ciclo de postura.



**Fonte :** Elaboração dos autores.

Segundo Alleoni e Antunes (2001), a uH é o parâmetro mais utilizado para expressar a qualidade do albúmen. Quanto maior o seu valor, melhor a qualidade do ovo (CARVALHO et al., 2007). Como no magno ocorre a secreção do albúmen denso, os resultados obtidos no presente experimento são condizentes com os de Lima et al. (2012), que encontraram maior secreção de albúmen denso no magno de poedeiras alimentadas com rações suplementadas com triptofano. As médias obtidas no presente experimento classificam os ovos como AA pelo padrão do USDA (BARBOSA FILHO, 2004)

### Conclusões

Galinhas poedeiras com 100 semanas de idade, submetidas a muda forçada sem jejum alimentar, interromperam a produção de ovos aos 8,8 dias, perderam 19,99 % do seu peso corporal no 17º dia e retornaram a ovopostura aos 39,3 dias de muda.

A suplementação de L-triptofano durante a muda forçada sem jejum alimentar não interfere no desempenho produtivo e qualidade dos ovos de galinhas poedeiras no segundo ciclo de postura.

### Referências Bibliográficas

ALLEONI, A.C.C.; ANTUNES, A.J. A unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.4, p.681-685, 2001.

ALODAN, M.A.; MASHALY, M.M. Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n. 2, p. 171-177, 1999.

ARAÚJO, C.S.S.; ARTON, S.M.B.; ARAÚJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M.; BARBOSA, L.C.G.S.; LIMA, C.G. Morfometria do oviduto de poedeiras comerciais semipesadas submetidas a diferentes métodos de muda forçada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.241-246, 2007.

AYGÜN, A.; YETISIR, R. Researches on the responses of different hybrid layers with respect to egg production performances to forced molting programs with and without feed withdrawal. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v.8, n.12, p.2680-2686, 2009.

AYGÜN, A.; YETISIR, R. Effects of hen age and force molting programs on production performances during post molt period in laying hens. **International Journal of Applied Poultry Research**, Peshawar, v. 2, n. 1, p. 7-11, 2013.

BAKER, M.; BRAKE, J.; McDANIEL, G.R. The relationship between body weight loss during an induced molt and post molt egg production, egg weight, and shell quality in caged layers. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, n. 3, p. 409–413, 1983.

BARBOSA FILHO, J.A.D. Avaliação do bem-estar das aves poedeiras em diferentes sistemas de produção e condições ambientais utilizando à análise de imagens. 2004. 141f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Programa de Pós-graduação em Agronomia. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

BELL, D.D. Historical and current molting practices in the U.S. table egg industry. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.6, p.965–970, 2003.

BERRY, W.D. The physiology of induced molting. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 6, p. 971–980, 2003.

BOARD, R. G.; LOCK, J.; DOLMAN, J. The egg: a compartmentalized, aseptically package food. In: BOARD, R. G.; FULLER, R. **Microbiology of the Avian Egg**, London: Chapman & Hall, 1994. p. 95-99.

CALDERANO, A.A.; GOMES, P.C.; DONZELE, J.L.; BARRETO, S.L.T.; VELLASCO, C.R. ; MELLO, H.H.C.; I; LELIS, G.R.I.; ROCHA, T.C. Digestible tryptophan: digestible lysine ratio in diets for laying hens from 24 to 40 weeks of age. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.10, p. 2176-2182, 2012.

CARVALHO, F.B.C.; STRINGHINI, J.H.; JARDIM FILHO, R.M.; LEANDRO, N.S.M.; CAFÉ, M.B.; DEUS, H.A.S.B. Qualidade interna e da casca para ovos de poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idades. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 1, p. 25-29, 2007.

CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, Recife, v.7, n.1, p.35-44, 2013.

CORZO, A.; KIDD, M.T.; THAXTON, J.P.; KERR, B.J. Dietary tryptophan effects on growth and stress responses of male broiler chicks. **British Poultry Science**, Edinburg, v.46, n.4, p.478-484, 2005.

DICKEY, E.R.; BREGENDAHL, K.; STALDER, K.; FITZGERALD, R.; JOHNSON, A.K. Effects of a pre molt calcium and low-energy molt program on laying hen behavior and heterophil-to-lymphocyte ratios. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 2317–2325, 2010.

DICKEY, E.R.; JOHNSON, A.K.; STALDER, K.J.; BREGENDAHL, K. Effects of a pre molt calcium and low-energy molt program on laying hen performance, egg quality and economics. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 2, p. 292–303, 2012.

DONALSON, L.M.; KIM, W.K.; WOODWARD, C.L.; HERRERA, P.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v.84, n.3, p.362–369, 2005.

EMADI, M.; JAHANSHIRI, F.; KAVEH, K.; HAIR-BEJO, M.; IDERIS, A.; ALIMON, R. Tryptophan stimulates immune response in broiler chickens challenged with infectious bursal disease vaccine. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 9, n.3, p. 610-616, 2010.

FREITAS, E.F.; SAKOMURA, N.K.; GONZALEZ, M.M.; BARBOSA, N.A.A. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.509-512, 2004.

GUNAWARDANA, P.; ROLAND Sr., D.A.; BRYANT, M.M. Effect of dietary energy, protein, and a versatile enzyme on hen performance, egg solids, egg composition, and egg quality of Hy-Line W-36 hens during second cycle, phase two. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v. 18, n. 1, p. 43–53, 2009.

HARDER, M.N.C.; BRAZACA, S.G.C.; SAVINO, V.J.M; COELHO, A.A.D. Efeito de *Bixa orellana* na alteração de características de ovos de galinhas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.4, p.1232-1237, 2008.

KESHAVARZ, K.; NAKAJIMA, S. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 144-153, 1993.

LIMA, M.R.; COSTA, F.G.P.; GUERRA, R.R; DANTAS, L.S.; CAVALCANTE, L.E. **Aminoácidos funcionais na nutrição de poedeiras. Revista Avisite. 10/05/2012**  
<[www.avisite.com.br/cet/img/20120510\\_aminoacidos.doc](http://www.avisite.com.br/cet/img/20120510_aminoacidos.doc)> Acesso em 10/10/2014.

LI, P.; YIN, Y; LI, D.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, n. 2, p. 237–252, 2007.

MARIN, J.F.V. **Níveis nutricionais de triptofano digestível e energia metabolizável para codornas japonesas em postura**. 2014. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.

MOGHADDAM, H. N.; FARD, M. K.; AGAH, M.J.; HOSSEINI, S.J.; MIRAKZEHI, M.T. Effect of different levels of methionine, protein and tallow on the productive performance and egg quality of laying hens in the late-phase production. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 14, n.2, p. 149-158, 2012.

MURAKAMI, A. E.; FIQUEIREDO, D. F.; PERRUZI, A. Z.; FRANCO, J. R G.; SAKAMOTO, M. I. Níveis de sódio para poedeiras comerciais no primeiro segundo ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.32, n. 6, p.1674-1680, 2003.

PARK, S.Y.; KIM, W.K.; BIRKHOOD, S.G.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Induced molting issues and alternative dietary strategies for the egg industry in the United States. **World's Poultry Science Journal**, London, v. 60, n.2, p.196-209, 2004.

R - DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011, ISBN 3-900051-07- 0. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em 12/11/2014.

RAMOS, R. B.; FUENTES, M. F. F.; ESPÍNDOLA, G. B.; LIMA, F. A. Efeito de diferentes métodos de muda forçada sobre o desempenho de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, n. 6, p. 1340-1346, 1999.

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

SCHERER, M.R.; GARCIA, E.A.; BERTO, D.A.; MOLINO, A.B.; FAITARONE, A.B.G.; PELÍCIA, K.; SILVA, A.P.; MORI, C. Efeito dos métodos de muda forçada sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais durante o segundo ciclo produtivo. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 195-203, 2009.

SOUZA, K.M.R.; CARRIJO, A.S.; ALLAMAN, I.B.; FASCINA, V.B.; MAUAD, J.R.C.; SCHERER, M.R.; GARCIA, E. A.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. B.; FAITARONE, A.B.G. Efeito dos métodos de muda forçada sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais durante segundo ciclo produtivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.16, n.1, p.295-203, 2010.

STADELMAN, W.J. Quality identification of shell eggs. In: STADELMAN, W.J.; COTTERIL, O.J (Eds.). **Egg science and technology**. New York: Haworth Press, 1995. p. 39-66.

WILLIS, W.L.; ISIKHUEMHEN, O.S; ALLEN, J.W.; BYERS, A.; KING, K.; THOMAS, C. Utilizing fungus myceliated grain for molt induction and performance in commercial laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 10, p. 2026–2032, 2009.

YOUSAF, M.; AHMAD, N.; KHAN, S.; AHMAD, T. Effect of non-feed withdrawal induced molting techniques on feather molt scoring and egg production of caged hens. **Sarhad Journal Agriculture**, Peshawar, v.24, n.2, p. 331-338, 2008.

YU, M.W.; ROBINSON, F.E. The application of short-term feed restriction to broiler chicken production: a review. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.1, n. 1, p. 147-153, 1992.

## 4.2 ARTIGO 2

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da *Revista Semina*

**L-triptofano em rações de galinhas poedeiras em muda forçada sem jejum alimentar –  
Parâmetros hematológicos e histologia do baço**

**L-tryptophan in feeds to laying hens in forced molting without fasting – Hematological  
parameters and spleen histology**

**Resumo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das inclusões de L-triptofano (L-Trp) na ração de muda, sobre os parâmetros hematológicos e a histologia do baço de galinhas poedeiras durante a muda forçada e no período pós-muda. Um total de 160 galinhas poedeiras Leghorn brancas com 100 semanas de idade foram submetidas a um programa de muda forçada de 42 dias e a um segundo ciclo de postura de 112 dias. Nos primeiros 17 dias da muda os tratamentos experimentais consistiram de cinco rações, caracterizadas por uma ração basal-1 com quatro inclusões de L-Trp (0,043, 0,086, 0,129 e 0,172 %), totalizando rações com 0,110; 0,152; 0,195; 0,238 e 0,280 % de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 60 g/ave/dia. Do 18° ao 42° dias da muda os tratamentos consistiram de uma ração basal-2 com mesmas inclusões de L-Trp, totalizando rações com 0,120; 0,162; 0,205; 0,248 e 0,290 % de triptofano digestível, fornecidas na quantidade de 100 g/ave/dia. A partir do 43° dia as poedeiras foram alimentadas à vontade com uma mesma ração de postura. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 8 aves cada. Os tratamentos experimentais não mostraram efeitos na glicemia e parâmetros do eritrograma durante a muda forçada e no segundo ciclo de postura. As inclusões de L-Trp mantiveram os valores de leucócitos e de linfócitos durante a muda semelhantes aos valores de D0, porém não houve efeito dos tratamentos para estes dois parâmetros no segundo ciclo de postura. Não houve efeito dos tratamentos experimentais sobre a relação heterófilo:linfócito durante a muda, havendo redução significativa dos valores deste parâmetro no segundo ciclo de postura para as inclusões de 0,086; 0,129 e 0,172 % de inclusão de L-Trp nas rações durante a muda. Foi observada resposta linear no número de heterófilos no 42° dia da muda e resposta quadrática no 112° dia do segundo ciclo de postura com valor mínimo para a inclusão estimada de 0,157% de L-Trp. A inclusão de 0,086% de L-Trp nas rações de muda aumentaram a área relativa de polpa branca do baço. Considerando os valores da relação heterófilo:linfócitos no segundo ciclo de postura e o aumento da área relativa de polpa branca do baço durante a muda, conclui-se que a inclusão de 0,086% de L-Trp nas rações durante a muda forçada foi a mais eficiente.

**Palavras Chave:** Eritrograma. Estresse. Glicose. Imunidade. Leucograma.

**Abstract**

The objective of this study was to evaluate the effects of L-tryptophan inclusions (L-Trp) in the diet of molt, on hematological parameters and histology of the spleen of laying hens during the forced molt and in the post-molt. One hundred and sixty white Leghorn hens 100 weeks of age were subjected to a forced molt of program of 42 days and a laying second cycle of 112 days. In the first 17 days of the molt the experimental treatments consisted of five diets, characterized by a basal-1 diet with four L-Trp inclusions (0.043, 0.086, 0.129 and 0.172%), totalizing diets with 0.110; 0.152; 0.195; 0.238 and 0.280% digestible tryptophan, provided the diets in amount of 60 g / bird / day. From 18<sup>th</sup> to 42<sup>th</sup> days of molt the treatments consisted of a basal-2 diet with the same inclusions of L-Trp, totalizing diets with 0.120; 0.162; 0.205; 0.248 and 0.290% digestible tryptophan, provided the diets in the amount of

100g / bird / day. From the 43<sup>th</sup> day, laying hens had been fed *ad libitum* with the same layings diet. The experimental design was completely randomized with four replications of eight birds. The treatments showed no effects on blood glucose and erythrocyte parameters during forced molting and the second laying cycle. The L-Trp inclusions maintained the values of leukocytes and lymphocytes during molting similar to D0 values, but there was no effect of the treatments for these two parameters in the second laying cycle. No effects of experimental treatments on the heterophil: lymphocyte during molting, there was a significant reduction in the value of this parameter in the second laying cycle for the inclusions of 0.086; 0.129 and 0.172% of L-Trp in feed during molting. Linear response was observed in the number of heterophil on the 42<sup>th</sup> day of molt and quadratic response on the 112<sup>th</sup> day of the second laying cycle with minimum value for the inclusion of estimated 0.157% L-Trp. Inclusion of 0.086% L-Trp in the feed of molt increased the relative area of the white pulp of the spleen. Considering the the relationship of values heterophil: lymphocyte in the second laying cycle and the increase of the relative area of the white pulp of the spleen during molting it can be concluded that the inclusion of 0.086% L-Trp in feeds during the forced molting was more efficient.

Keywords: Erythrogram. Glucose. Immunity. Stress. WBC.

### Introdução

Na indústria avícola as poedeiras são induzidas a estenderem a sua vida reprodutiva por meio do uso da muda forçada. O sistema mais difundido para a aplicação desta técnica em galinhas se baseia no jejum alimentar e retirada da iluminação artificial, ocorrendo regressão do trato reprodutivo e parada na postura, com posterior retorno à produção e melhoria na sua qualidade dos ovos (TEIXEIRA; CARDOSO, 2011). Segundo Webster (2003), a privação alimentar é tida como o melhor método para a indução da muda forçada, por ser o de mais fácil aplicação e o que apresenta melhores resultados. No entanto, este método tem sido criticado por ser estressante, podendo causar danos metabólicos e fisiológicos irreparáveis ao organismo das aves (PARK et al., 2004), pois normalmente são observadas alterações significativas nos sistemas imune e hematopoiético das poedeiras (ALODAN; MASHALY, 1999). Segundo Colditz (2002) o organismo em estresse, ao ativar o sistema imune prioriza a divisão dos nutrientes entre defesa, crescimento e produção. Neste sentido, Klasing (1998) afirma que os níveis de nutrientes dietéticos ótimos para a produção e eficiência alimentar podem não ser suficientes para garantir uma resposta imune adequada quando as galinhas estiverem submetidas a situações estressantes.

O baço da galinha é um órgão linfóide secundário e sua importância na resposta imune se deve à ausência de linfonodos nesta espécie (DAVISON et al., 2008). Este órgão armazena os linfócitos provenientes dos órgãos linfóides primários, respondendo a antígenos presentes na circulação sanguínea, além de ser responsável também pela seleção e destruição de hemácias envelhecidas (SMITH; HUNT, 2004). As análises histológicas e a determinação da composição celular do baço, como as realizadas por Andrade (2011), podem ser consideradas mais eficientes na avaliação da resposta imune do que os estudos das variações do peso do baço como os realizados por Abo Elouun (2009).

O triptofano é um aminoácido essencial para galinhas poedeiras, sendo precursor da serotonina, um neurotransmissor ligado à sensação de bem estar (CORZO et al., 2005), atuando também na resposta imunológica (EMADI et al, 2010) e na função produtiva (ROSTAGNO et al., 2011). Emadi et al. (2010) encontraram aumento nos níveis séricos de marcadores imunológicos (interferon- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  e IgY) em frangos de corte alimentados com rações contendo inclusões crescentes de Trp e desafiados pelo vírus da doença infecciosa da Bursa (IBDV).

Considerando que vários trabalhos descrevem os efeitos benéficos do triptofano dietético na produção e qualidade dos ovos de galinhas poedeiras (Lima et al., 2013) ou na melhoria dos parâmetros imunológicos em situações de estresse (EMADI et al, 2010) e que não foram encontradas citações sobre o seu uso na ração durante a muda forçada, este trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos das inclusões L-triptofano na ração sobre os parâmetros hematológicos (glicemia e hemograma) e histológicos do baço de galinhas poedeiras durante a muda forçada sem jejum alimentar, bem como verificar os efeitos residuais destas inclusões no segundo ciclo de postura.

### **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no setor de avicultura de postura da Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, tendo o seu protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, processo CEUA nº10.965.2013.83. Para a região, durante o período experimental, a temperatura média foi de 19,66 °C e a umidade relativa média foi de 53,39 % segundo dados do IAPAR – Londrina/PR.

Foram utilizadas 160 galinhas poedeiras leves tipo Leghorn com 100 semanas de idade, previamente submetidas ao controle individual de produção de ovos por 14 dias.. Ao final deste período, as aves foram uniformizadas pelo peso corporal (média de 1567,13 g) e intensidade de postura (média de 75,35 % de % de postura) e distribuídas em 20 gaiolas de arame, oito aves por gaiola, que constituiram as parcelas experimentais. Estas gaiolas, medindo 100x40x40 cm, com disponibilidade de 500 cm<sup>2</sup>/ave, estavam dispostas em quatro filas sobrepostas, laterais a um corredor central, em um aviário convencional para postura, aberto, com 24 m de comprimento, 5,50 m de largura e 2,80 m de pé-direito, com cobertura de telhas de fibrocimento. Foram utilizados bebedouros tipo copo, dispostos lateralmente entre as divisórias das gaiolas, atendendo a quatro aves cada e comedouros, tipo calha, de madeira, instalados à frente das gaiolas.

A muda forçada teve duração de 42 dias, sendo que uma semana antes do seu início as poedeiras foram submetidas a um programa de alimentação pré-muda conforme o manual da linhagem genética e a um programa de iluminação de 24 horas de luz/dia (luz natural + artificial), que foi reduzido somente a luz natural do 1º até 20º dia da muda, sendo restabelecida a partir no 21º dia, quando foram fornecidas 14 horas de luz/dia, seguida de aumentos semanais de 1 hora até totalizar 17 horas de luz/dia.

Nos primeiros 17 dias da muda, caracterizados pela perda de peso corporal e parada reprodutiva, estas galinhas foram submetidas a cinco tratamentos experimentais, constituídos por uma ração basal-1 contendo 0,11 % de triptofano digestível, 2.500 kcal de energia metabolizável por quilograma (EM kg<sup>-1</sup>) e 12,6 % de proteína bruta (PB), adicionada com 0,043, 0,086, 0,129 e 0,172 % do aminoácido L-Triptofano 99 % (Trp), totalizando cinco rações com 0,110; 0,152; 0,195; 0,238 e 0,280 % de triptofano digestível (Tabela1), fornecidas na quantidade de 60 g/ave/dia.

**Tabela 1** - Composição das rações experimentais fornecidas entre o 1º e 17º dias da muda forçada.

Ingrediente (kg ton <sup>-1</sup> )	Basal-1	L-Triptofano (%)			
		0,043	0,086	0,129	0,172
Farelo de trigo	495,260	495,260	495,260	495,260	495,260
Milho	446,110	446,110	446,110	446,110	446,110
Farelo de Soja	12,810	12,810	12,810	12,810	12,810
Calcário	34,550	34,550	34,550	34,550	34,550
Fosfato bicálcico	3,690	3,690	3,690	3,690	3,690
Supl. vitamina+mineral <sup>1</sup>	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Cloreto de colina	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
DL-Metionina (99%)	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
Areia fina lavada	5,000	4,570	4,140	3,710	3,280
L-triptofano (99%)	0,00	0,430	0,860	1,290	1,720
<b>Exigências atendidas</b>					
EM (Kcalkg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500
Proteína bruta (%)	12,600	12,600	12,600	12,600	12,600
Cálcio (%)	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
Fósforo disponível (%)	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250
Isoleucina digestível (%)	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320
Lisina digestível (%)	0,360	0,360	0,360	0,360	0,360
Metionina digestível (%)	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160
Met+Cist. <sup>3</sup> digestível (%)	0,360	0,360	0,360	0,360	0,360
Valina digestível (%)	0,430	0,430	0,430	0,430	0,430
Triptofano digestível (%)	0,110	0,152	0,195	0,238	0,280
Sódio (%)	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Relação triptofano:lisina	0,306	0,422	0,538	0,655	0,772

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

<sup>2</sup>Energia metabolizável ; <sup>3</sup>Metionina + cistina

**Fonte :** Elaboração dos autores.

Do 18º ao 42º dias da muda, fase de indução ao retorno à postura, as poedeiras foram alimentadas com cinco rações experimentais, constituídas por uma ração basal 2, contendo 0,12 % de triptofano digestível, 2.815 kcal de EM/kg e 14,3 % PB, adicionada com 0,043, 0,086, 0,129 e 0,172 % de L-triptofano 99 % (Trp), totalizando cinco rações com 0,120; 0,162; 0,205; 0,248 e 0,290 % de triptofano digestível (Tabela 2), fornecidas na quantidade restrita de 100 g/ave/dia.

**Tabela 2** - Composição das rações experimentais fornecidas entre o 18° e 42° dias da muda forçada.

Ingrediente (kg ton <sup>-1</sup> )	Basal-2	L-Triptofano (%)			
		0,043	0,086	0,129	0,172
Milho	675,310	675,310	675,310	675,310	675,310
Farelo de Soja	122,400	122,400	122,400	122,400	122,400
Far. Carne e ossos (45 %)	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
Calcário	109,240	109,240	109,240	109,240	109,240
Fosfato bicálcico	11,740	11,740	11,740	11,740	11,740
Óleo de soja	7,890	7,890	7,890	7,890	7,890
Supl. Vit+mineral <sup>1</sup>	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Cloreto de colina	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Cloreto de sódio	2,940	2,940	2,940	2,940	2,940
DL-Metionina (99 %)	2,730	2,730	2,730	2,730	2,730
L-Lisina (99 %)	3,900	3,900	3,900	3,900	3,900
L-Valina (100 %)	2,170	2,170	2,170	2,170	2,170
L-Isoleucina (100 %)	2,170	2,170	2,170	2,170	2,170
Amido	1,480	1,160	0,810	0,520	0,200
Areia fina lavada	0,950	1,220	1,510	1,740	2,010
L-Alanina (99 %)	4,580	4,200	3,830	3,460	3,080
L-Triptofano (99 %)	0,000	0,430	0,860	1,290	1,720
<b>Exigências atendidas</b>					
EM <sup>2</sup> (Kcal kg <sup>-1</sup> )	2.815	2.815	2.815	2.815	2.815
Proteína bruta (%)	14,300	14,300	14,300	14,300	14,300
Cálcio (%)	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
Fósforo disponível (%)	0,590	0,590	0,590	0,590	0,590
Isoleucina digestível (%)	0,670	0,670	0,670	0,670	0,670
Lisina digestível (%)	0,840	0,840	0,840	0,840	0,840
Metionina digestível (%)	0,470	0,470	0,470	0,470	0,470
Met+Cist <sup>3</sup> . digestível (%)	0,670	0,670	0,670	0,670	0,670
Valina digestível (%)	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720
Triptofano digestível (%)	0,120	0,162	0,205	0,248	0,290
Sódio (%)	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Relação triptofano:lisina	0,143	0,190	0,238	0,286	0,333

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

<sup>2</sup>Energia metabolizável ; <sup>3</sup>Metionina + cistina

**Fonte :** Elaboração dos autores.

No 43° dia iniciou-se o segundo ciclo de postura, que teve a duração de 112 dias, durante os quais todas as galinhas foram alimentadas à vontade com a mesma ração de postura contendo 2.815 kcal de EM/kg, 16,36 % de PB e 0,15 % de triptofano digestível (Tabela 3).

As rações foram calculadas com base nas recomendações do manual da linhagem, e as composições dos ingredientes utilizados nas formulações das rações foram as citadas nas tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2011). Para que as rações experimentais fossem isoprotéicas e isocalóricas foi utilizadas areia fina lavada, amido e L-alanina (99%). A fonte de triptofano foi o L-triptofano (99%).

**Tabela 3** - Composição da ração fornecida no segundo ciclo de postura.

Ingredientes	Kg ton <sup>-1</sup>
Milho	654,140
Farelo de soja (45 %)	183,950
Farinha carne e ossos (45 %)	50,000
Óleo de soja	7,440
Calcário	91,400
Fosfato bicálcico	6,3400
Sup. vitamínico+mineral <sup>1</sup>	2,000
Cloreto de sódio	2,600
Cloreto de colina	0,500
DL-metionina (99%)	1,380
L-lisina (99%)	0,250
<b>Exigências atendidas</b>	
Energia metabolizável (kcal kg <sup>-1</sup> )	2815
Proteína bruta (%)	16,360
Cálcio (%)	4,310
Fósforo disponível (%)	0,500
Isoleucina digestível (%)	0,570
Lisina digestível (%)	0,710
Metionina digestível (%)	0,370
Metionina+Cistina digestível (%)	0,600
Treonina digestível (%)	0,520
Triptofano digestível (%)	0,150
Valina digestível (%)	0,650
Sódio (%)	0,170
Relação triptofano: lisina	0,211

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico-mineral por kg: Vit. A 4.500.000 UI, Vit. D3 900.000 UI, Vit. E 4.000 UI, Vit. B1 625 mg, Vit. B2 2.000 mg, Vit. B6 625 mg, Vit. B12 5.000 mcg, Vit. K3 1.000 mg, Pantotenato de cálcio 4.000 mg, Niacina 10 g, Ácido fólico 125 mg, Biotina 12,5 mg, BHT 1000mg, Zinco 24g, Ferro 21 g, Manganês 27 g, Cobre 4.700 mg, Iodo 435 mg, Cobalto 88 mg, Selênio 125mg, Veículo Q.S.P 1.000 g.

**Fonte :** Elaboração dos autores.

Um dia antes do início do experimento, chamado D0, após 12 horas de jejum foram recolhidas amostras de sangue e de baço de 6 galinhas. Inicialmente foi obtida uma gota de sangue da crista de cada ave para determinação da glicose sanguínea, por meio de amperometria utilizando o glicosímetro AccuChek, Roche® (Jacarepaguá, Brasil). Posteriormente foram recolhidas amostras de 1mL de sangue de cada galinha, por punção da veia braquial da asa (ulnar cutânea), utilizando seringas de 5 mL e agulha 25x7, e dispostas em tubos com EDTA identificados individualmente, para posterior determinação do hemograma. Outras amostras de sangue foram obtidas de três galinhas de cada tratamento experimental no 17º e no 42º dias da muda forçada e no final do segundo ciclo de postura.

As análises do hemograma foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina de acordo com a metodologia descrita por Weiss e Wardrop (2010). A contagem total de leucócitos e hemácias foi determinada pelo método

direto, em câmara de Neubauer, utilizando a solução diluente de Natt-Herrick. A concentração de hemoglobina foi determinada por meio de espectrofotometria e a determinação do volume globular pelo método do microhematócrito.

A contagem diferencial foi realizada em esfregaços corados pelo método de Panótipo, diferenciando-se heterófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos.

Foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e a relação heterófilo:linfócito (H:L).

Após a coleta de sangue, as galinhas amostradas foram eutanasiadas por meio de insensibilização por eletronarose, sacrificadas por secção da veia jugular e necropsiadas para obtenção dos baços, que foram imediatamente fixados em formol por 12h e transferidas para solução de álcool a 70% ou fixadas em solução de Bouin. O material foi processado conforme a metodologia descrita por Eto (2010). Foram confeccionadas duas lâminas de cada baço, sendo fotografados 5 campos aleatórios por lâmina. A mensuração das áreas de polpa branca e polpa vermelha foi realizada em microscópio óptico em aumento de 10x, utilizando o sistema de captura de imagens Moticam e software Motic Images Plus 2.0 (Motic, Xiamen, China). As áreas de polpa branca e polpa vermelha foram determinadas em  $\mu\text{m}^2$  e convertidas em porcentagem de área.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Para as análises de variância foi utilizando o programa estatístico R (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). Após as análises de variância (ANOVA) e havendo efeito significativo, os níveis de inclusão do L-Trp na ração durante a muda e os seus efeitos residuais no segundo ciclo de postura foram comparados com os dados obtidos no D0 através do teste de Dunnet ( $P < 0,05$ ). Posteriormente, excluindo as médias do D0, a soma do quadrado referente aos tratamentos com efeito significativo dentro de cada período de coleta (17º e 42º dias da muda e 112º dia do segundo ciclo de postura) foi decomposta em polinômios para determinar a curva que melhor descrevesse o comportamento dos dados. Na escolha do modelo de regressão foi considerado o nível de significância e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

## **Resultados e Discussão**

As médias de glicemia de todos os grupos na muda forçada e no segundo ciclo de postura foram significativamente inferiores às do dia D0 (Tabela 4).

Estes resultados apresentam um paralelismo com os dados obtidos anteriormente por Simon et al., (2000); Buyse et al., (2002) e Altan et al. (2005), que também encontraram redução na glicose sanguínea de galinhas poedeiras em muda forçada.

Segundo Thrall et al. (2006) e Schmidt et al. (2007), a glicemia em aves sadias varia de 200 a 500  $\text{mg dL}^{-1}$ , sendo que valores fora deste intervalo indicam hipo ou hiperglicemia. Portanto, o valor de 217, 83  $\text{mg dL}^{-1}$  encontrado no D0 (controle) está dentro destes limites.

**Tabela 4** – Médias e desvio padrão de glicose sanguínea (mg dL<sup>-1</sup>) de galinhas poedeiras no D0, 17°, 42° dia da muda e no segundo ciclo de postura.

Parâmetro	Dia			
	0	17°	42°	Segundo ciclo
Glicose (mgdL <sup>-1</sup> )	217,83 ±8,45	194,27±10,94**	193,80±14,38**	180,07±8,38**
Valor-P	-	0,00031	0,0015	<0,0001

\*\*Médias distintas na mesma linha diferem do dia 0 (D0) pelo teste de Dunnett (1%);

**Fonte** : Elaboração dos autores.

A glicose sanguínea constitui importante indicador da homeostase das poedeiras em situações de estresse. De acordo com Schmidt et al. (2007) quando as galinhas são submetidas a jejum de curta duração, a glicemia é mantida através da gliconeogenese hepática, pois os glicocorticóides são capazes de estimular a síntese de RNA formadora de proteína e de glicogênio.

Webster (2003) afirmou que quando as galinhas são submetidas a longos períodos de restrição alimentar ocorrem em primeiro momento, ajustes fisiológicos e metabólicos adaptativos, com posterior exaustão e esgotamento corporal devido ao deficit nas reservas de energia.

Em situação de jejum prolongado Thrall et al. (2006) observam que a maior perda de energia correlaciona-se com a depleção de gordura e mobilização de proteínas corporais, resultando em perda de peso corporal, pois a persistência dos níveis elevados dos glicocorticóides na muda é destrutiva para os tecidos. Assim, se os estímulos estressores continuam e se tornam crônicos, caem os mecanismos de adaptação e ocorre déficit nas reservas de energia. No presente experimento as galinhas perderam 19,99% do peso corporal nos primeiros 17 dias de muda.

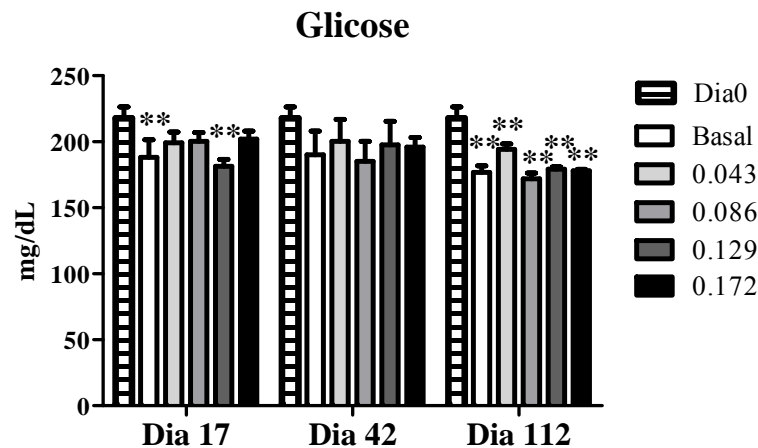
Davis et al. (2000) observaram aumentos dos níveis de corticosterona durante a muda e também nos períodos de pico de postura, que ao inibir a insulina mantem os níveis de glicose plasmática normais, para que haja energia disponível para que ocorra uma adaptação ao estresse (WEBSTER, 2003).

A glicemia de animais submetidos à restrição calórica apresenta menor valor quando comparada com os alimentados *ad libitum* (MASORO et al., 1989; CEFALU et al., 1995). Portanto, o baixo consumo de energia na fase experimental (149 kcal de EM/ave/dia nos primeiros 17 dias de muda e de 261,14 kcal de EM/ave/dia do 18° ao 42° dia), pode também ter contribuído na hipoglicemia verificada neste experimento, que não foi revertida no segundo ciclo de postura, permanecendo baixa (P<0,05) em relação ao D0, pois com o aumento da produção no segundo ciclo ocorreu uma maior demanda de glicose.

Os dados da Figura 1 mostram que no 17° dia da muda as aves alimentadas com as rações contendo as inclusões de 0,043; 0,086 e 0,172 % de L-Trp mantiveram a glicemia igual à do dia D0, enquanto que as alimentadas com a ração basal e a com 0,129 % de L-Trp tiveram os valores diminuídos, sendo observadas apenas reduções discretas nos seus valores (P<0,05) no 42° dia de muda, indicando um provável desaparecimento dos agentes estressores após os 17 dias da muda, quando as aves passaram a ingerir 92,77 g de ração/dia.

Smith e Pogson (1977), encontraram redução na glicose sanguínea de ratos diabéticos, alimentados ou em jejum, após receberem uma injeção intraperitoneal de triptofano (750 mg kgPV<sup>-1</sup>), afirmando haver um efeito hipoglicêmico mediado pelo metabólito 5-hydroxytryptamina (serotonina). Moneva et al. (2008) encontrou o mesmo comportamento em frangos de corte submetidos a estresse e alimentados com rações contendo triptofano, o que atribuíram a não ativação da gliconeogênese pela ação dos metabólitos deste aminoácido.

**Figura 1** – Glicemia (mg dL<sup>-1</sup>) das poedeiras no D0, 17º e 42º dias da muda forçada e no segundo ciclo de postura



\*\* (P<0.01); Teste de Dunnet em relação ao Dia0. Dados expressos em média e desvio-padrão.

**Fonte :** Elaboração dos autores.

A glicemia das galinhas do segundo ciclo de postura teve o seu valor diminuído (P<0,01), em relação ao D0, o que está em concordância com as pesquisas conduzidas por Altan et al. (2005) e Campbell (2006) que afirmaram ser a restrição alimentar na muda por um período igual ou superior a 10 dias, a principal causadora da hipoglicemia persistente no segundo ciclo de postura.

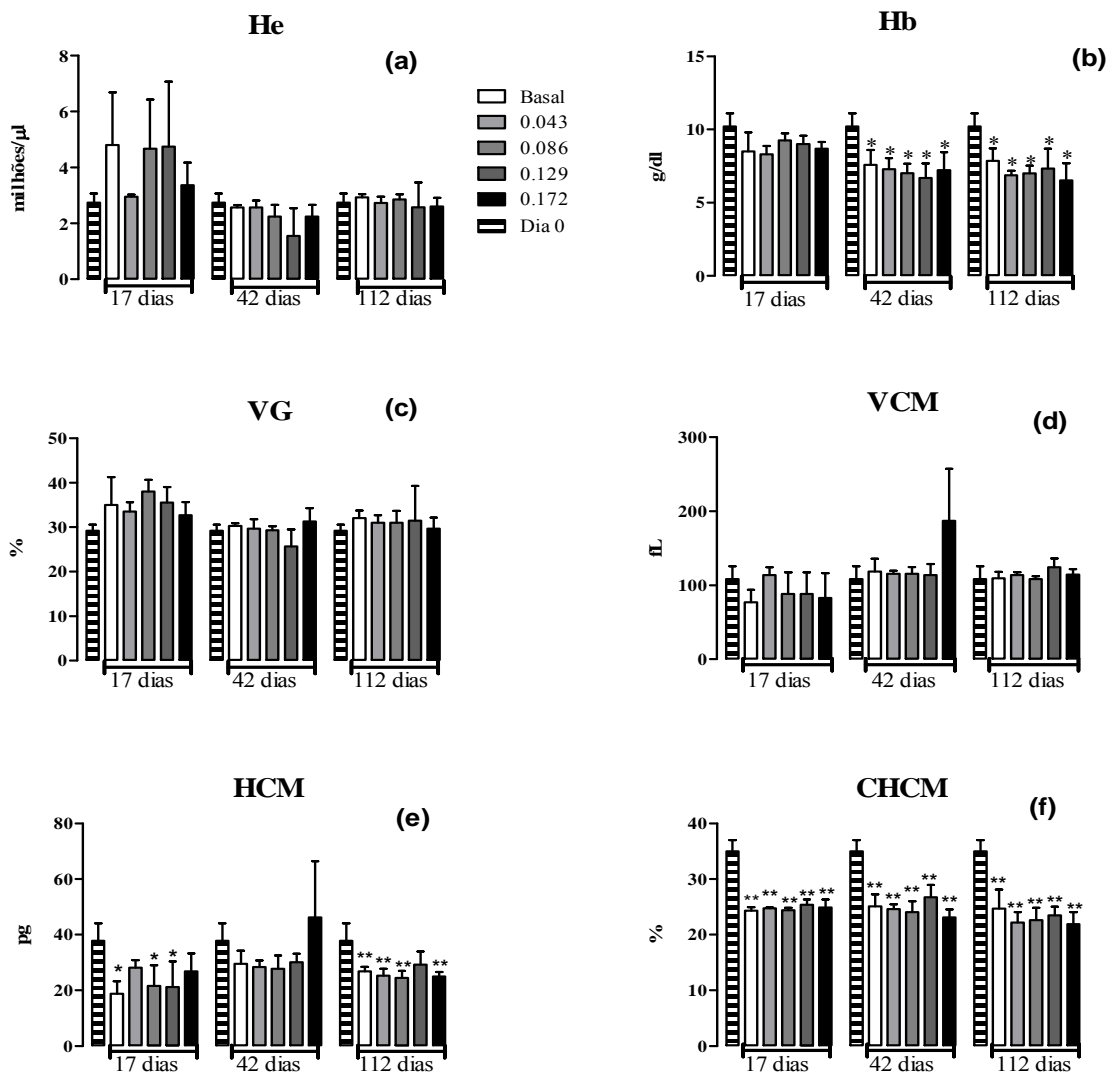
As galinhas deste experimento se encontravam em intensa atividade produtiva aos 112 dias do segundo ciclo de postura (78,7% de postura). Davis et al. (2000) descreveram aumento dos glicocorticoides nas galinhas quando estão em postura. Assim, a hipoglicemia observada no segundo ciclo de postura se explicaria também pelo estresse do pico de postura.

Não foram observados efeitos significativos (P>0,05) dos tratamentos experimentais no parâmetros He, VG e VCM, durante a muda forçada, em relação ao D0, como também não foram verificados efeitos dos tratamentos durante a muda nos seus valores no segundo ciclo de postura (Figuras 2a , 2c e 2d).

Com relação à contagem de He, sabe-se que estão envolvidas no transporte de oxigênio e gás carbônico pelo corpo, através da Hb (ETIM et al., 2014). A sua dosagem ocorre à partir da Hb e do VG. A manutenção constante da sua dosagem na fase de muda, em relação ao D0, está em consonância com Moneva et al. (2008), que também verificaram estabilidade na concentração sérica

das hemácias de frangos em situações de estresse, alimentados ou não com rações contendo triptofano, o que atribuíram à capacidade normal dos rins destas aves em produzir eritropoietina, que é um hormônio que estimula a formação de hemácias na medula óssea.

**Figura 2** - Eritrograma nos períodos analisados. (a) He (Número de hemácias, (milhões  $\mu\text{L}^{-1}$ ); (b) Hb (Concentração de hemoglobina,  $\text{g dL}^{-1}$ ); (c) VG (Volume globular, %); (d) VCM (Volume corpuscular médio,  $\text{fL}$ ); (e) HCM (Hemoglobina corpuscular média,  $\text{pg}$ ); (f) CHCM (Concentração da hemoglobina corpuscular média, %).



\* ( $P < 0,05$ ); \*\* ( $P < 0,01$ ); Teste de Dunnet em relação ao Dia0. Dados expressos em média e desvio-padrão.

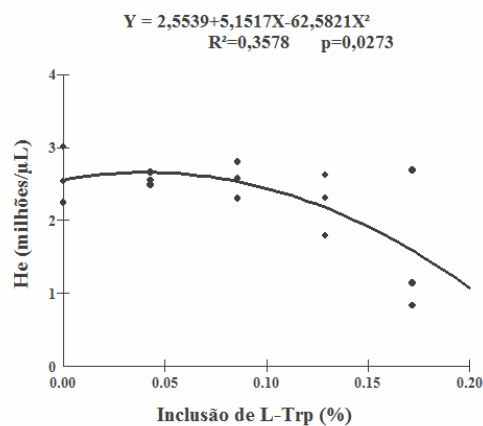
**Fonte** : Elaboração dos autores.

A pequena elevação no seu valor ( $P > 0,05$ ) nos primeiros 17 dias de muda poderia estar relacionada ao estresse da restrição alimentar, que poderia ocasionar maior secreção da desoxicorticosterona pela supra-renal. Este corticosteróide aumenta a frequência cardíaca e respiratória, com dilatação dos brônquios, permitindo maior circulação de sangue e maior oxigenação dos tecidos. Os corticosteróides fazem com que o baço se contraia com o propósito de enviar mais

glóbulos vermelhos ao sangue circulante para oxigenação e fornecimento de energia aos músculos e ao cérebro, podendo estar relacionado também à perda de água corporal que ocorre na muda, que pode aumentar a concentração de células do sangue. Neste experimento as aves perderam 19,99 % do seu peso corporal nos primeiros 17 dias de muda.

Excluindo os valores de D0, a contagem de He no 42º dia da muda forçada teve comportamento quadrático, expresso pela equação  $\hat{Y} = 2,5539 + 5,1517X - 62,5821X^2$  com  $R^2 = 0,3578$  e Valor-P=0,0273, com valor máximo para a inclusão estimada de 0,041 % de L-Trp na ração (Figura 3).

**Figura 3** - Efeito de regressão para o número de hemácias (milhões  $\mu\text{L}^{-1}$ ) no 42º dia da muda forçada.



**Fonte :** Elaboração dos autores

No 42º dia da muda foi observada redução significativa ( $P < 0,05$ ) das concentrações de Hb para todos os tratamentos experimentais, em relação ao dia D0, com efeitos residuais no segundo ciclo de postura. A Hb, proteína rica em Fe presente nas He, se liga às moléculas de  $\text{O}_2$  e o transporta através do sangue durante a respiração até liberá-lo no tecido. É um indicador da concentração de He por unidade de volume de sangue (THRALL et al., 2006).

De acordo com Schaan et al. (2007) os níveis de Hb tendem a diminuir com o aumento da idade, estando associados às reservas hematopoiéticas diminuídas devido à redução da habilidade da medula óssea em responder aos estímulos adversos. A sua redução também ocorre com a depleção protéica, havendo manutenção do número de hemácias, mesmo quando as proteínas plasmáticas estão diminuídas. Com estas características, a concentração de Hb é considerada como índice sensível, embora pouco específico, de desnutrição (BOTTONI et al., 2000). As reduções discretas ( $P > 0,05$ ) no número de He entre o 18º e o 42º dia de muda, em relação ao D0, se explicam pela baixa concentração de Hb no período.

Os resultados do VG concordam com os achados de Khajali et al. (2008) que ao submeterem galinhas poedeiras a diferentes sistemas de muda, com e sem jejum alimentar, também não encontraram diferença significativa nos seus valores no 7º, 14º e 28º dias da muda. Moneva et al.

(2008) também não observaram alterações nos valores do VG de frangos de corte submetidos a estresse e alimentados com rações suplementadas ou não com L-triptofano.

O hematócrito (Ht) mede o volume relativo de células vermelhas comparado com o total de volume sanguíneo (FAIR et al., 2007), sendo utilizado para avaliação da massa eritrocitária das aves (THRALL et al., 2006). A pequena elevação ( $P > 0,05$ ) nos seus valores nos primeiros 17 dias de muda e no segundo ciclo de postura, em relação ao D0, poderiam estar relacionados à regressão do ovário e do oviduto devido à menor atividade estrogênica, que poderia resultar em eritropoiese, acompanhada por aumento no volume globular, que volta a diminuir com a regeneração do ovário (BERRY, 2003; KHAJALI et al., 2008). Estudos conduzidos por Souza et al. (2010) demonstraram aumento no VG no decorrer do processo de muda ocasionado pelo aumento da concentração plasmática de tiroxina (T4). Acredita-se que a T4 atue diretamente na medula óssea estimulando a eritropoiese ou indiretamente estimulando as células da mácula densa a sintetizarem eritropoietina.

Os valores de HCM e da CHCM que indicam a concentração média de Hb no interior das hemácias, juntamente com o valor do VCM, constituem indicativos da presença de subnutrição nas aves (BOTTONI et al., 2000) e da capacidade da medula óssea em produzir hemácias de tamanho e capacidade metabólicas normais, bem como o conteúdo de hemoglobina (CARDOSO; TESSARI, 2003).

No 17º dia da muda houve diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) nos valores de HCM, em relação a D0, para as inclusões de 0,00, 0,086 e 0,129% de L-Trp nas rações experimentais. Havendo efeito redutor no segundo ciclo de postura ( $P < 0,01$ ) para as inclusões de 0,00, 0,043, 0,086 e 0,172 % de L-Trp (Figura 3e). Estes índices diminuídos indicam uma provável inadequação nutricional das poedeiras durante a muda forçada, que permaneceu no segundo ciclo de postura.

O índice CHCM, que é um indicativo da relação entre a concentração de hemoglobina na hemácia e a porcentagem de sangue ocupado pela hemácia, foi significativamente inferior ( $P < 0,01$ ) para todos os tratamentos durante a fase experimental, em relação ao Dia 0 (D0), com efeito residual no segundo ciclo de postura, indicando que a restrição alimentar da muda afetou negativamente a saúde das aves de forma permanente (Figura 3f). Os valores obtidos de CHCM no 42º dia da muda forçada e no segundo ciclo de postura tem relação direta com as baixas contagens de Hb observadas.

Os menores valores observados de Hb, HCM e CHCM, em relação ao D0, confirmariam a ocorrência de inadequado estado nutricional das aves, que não foi revertida com as inclusões de L-Trp.

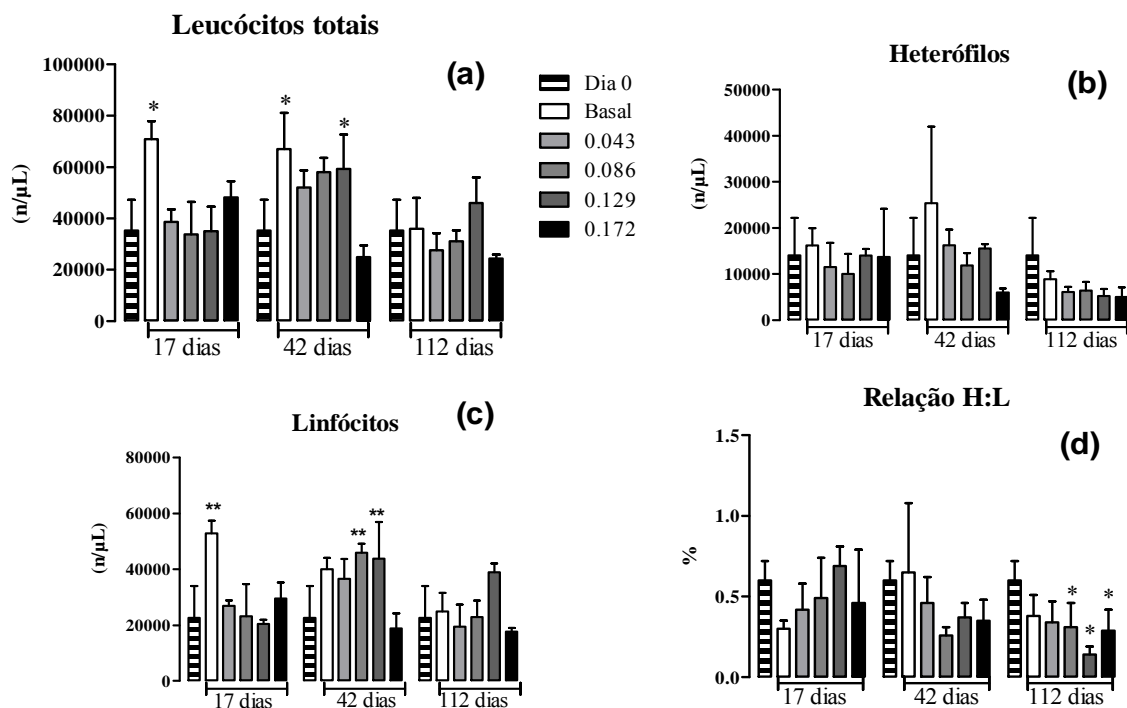
Os dados da série leucocitária encontram-se representados na Figura 4. Os resultados de eosinófilos, monócitos e basófilos não foram significativos, não sendo apresentados.

De acordo com Etim et al. (2014) as principais funções dos leucócitos são a fagocitose, a citotoxicidade e a produção os anticorpos contra agentes agressores. Segundo estes

autores, animais com quantidades elevadas de leucócitos podem ter infecções crônicas, agudas ou doenças autoimunes, podendo também ser indicativo da capacidade de adaptação às condições ambientais estressantes.

A Figura 4a mostra as variações das médias dos leucócitos totais circulantes decorrentes dos tratamentos experimentais na muda, em relação ao D0, e os seus efeitos no segundo ciclo de postura. Os seus valores mais elevados na fase de muda ( $P < 0,05$ ) ocorreram para a ração basal sem L-Trp, não sendo evidenciados efeitos no segundo ciclo de postura ( $P > 0,05$ ).

**Figura 4** - Leucograma nos períodos analisados. (a) Número de leucócitos totais ( $n \mu L^{-1}$ ); (b) Heterófilos ( $n \mu L^{-1}$ ); (c) Linfócitos ( $n \mu L^{-1}$ ); (d) Relação heterófilo: linfócito (H:L).



\* ( $P < 0,05$ ); \*\* ( $P < 0,01$ ); Teste de Dunnet em comparação ao Dia 0. Dados expressos em média e desvio-padrão.

Fonte : Elaboração dos autores.

De acordo com Roitt e Delves (2001) a secreção de glicocorticoides é a principal resposta a um estresse induzido como a fome, podendo ser secretado também como resposta a estímulos imunológicos. Segundo Thrall et al. (2006), uma leucocitose discreta ou uma moderada linfopenia pode ser verificada pelo excesso de glicocorticóides endógenos ou exógenos (leucograma de estresse), podendo também ser induzida por corticosteróides. A leucocitose observada para a ração basal sem L-Trp durante toda a muda forçada condiz com os trabalhos de Colditz (2002), para quem os corticosteróides provenientes de estimulações neuro-endócrinas advindas de situações estressantes causam leucocitose prolongada em aves.

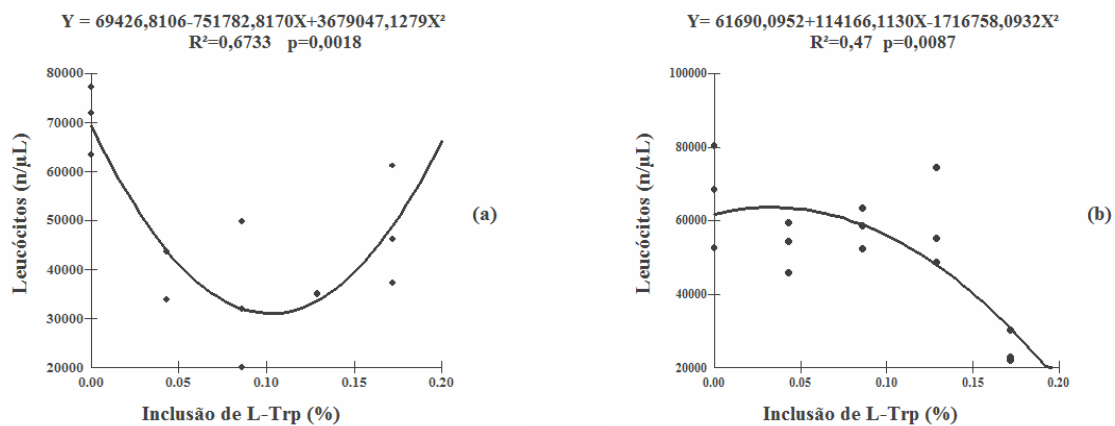
O número de leucocitos nos primeiros 17 dias de muda semelhantes ao D0, para os

tratamentos com inclusão de L-Trp ( $P>0,05$ ), pode estar ligada ao metabólito quinurenina que estimula o sistema imunológico a modular a tolerância a estímulos não específicos (MOFFETT; NAMBOODIRI, 2003), como também a um provável efeito antiestressor do L-Trp, que pode estar associado ao controle dos corticosteróides, diminuindo a leucocitose nas aves.

Com relação ao número de leucócitos no segundo ciclo de postura, verifica-se que de forma geral, os seus valores foram discretamente menores ( $P>0,05$ ) aos do D0. Esse resultado pode estar relacionado também com o aumento da idade das aves, uma vez que, segundo Jain (1986), o número de leucócitos diminui em animais mais velhos.

Excluindo os valores do D0, observou-se efeito quadrático das inclusões de L-Trp no número de leucócitos totais no 17º dia da muda, expresso pela equação  $Y=69426,8106-751782,8170X+3679047,1279X^2$  com  $R^2=0,6733$  e Valor- $P=0,0018$ , com o menor valor para a inclusão estimada de 0,099 % de L-Trp nas rações, e também no 42º dia,  $Y=61690,0952+114166,1130X-1716758,0932X^2$  com  $R^2 = 0,47$  e Valor- $P=0,0087$  com o maior valor para a inclusão estimada de 0,033% de L-Trp (Figuras 5a e 5b).

**Figura 5** - Efeitos de regressão para o número de leucócitos ( $n \mu L^{-1}$ ). (a) Efeito no 17º dia da muda forçada; (b) Efeito no 42º dia da muda forçada.



**Fonte:** Elaboração dos autores.

Não foram encontrados efeitos dos tratamentos experimentais na muda forçada ( $P>0,05$ ) no número de leucócitos totais no segundo ciclo de postura, indicando que nesta fase não ocorreram situações de estresse sobre as aves (THRALL et al., 2006).

Independente do tratamento experimental, as médias de heterófilos na muda forçada foram semelhantes ( $P>0,05$ ) às do D0, que também não afetaram o seu valor no segundo ciclo de postura (Figura 4b).

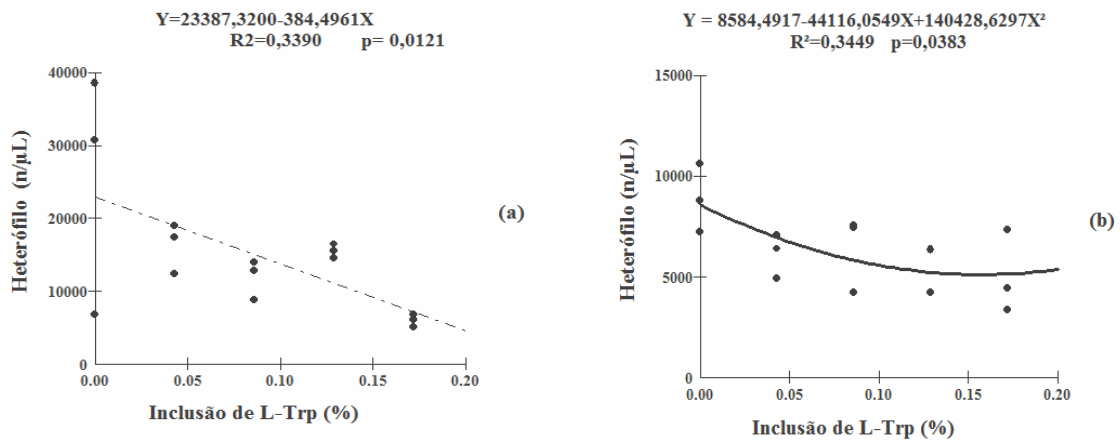
Os valores de heterófilos das aves alimentadas com a ração basal durante a muda forçada condiz com as afirmativas de Gross e Siegel (1983) que também encontraram aumento do

número de heterófilos no sangue de galinhas como resposta a um estresse elevado; de Jain (1993) ao verificarem que os corticóides promovem a liberação de heterófilos do sistema hematopoiético para a circulação e com as de Hocking (1993) que observaram aumento dos heterófilos em frangos submetidos a restrição alimentar. O estresse, ocasionado pelo jejum alimentar da muda forçada provoca o aumento do nível da corticosterona plasmática, influenciando a resposta inflamatória (WEBSTER, 2003).

Excluindo os dados de D0, observou-se no 42º dia da muda um efeito de regressão linear na contagem de heterófilos, demonstrado pela equação  $Y=23387,3200-95384,4961X$  com  $R^2=0,3390$  e Valor- $P=0,0121$  (Figura 6a), e efeito quadrático no segundo ciclo de postura, representado pela equação,  $Y=8584,4917-44116,0549X+140428,6297X^2$  com  $R^2=0,3449$  e Valor- $P=0,0383$ , com o menor valor para a inclusão estimada de 0,157 % de L-Trp (Figura 6b).

Os metabólitos do triptofano como a quinurenina, atuando no controle dos corticosteróides, estimulam a tolerância ao estresse da muda forçada (MOFFETT; NAMBOODIRI, 2003). Os resultados obtidos indicam que a inclusão do L-Trp nas rações pode ter auxiliado na redução do número de heterófilos das aves.

**Figura 6** - Efeito de regressão para o número de heterófilos ( $n \mu L^{-1}$ ) (a) Efeito linear no 42º dia da muda forçada (b) Efeito quadrático no 112º dia do 2º ciclo de postura.



**Fonte:** Elaboração dos autores.

Com relação à contagem dos linfócitos, as galinhas alimentadas com a ração basal apresentaram a maior média ( $P<0,01$ ) no 17º dia, que reduziram com as inclusões de L-Trp, se igualando a contagem do D0 ( $P<0,05$ ). No 42º dia as maiores médias ocorreram para a ração basal e para as inclusões de 0,086 e 0,129 % de L-Trp (Figura 4c).

Em seres humanos a ativação simpática pelo estresse produz uma resposta muito rápida na contagem de glóbulos brancos, com elevação do número de neutrófilos e manutenção no de linfócitos que, no entanto, muda a proporção relativa de seus vários tipos, com aumento nas células

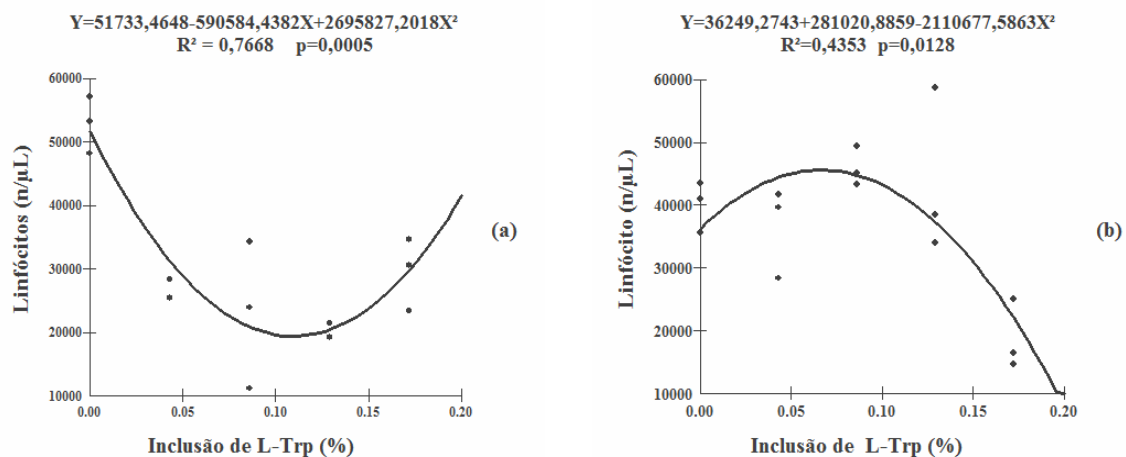
NK (natural killer) e diminuição das células CD3+ e CD4+16. Esse aumento agudo de neutrófilos e linfócitos NK ocorrem de forma muito rápida, quando os níveis de cortisol ainda não se elevaram, e poderia atender à necessidade de aumentar a defesa imunológica numa situação aguda de estresse. O aumento posterior na secreção do glicocorticóide cumpriria a função de trazer novamente o sistema ao seu funcionamento habitual, promovendo uma redução na contagem de glóbulos brancos (MCEWEN et al., 1997).

Colditz (2002) relata que o aumento dos glicocorticóides advindos do estresse da muda ocasiona linfopenia. Holt (1992), também observou queda no número de linfócitos B em galinhas submetidas a muda forçada induzida pelo jejum.

Excluindo os dados de D0, foram observados efeitos quadráticos para o número de linfócitos ( $n \mu L^{-1}$ ) no 17º dia da muda, expresso pela equação  $Y=51733,4648-590584,4382X+2695827,2018X^2$  com  $R^2 = 0,7668$  e Valor-P=0,0005 (Figura 7a), com a menor média para a inclusão estimada de 0,109 % de L-Trp na ração, e no 42º dia, equação  $Y=36249,2743+281020,8859-2110677,5863X^2$  com  $R^2=0,4353$  e Valor-P=0,0128, com a maior média estimada para a inclusão de 0,066 % de L-Trp (Figura 7b).

Pedrosa (2007) afirma que os produtos do metabolismo do triptofano, a L-quinurenina, melatonina e seus produtos de oxidação N<sup>1</sup>-acetil-N<sup>2</sup>-formil-5-metoxiquinuramina e N<sup>1</sup>-acetil-5-metoxiquinuramina, atuam inibindo a proliferação dos linfócitos.

**Figura 7** - Efeito de regressão para o número de linfócitos ( $n \mu L^{-1}$ ) (a) Efeito no 17º dia da muda forçada (b) Efeito no 42º dia da muda forçada



Fonte: Elaboração dos autores

A relação H:L durante a muda forçada se manteve igual ( $P > 0,05$ ) à do D0, sendo significativamente reduzida ( $P < 0,05$ ) no segundo ciclo de postura para as inclusões de 0,086; 0,129 e 0,172 % de L-Trp (Figura 4d).

Uma das medidas utilizadas para avaliar o estresse nas aves é a relação H:L

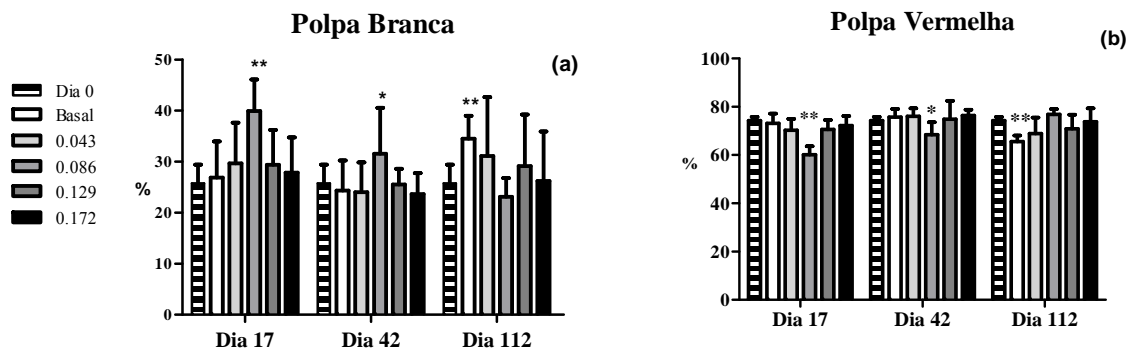
(ALODAN; MASHALY, 1999). Davis et al. (2000) verificaram aumento da relação H:L durante a muda forçada de poedeiras de 64 semanas de idade, concordando com Altan et al. (2005) que encontraram uma relação H:L de 0,28 na pré-muda, aumentada para 0,40 na muda e reduzida para 0,26 no pós-muda.

Os resultados obtidos fazem supor que as aves poderiam estar submetidas a um estresse de intensidade insuficiente para alterar a relação H:L, e que as inclusões de L-Trp nas rações durante a muda foram efetivas na imunomodulação no segundo ciclo de postura, confirmando os resultados das pesquisas de Moffett; Namboodiri (2003).

A semelhança entre as médias de H:L obtidas na muda forçada com as do D0 também podem ser explicadas por uma provável adaptação das aves ao estresse da muda. Moneva et al. (2008) atribuíram as semelhanças na relação H:L em frangos submetidos a estresse intencional, quando comparados aos criados em situação de normalidade, a uma provável adaptação dos animais ao estresse, o que atribuíram à baixa alteração nos níveis séricos de corticosterona dos frangos estressados.

A área da polpa branca do baço se mostrou aumentada e a da polpa vermelha reduzida ( $P < 0,05$ ) durante a muda forçada, em relação ao D0, para a inclusão de 0,086 % de L-Trp na ração (Figura 8).

**Figura 8** - Áreas relativas (%) nos períodos analisados de (a) Polpa branca e (b) Polpa vermelha do baço de galinhas poedeiras suplementadas com diferentes inclusões de L-Trp durante o período de muda forçada.



\* ( $P < 0,05$ ) ; \*\* ( $P < 0,01$ ) pelo teste de Dunnet em comparação ao Dia0. Dados expressos em média e desvio-padrão

**Fonte** : Elaboração dos autores.

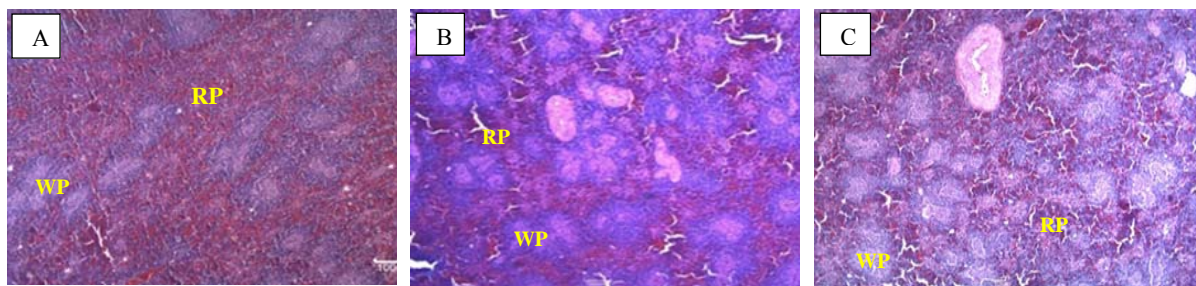
A polpa branca abriga grande quantidade de linfócitos (YASUDA et al., 1998, 2003), que são os responsáveis pelo desencadeamento da resposta imune nas aves (ETO, 2010). A sua produção está relacionada à secreção dos hormônios esteróides sexuais, que são reguladores negativos da sua produção e função, com efeito no processo imunorregulatório (HOLDSTOCK et al., 1982; MCKENZIE; BERCZI, 1987). A produção de ovos depende dos hormônios esteróides sexuais (CARDOSO, 2012). Portanto, o aumento numérico ( $P < 0,05$ ) nos valores relativos de polpa branca nos

primeiros 17 dias da muda, comparado ao D0, com significância ( $P < 0,01$ ) somente para a inclusão de 0,086 % de L-Trp, poderia estar relacionada com a queda na secreção do estrogênio, advinda do aumento da corticosterona causado pelo estresse da muda forçada.

No presente experimento as poedeiras retornaram a ovopostura em média aos 39,3 dias após o início da muda forçada. Alguns dias antes do início da ovopostura ocorreu aumento na secreção do estrogênio no ovário da galinha (RUTZ et al., 2007), talvez este fato pudesse explicar a pequena redução na polpa branca ocorrida no 42º dia da muda, em relação ao D0, à exceção das galinhas alimentadas com a ração com a inclusão de 0,086% de L-Trp.

Na Figura 9 se encontram as fotomicrografias dos cortes histológicos dos baços das galinhas no D0 (Figura 9A), no 17º (Figura 9B) e no 42º dia (Figura 9C) da muda das galinhas alimentadas com 0,086 % de L-Trp. A polpa branca (WP) é identificada pela coloração basófila de suas células enquanto a polpa vermelha (RP) apresenta células de coloração acidófila.

**Figura 9** - Fotomicrografias com cortes histológicos do baço de galinhas poedeiras (corados com hematoxilina e eosina). **A:** Dia 0 (controle); **B:** 17º dia da muda forçada – Ração basal+ 0,086 % de L-triptofano. **C:** 42º dia da muda forçada – Ração basal+ 0,086 % de L-triptofano.

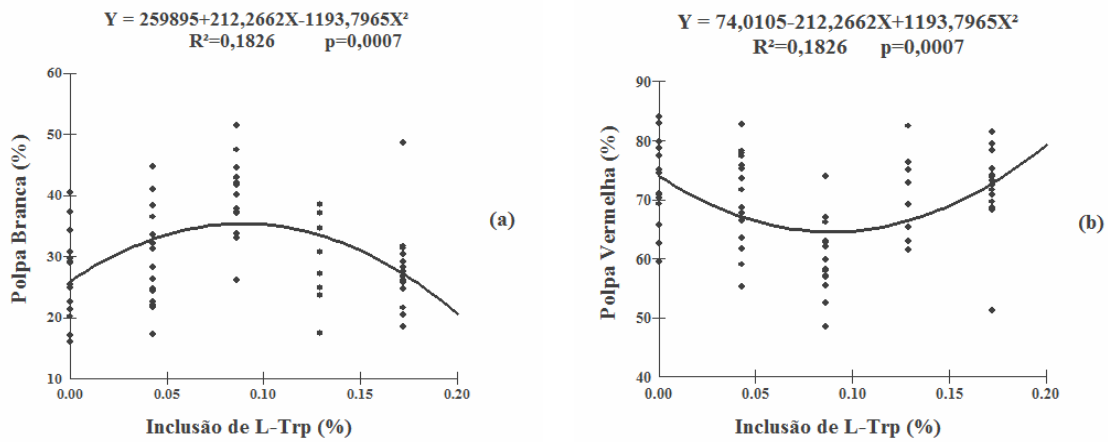


RP: polpa vermelha; WP: polpa branca; Aumento de 10x, coloração Hematoxilina e Eosina.

**Fonte :** Elaboração dos autores.

Excluindo os valores do D0, a área relativa polpa branca e de polpa vermelha apresentaram comportamento quadrático no 17º dia da fase experimental,  $Y=25,9895+212,2662X-1193,7965X^2$  e  $Y=74,0105-212,2662X+1193,7965X^2$ , com  $R^2=0,1826$  e Valor- $P=0,0007$ , com valores máximos e mínimos, respectivamente, para as inclusões estimadas de 0,089 % de L-Trp (Figuras 10a e 10b).

**Figura 10** - Efeito de regressão para área relativa (%) no 17º dia da muda forçada (a) Polpa branca (B) Polpa vermelha dos baços de poedeiras.



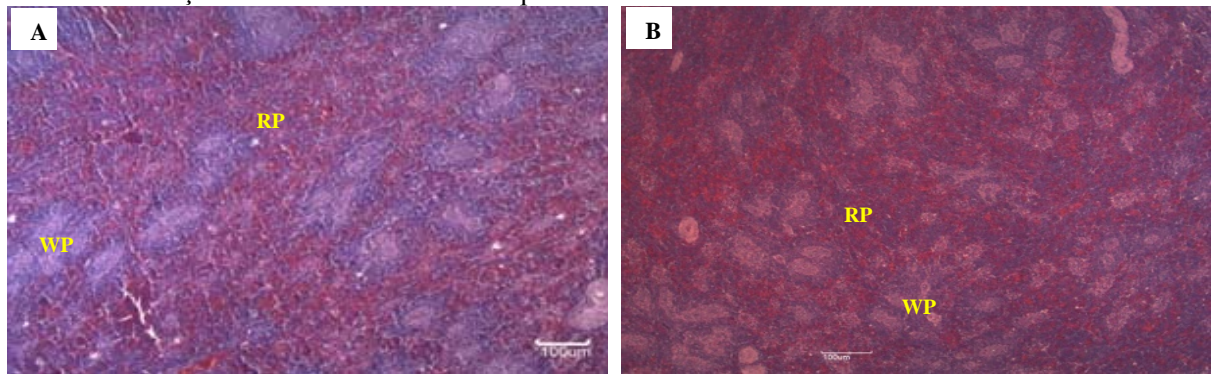
**Fonte :** Elaboração dos autores.

No segundo ciclo de postura a aves alimentadas com a ração basal apresentaram maior área de polpa branca e menor de polpa vermelha, em relação ao D0. Estas áreas se alteraram com as inclusões de L-Trp nas rações, se igualando às áreas do D0. Nesta fase do experimento as poedeiras estavam em plena produção de ovos, portanto as áreas de polpa branca deveriam estar reduzidas para todos tratamentos devido ao aumento da secreção de estrogênio. Por outro lado, Pedrosa (2007) afirmaram que os metabólitos do triptofano inibem a linfoproliferação, e são potenciais reguladores da resposta imune, podendo participar dos efeitos imunossupressores, nos quais a sua depleção tem sido sugerida como o principal mecanismo de regulação dos linfócitos.

Há que se considerar que as áreas de polpa branca e de polpa vermelha foram obtidas por diferença uma da outra. Portanto, o aumento da polpa branca durante a muda forçada poderia ser explicado pela redução da área da polpa vermelha. A polpa vermelha tem a coloração acidófila, devido à alta concentração de hemácias. O baço é um órgão que armazena sangue na polpa vermelha, e sob ação dos glicocorticóides devido ao estresse, pode se contrair e lançar estas hemácias para circulação sanguínea no caso de necessidade (sob estímulo da adrenalina liberada numa situação de estresse/alerta), pois o organismo necessita de mais oxigênio para o metabolismo (OVALLE, NAHIRNEY, 2014). Portanto, no caso destas galinhas o estresse da muda e do pico de postura poderiam ter demandando mais hemácias, o que pode ter causado redução na área de polpa vermelha do baço durante a muda e no segundo ciclo de postura

Na Figura 11 se encontram as fotomicrografias dos cortes histológicos dos baços das galinhas no D0 (Figura 11A) e no 112º do segundo ciclo de postura para as galinhas alimentadas com a ração basal (Figura 11B).

**Figura 11** - Fotomicrografias com cortes histológicos do baço de galinhas poedeiras (corados com hematoxilina e eosina). **A:** D0 (controle); **B:** 112º dia do segundo ciclo de postura – ração basal sem inclusão de Trp.

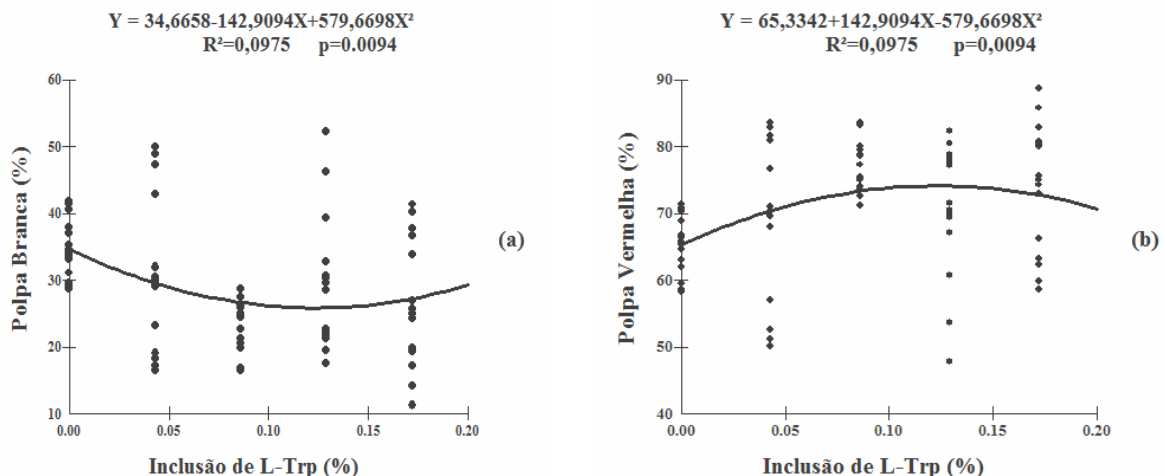


RP: polpa vermelha; PWP: polpa branca perielipsoidal; Aumento de 10x, coloração Hematoxilina e Eosina.

**Fonte :** Elaboração dos autores.

Excluindo os dados do D0, observou-se resposta quadrática das inclusões de L-Trp nas rações durante a muda nas áreas relativas (%) de polpa branca e de polpa vermelha no segundo ciclo de postura. Para a polpa branca a resposta foi expressa pela equação  $Y = 34,6658 - 142,9094X + 579,6698X^2$  e para a polpa vermelha pela equação  $Y = 65,3342 + 142,9094X - 579,6698X^2$  com  $R^2 = 0,0975$  e  $\text{Valor-P} = 0,0094$  (Figuras 12a e 12b). A inclusão estimada de 0,123 % L-Trp na ração durante a muda forçada proporcionou a menor área relativa de polpa branca e a maior área de polpa vermelha.

**Figura 12** - Efeito de regressão da área relativa (%) no 112º dia do segundo ciclo de postura. (a) Polpa branca (b) Polpa vermelha dos baços de galinhas poedeiras.



**Fonte :** Elaboração dos autores.

O estresse da muda pode ter maximizado o gasto de energia que ajudaria as poedeiras a encarar o desafio estressor do pico de postura, fazendo com que mobilizassem esforços para lidar com este evento, resultando em alterações metabólicas que modularam a síntese da polpa branca (BERNARD; KRUPAT, 1994; FERKET, 1999) e reduziu a da polpa vermelha devido ao

aumento da irrigação sanguínea nos tecidos ligados à reprodução.

Com relação às inclusões de L-Trp, os resultados obtidos estão de acordo com os de Mellor e Munn (2003), que encontram ligação entre o catabolismo do triptofano e os processos imunoreguladores, que segundo Moffett e Namboodiri (2003) ocorreriam através da via da quinurenina, desenvolvendo a capacidade do sistema de tolerância a antígenos e ao estresse.

### Conclusões

Os tratamentos experimentais não mostraram efeitos na glicemia e parâmetros do eritrograma durante a muda forçada e no segundo ciclo de postura.

Considerando os resultados obtidos para a contagem de heterófilos:linfócitos no segundo ciclo de postura e o aumento da área relativa de polpa branca durante a muda, conclui-se que a inclusão de 0,086 % de L-Trp nas rações durante a muda forçada foi a mais eficiente.

### Referências Bibliográficas

- ABO ELOUUN, S.A. Effect of two different induced molting programs on serum, egg yolk IgY concentrations and immune parameters in laying hens. *Egyptian Poultry Science*, Alexandria, v.29, n.1, p.357-371, 2009.
- ALODAN, M.A.; MASHALY, M.M. Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. *Poultry Science*, Champaign, v.78, n. 2, p. 171-177, 1999.
- ANDRADE, F.G. **Análise da produção de anticorpos IgY e das características histológicas do baço e da medula óssea de galinhas poedeiras inoculadas com venenos de serpentes.** 2011. 100 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.
- ALTAN, Ö.; OGUZ, I.; ERBAYRAKTAR, Z.; YILMAZ, O.; BAYRAKTAR, H.; SIS, B. The effect of prolonged fasting and refeeding on GSH-Px activity, plasma glucose and cholesterol levels and welfare of older hens from different genotypes. *Archive Geflügelk.*, v.69, n.4, p. 185–191, 2005.
- BERNARD, L. C.; KRUPAT, E. **Health Psychology: Biopsychosocial factors in health and illness.** New York: Harcourt Brace College, 1994. 773p.
- BERRY, W.D. The physiology of induced molting. *Poultry Science*, Champaign, v. 82, n. 6, p. 971–980, 2003.
- BOTTONI, A.; OLIVEIRA, G.P.C.; FERRINI, M.T.; WAITZBERG, D.L. Avaliação nutricional: exames laboratoriais. In: WAITZBERG, D.L., editor. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.** 3a ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 279-94.
- BUYSE, J., JANSSENS, K., VAN DER GEYTEN, S., VAN AS, P., DECUYPERE, E. DARRAS, V.M. Pre- and post prandial changes in plasma hormone and metabolite levels and hepatic deiodinase activities in meal-fed broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, London,, v. 88, n. 6, p. 641-653, 2002.

CAMPBELL, T.W. Clinical Chemistry of Birds, 2004. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2006.. 582p. p. 448-460.

CARDOSO, A.S. **Exigências nutricionais de treonina e triptofano digestível para poedeiras leves de 60 a 76 semanas de idade**. 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2012.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.70, n.4, p.419-424, 2003.

CEFALU, W. T., BELL-FARROW, A.D.; WANG, Z.Q.; SONNTAG, W.E.; FU, M.X.; BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Caloric restriction decreases age-dependent accumulation of the glycoxidation products, n-epsilon-(carboxymethyl) lysine and pentosidine, in rat skin collagen. **Journal of Gerontology, Series A: Biological Science**, Baltimore., v. 50, n. 6, p. 337-341, 1995.

COLDITZ, L.G. Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. **Livestock Production Science**, Armidale, v.75, n.3, p.257-268, 2002.

CORZO, A.; KIDD, M.T.; THAXTON, J.P., KERR, B.J. Dietary tryptophan effects on growth and stress responses of male broiler chicks. **British Poultry Science**, Edinburg, v.46, n.4, p.478-484, 2005.

DAVIS, G.S.; ANDERSON, K.E.; CARROLL, A.S. The effects of long-term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. **Poultry Science**, Champaign v.79, n. 4, p.514-518, 2000.

DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K.A. **Avian Immunology**. 1. Ed. London: Elsevier, 2008. 496p.

EMADI, M.; JAHANSHIRI, F.; KAVEH, K.; HAIR-BEJO, M.; IDERIS, A.; ALIMON, R. Tryptophan stimulates immune response in broiler chickens challenged with infectious bursal disease vaccine. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 9, n.3, p. 610-616, 2010.

ETIM, N.A.N; WILLIAN, M.E. AKPABIO, U.; OFFONG, E.E.A. Haematological parameters and factors affecting their values. **Agricultural Science**, Ontario, v.2, n.1, p.37-47, 2014.

ETO, S.F. **Estudo das vias de inoculação sobre a resposta imune humoral e características histológicas do baço de galinhas poedeiras imunizadas com hemácia de carneiro**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

FAIR, J.; WHITAKER, S.; PEARSON, B. Sources of variation in hematocrit in birds. **Ibis, International Journal of Avian Science**, Peterborough, v. 149, n.3, p. 535-552, 2007.

FERKET, P.R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1999; São Paulo. **Anais....** São Paulo: APA (Associação Paulista de Avicultura), 1999

GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, Jacksonville, v.27, n.1, p.972-979, 1983.

HOCKING, P.M. Welfare of broiler breeder and layer females subjected to food and water control during rearing: Quantifying the degree of restriction. **British Poultry Science**, London, v. 34, n.1, p. 53-64, 1993.

HOLDSTOCK, G.; CHASTENAY, B.; KRAWITT, E.L. Effects of testosterone, oestradiol and progesterone on immune regulation. **Clinical & Experimental Immunology**, London, v. 47, n. 2, p. 449-456, 1982.

HOLT, P.S. Effect of induced molting on B cell and CT4 and CT8 T cell numbers in spleens and peripheral blood of white leghorn hens. **Poultry Science**. Champaign, v. 71, n. 12, p. 2027–2034, 1992.

JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, 1221p.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology. Comparative Hematology of Common Domestic Animals**, Philadelphia: Lea & Febiger. 1993. 417 p.

KHAJALI, F.; KARIMI, S.; AKHARI, M.R. Physiological response and postmolt performance of laying hens molted by non-feed removal methods. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, New York, v.3, n.1, p.13-17, 2008.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, Champaign, v.77, n.8, p.1119-1125, 1998.

LIMA, M.R.; COSTA, F.G.P.; GUERRA, R.R.; DANTAS, L.S.; CAVALCANTE, L.E. **Aminoácidos funcionais na nutrição de poedeiras. Revista Avisite. 10/05/2012**  
<[www.avisite.com.br/cet/img/20120510\\_aminoacidos.doc](http://www.avisite.com.br/cet/img/20120510_aminoacidos.doc)> Acesso em 10/10/2014.

MASORO, E.J.; KATZ, M.S.; MCMAHAN, C.A. Evidence for the glycation hypothesis of aging from the food-restricted rodent model. **Journal of Gerontology, Series A: Biological Science**, Baltimore, v. 44, n.1, p.20-22, 1989.

MCEWEN, B.S.; BIRON, C.A.; BRUNSON, K.W.; BULLOCH, K.; CHAMBERS, W.H.; DHABHAR, F.S.; GOLDFARB, R.H.; KITSON, R.P.; MILLER, A.H.; SPENCER, R.L.; WEISS, J.M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. **Brain Research Reviews**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p.79-133, 1997.

MCKENZIE, C.E.; BERCZI, I. Oestrogen dependent suppression of mitogen response in rat lymphocytes. **Acta Endocrinology**, Copenhagen, v.116, n. 2, p. 200-204, 1987.

MELLOR, A.L.; MUNN, D.H. Tryptophan catabolism and regulation of adaptive immunity. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 170, n. 12, p. 5809-5813, 2003.

MOFFETT, J.R.; NAMBOODIRI, M.A.A. Tryptophan and the immune response. **Immunology and Cell Biology**, Melbourne, v. 81, n. 4, p. 247-265, 2003.

MONEVA, P.; POPOVA-RALCHEVA, S.; GUDEV, D.; SREDKOVA, V.; YANCHEV, I. Study on the metabolic implication of supplemental tryptophan in exposed to stress chickens. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, Kostinbrod, v. 14, n. 4, p. 424-431, 2008.

OVALLE, W.; NAHIRNEY, P.C. **Netter Bases da Histologia**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 517p.

PARK, S.Y.; KIM, W.K.; BIRKHOOD, S.G.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Induced molting issues and alternative dietary strategies for the egg industry in the United States. **World's**

**Poultry Science Journal**, London, v. 60, n. 2, p. 196-209, 2004.

PEDROSA, A.M.C. **Triptofano, melatonina e seus produtos de oxidação: ações sobre os linfócitos T**. 2006. 157f. Tese (Doutorado em Farmácia área de Análises Clínicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

R - DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011, ISBN 3-900051-07- 0. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em 12/11/2014.

ROITT, I.M.; DELVES, P.J. **Roitt's essential immunology**. 10<sup>th</sup> ed. India:Replika Press. 2001. 481 p.

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

RUTZ, F.; ANCIUT, M.A.; XAVIER, E.G.; ROLL, V.F.B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo em aves. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n.3, p. 307-317, 2007.

SCHAAN, M.D.A.; SCHWANKE, C.H.A.; BAUER, M.; LUZ, C.; CRUZ, I.M. Parâmetros hematológicos e nutricionais em idosos aparentemente saudáveis. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 2, p. 136-143, 2007.

SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI -DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A.C. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, n.3. p. 9-20, 2007.

SIMON, J., GUILLAUMIN, S.; CHEVALLIER, B.; DEROUET, M.; GUY, G.; MARCHE, G.; RICARD, F.H.; LECLERCQ, B. Plasma glucose-insulin relationship in chicken lines selected for high or low fasting glycaemia. **British Poultry Science**, London, v. 41, n. 4, p. 424-429, 2000.

SMITH, K.S.; HUNT, J.L. On the use of spleen mass as a measure of avian immune system strength. **Oecologia**, Berlin, v. 138, n. 1, p. 28–31, 2004.

SMITH, S.A.; POGSON, C.L. Tryptophan and the control of plasma glucose concentrations in the rat. **Biochemical Journal**, London, v.168, n. 3, p. 495-506, 1977.

SOUZA, K.M.R.; CARRIJO, A.S.; ALLAMAN, I.B.; FASCINA, V.B.; MAUAD, J.R.C.; SCHERER, M.R.; GARCIA, E. A.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. B.; FAITARONE, A.B.G. Efeito dos métodos de muda forçada sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais durante segundo ciclo produtivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.16, n.1, p.295-203, mar., 2010.

TEIXEIRA, R.S.C.; CARDOSO, W.M. Muda forçada na avicultura moderna. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.4, p. 444-455, 2011.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. 582p.

YASUDA, M.; TAURA, Y.; YOKOMIZO, Y.; EKINO, S.A comparative study of germinal center: fowls and mammals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious diseases**, New York, v. 21, n. 3, p. 179-189, 1998.

YASUDA, Y.; KAJIWARA, E.; EKINO, S.; TAURA, Y.; HIROTA, Y.; HORIUCHI, H.; MATSUDA, H.; FURUSAWA, S. Immunobiology of chicken germinal center: I. Changes in surface Ig class expression in the chicken splenic germinal center after antigenic stimulation. **Developmental & Comparative Immunology**, Amsterdam, n. 27, n.2, p. 159-166, 2003.

WEBSTER, A.B. Physiology and behavior of the hen during induced molt. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.6, p.992-1002, 2003.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. 1232p.

## **5 CONCLUSÃO GERAL**

A ração basal sem inclusão de L-Trp se mostrou suficiente para garantir adequado desempenho produtivo e qualidade dos ovos das galinhas poedeiras com 100 semanas de idade, submetidas a muda forçada sem jejum alimentar. No entanto, com base nos valores da relação heterofilos:linfócitos e no aumento na área relativa de polpa branca durante a muda recomenda-se a inclusão de 0,086 % de L-Trp na ração das aves fornecida durante a muda , evidenciando que efeitos prejudiciais do estresse da muda forçada podem ser superados por meio do fornecimento de nutrientes específicos na ração.

**ANEXOS**

**ANEXO A** – Médias e desvios-padrão dos parâmetros analisados no Artigo 2

**Tabela 1** - Níveis de glicose (mg/dL) de galinhas poedeiras medidos no Dia 0 (Testemunha) e de acordo com o tempo após o início da muda forçada.

Níveis de glicose (mg/dL)			
Dia0 (T)	217,83±8,58		
Inclusão de L-Trp (%)	Muda Forçada		2º Ciclo de Postura
	17º dia	42º dia	112º dia
0,000	188,33±13,32**	190,00±18,03	176,67±5,03**
0,043	199,33±8,08	200,33±16,74	194,33±4,04**
0,086	200,33±6,66	185,00±15,39	172,00±4,36**
0,129	181,33±5,13**	197,67±17,90	179,33±1,53**
0,172	202,00±6,08	196,00±7,21	178,00±1,00**
Valor-P	0,0038	0,1920	<0,0001
ER	NS	NS	NS

Médias e (desvios-padrão), ER= efeito de regressão; NS= não significativo; \*\* (P<0,01); \* (P<0,05), médias diferem do D0 (T) pelo teste de Dunnet (p<0,05).

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 2** - Inclusão de Trp e alguns parâmetros do leucograma. Comparação entre o Dia 0 (testemunha) e 17° e 42° dias da muda forçada e 112° dia do segundo ciclo de postura.

Leucograma	Leucócito (n/ $\mu$ L)	Linfócito (n/ $\mu$ L)	Heterófilo (n/ $\mu$ L)	H:L
Dia0 (T)	35307,50 $\pm$ 11966,07	22586,87 $\pm$ 11399,02	14078,24 $\pm$ 8115,80	0,60 $\pm$ 0,12
Inclusão de L-Trp (%) 17° dia da Muda Forçada				
0,000	70840,00 $\pm$ 6995,17*	52844,00 $\pm$ 4507,38**	16203,00 $\pm$ 3748,03	0,30 $\pm$ 0,05
0,043	38715,00 $\pm$ 6851,86	26858,25 $\pm$ 2058,74	11518,05 $\pm$ 5272,12	0,42 $\pm$ 0,16
0,086	33880,00 $\pm$ 11948,67	23147,67 $\pm$ 11567,41	10074,53 $\pm$ 4300,17	0,49 $\pm$ 0,25
0,129	35065,00 $\pm$ 190,92	20341,75 $\pm$ 1598,41	14021,95 $\pm$ 1411,31	0,69 $\pm$ 0,12
0,172	48180,00 $\pm$ 12111,99	29551,13 $\pm$ 5683,58	13719,20 $\pm$ 10416,92	0,46 $\pm$ 0,33
Média	43664,58	29221,61	13269,16	0,47
Valor-P	0.0146	0,0065	0,9023	0,4045
Inclusão de L-Trp (%) 42° dia da Muda Forçada				
0,000	67026,67 $\pm$ 14022,02**	39996,73 $\pm$ 4026,29	25379,93 $\pm$ 16545,57	0,65 $\pm$ 0,43
0,043	53020,00 $\pm$ 6777,29	36564,73 $\pm$ 7167,45	16258,00 $\pm$ 3388,55	0,46 $\pm$ 0,16
0,086	58006,67 $\pm$ 5627,59	45919,13 $\pm$ 3161,03**	11892,47 $\pm$ 2676,39	0,26 $\pm$ 0,05
0,129	59326,67 $\pm$ 13404,36**	43759,47 $\pm$ 13168,05**	15567,20 $\pm$ 957,92	0,37 $\pm$ 0,09
0,172	24933,34 $\pm$ 4521,17	18766,00 $\pm$ 5487,29	6020,66 $\pm$ 7852,29	0,34 $\pm$ 0,13
Média	49603,47	36840,61	15184,25	0,42
Valor-P	0.0024	0,0071	0,1496	0,2144
Inclusão de L-Trp (%) 112° dia do Segundo Ciclo de Postura				
0,000	35990,00 $\pm$ 6603,51	24900,206594,57	8889,40 $\pm$ 169925	0,38 $\pm$ 0,13
0,043	27640,00 $\pm$ 10320,06	19500,807892,56	6143,93 $\pm$ 1095,19	0,34 $\pm$ 0,13
0,086	31093,33 $\pm$ 4301,74	22858,005898,53	6409,33 $\pm$ 1893,17	0,31 $\pm$ 0,15*
0,129	46020,00 $\pm$ 989,95	38911,403114,38	5274,80 $\pm$ 1513,21	0,14 $\pm$ 0,05*
0,172	24493,33 $\pm$ 1497,51	17663,80132139	5039,47 $\pm$ 2055,34	0,29 $\pm$ 0,13*
Média	32683,09	24766,84	6351,39	0,29
Valor-P	0.1021	0,0935	0,1060	0,0331

Teste de Dunnet (5%); \*\* (P<0,01); \*(P<0,05);

**Tabela 3** - Inclusão de Trp e alguns parâmetros sanguíneos da série leucocitária. Comparação entre tratamentos no 17º e 42º dias da muda forçada e 112º dia do segundo ciclo de postura.

	Leucócito(n/µL)	Linfócito(n/µL)	Heterófilo(n/µL)	H:L
<b>Inclusão de L-Trp (%)</b>				
<b>17º dia da Muda Forçada</b>				
0,000	70840,00±6995,17	52844,00±4507,38	16203,00±3748,03	0,30±0,05
0,043	38715,00±6851,86	26858,25±2058,74	11518,05±5272,12	0,42±0,16
0,086	33880,00±11948,67	23147,67±11567,41	10074,53±4300,17	0,49±0,25
0,129	35065,00±190,92	20341,75±1598,41	14021,95±1411,31	0,69±0,12
0,172	48180,00±12111,99	29551,13±5683,58	13719,20±10416,92	0,46±0,33
Média	45336,00	29221,61	13269,16	0,47
Valor-P	0,0018	0,0005	0,2012	0,2434
ER	<sup>1</sup> Q**	<sup>2</sup> Q**	NS	NS
<b>Inclusão de L-Trp (%)</b>				
<b>42º dia da Muda Forçada</b>				
0,000	67026,67±14022,02	39996,73±4026,29	25379,93±16545,57	0,65±0,43
0,043	53020,00±6777,29	36564,73±7167,45	16258,00±3388,55	0,46±0,16
0,086	58006,67±5627,59	45919,13±3161,03	11892,47±2676,39	0,26±0,05
0,129	59326,67±13404,36	43759,47±13168,05	15567,20±957,92	0,37±0,09
0,172	24933,34±4521,17	18766,00±5487,29	6020,66±7852,29	0,34±0,13
Média	52462,67	36840,61	15184,25	0,42
Valor-P	0,0087	0,0128	0,0121	0,0993
ER	<sup>3</sup> Q**	<sup>4</sup> Q*	<sup>5</sup> L*	NS
<b>Inclusão de L-Trp (%)</b>				
<b>112º dia do Segundo Ciclo de Postura</b>				
0,000	35990,00±6603,51	24900,20±6594,57	8889,40±169925	0,38±0,13
0,043	27640,00±10320,06	19500,80±7892,56	6143,93±1095,19	0,34±0,13
0,086	31093,33±4301,74	22858,00±5898,53	6409,33±1893,17	0,31±0,15
0,129	46020,00±989,95	38911,40±3114,38	5274,80±1513,21	0,14±0,05
0,172	24493,33±1497,51	17663,80±32139	5039,47±2055,34	0,29±0,13
Média	32120,71	24766,84	6351,39	0,29
Valor-P	0,1021	0,7732	0,0383	0,3151
ER	NS	NS	<sup>6</sup> Q*	NS

Teste de Dunnet (5%); \*\* (P<0,01); \*(P<0,05); ER=Efeito de regressão; L=linear; Q=quadrático; <sup>1</sup>Y = 69426,8106-751782,8170X+3679047,1279X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>=0,6733); <sup>2</sup>Y= 51733,4648-590584,4382X+2695827,2018X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup> = 0,7668); <sup>3</sup>Y=61690,0952+114166,1130X-1716758,0932X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup> = 0,4726); <sup>4</sup>Y= 36249,2743+281020,8859-2110677,5863X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>=0,4353); <sup>5</sup>Y=23387,3200-95384,4961X (R<sup>2</sup>=0,3390); <sup>6</sup>Y=8584,4917-44116,0549X +140428,6297X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>=0,3449).

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 4** - Inclusão de Trp e alguns parâmetros sanguíneos do eritrograma. Comparação entre o Dia 0 (testemunha) e 17<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> dias da muda forçada e 112<sup>o</sup> dia do segundo ciclo de postura.

Parâmetros	He (milhões/ $\mu$ L)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)
Dia0 (Testemunha)	2,74 $\pm$ 0,33	10,22 $\pm$ 0,88	29,17 $\pm$ 1,44	108,12 $\pm$ 17,57	37,87 $\pm$ 6,24	35,03 $\pm$ 2,03
Inclusão de L-Trp (%) 17 <sup>o</sup> dia da Muda Forçada						
0,000	4,80 $\pm$ 1,89	8,50 $\pm$ 1,32	35,00 $\pm$ 6,25	77,12 $\pm$ 16,48	18,85 $\pm$ 4,44*	24,36 $\pm$ 0,63**
0,043	2,95 $\pm$ 0,08	8,30 $\pm$ 0,57	33,50 $\pm$ 2,12	113,89 $\pm$ 10,21	28,22 $\pm$ 2,67	24,78 $\pm$ 0,12**
0,086	4,67 $\pm$ 1,76	9,27 $\pm$ 0,47	38,00 $\pm$ 2,65	88,43 $\pm$ 28,97	21,66 $\pm$ 7,40*	24,41 $\pm$ 0,44**
0,129	4,75 $\pm$ 2,33	9,00 $\pm$ 0,57	35,50 $\pm$ 3,54	82,91 $\pm$ 33,29	21,21 $\pm$ 9,23*	25,40 $\pm$ 0,94**
0,172	3,37 $\pm$ 0,81	8,70 $\pm$ 0,46	32,67 $\pm$ 3,06	99,18 $\pm$ 13,39	26,84 $\pm$ 6,47	24,91 $\pm$ 1,45**
Média	3,88	9,04	33,91	94,94	25,78	26,48
Valor-P	0,3680	0,1602	0,1654	0,3730	0,046	<0,0001
Inclusão de L-Trp (%) 42 <sup>o</sup> dia da Muda Forçada						
0,000	2,60 $\pm$ 0,39	7,60 $\pm$ 1,01**	30,33 $\pm$ 0,58	118,55 $\pm$ 17,39	29,55 $\pm$ 4,75	25,10 $\pm$ 2,17**
0,043	2,57 $\pm$ 0,09	7,30 $\pm$ 0,76**	29,67 $\pm$ 2,08	115,49 $\pm$ 4,21	28,42 $\pm$ 2,32	24,60 $\pm$ 0,93**
0,086	2,57 $\pm$ 0,25	7,03 $\pm$ 0,64**	29,33 $\pm$ 0,88	115,25 $\pm$ 9,43	27,81 $\pm$ 4,77	24,09 $\pm$ 1,94**
0,129	2,24 $\pm$ 0,42	6,70 $\pm$ 0,98**	25,67 $\pm$ 3,84	113,71 $\pm$ 14,89	30,16 $\pm$ 3,04	26,75 $\pm$ 2,19**
0,172	1,55 $\pm$ 0,99	7,23 $\pm$ 1,23**	31,33 $\pm$ 2,96	187,19 $\pm$ 70,21	46,25 $\pm$ 20,19	23,16 $\pm$ 1,41**
Média	2,38	7,68	29,25	123,00	32,58	26,45
Valor-P	0,1128	0,0073	0,5491	0,0550	0,1201	0,0041
Inclusão de L-Trp (%) 112 <sup>o</sup> dia do Segundo Ciclo de Postura						
0,000	2,93 $\pm$ 0,12	7,87 $\pm$ 0,64**	32,00 $\pm$ 1,73	109,29 $\pm$ 8,95	26,81 $\pm$ 1,70**	24,71 $\pm$ 3,44**
0,043	2,73 $\pm$ 0,22	6,87 $\pm$ 0,32**	31,00 $\pm$ 1,73	113,73 $\pm$ 3,94	25,27 $\pm$ 2,49**	22,21 $\pm$ 1,91**
0,086	2,86 $\pm$ 0,18	7,00 $\pm$ 0,56**	31,00 $\pm$ 2,65	108,31 $\pm$ 4,13	24,54 $\pm$ 2,49**	22,66 $\pm$ 2,19**
0,129	2,58 $\pm$ 0,88	7,35 $\pm$ 1,34**	31,50 $\pm$ 7,78	124,14 $\pm$ 12,04	29,30 $\pm$ 4,75	23,52 $\pm$ 1,54**
0,172	2,61 $\pm$ 0,31	6,53 $\pm$ 1,17**	29,67 $\pm$ 2,52	114,32 $\pm$ 7,19	24,95 $\pm$ 1,65**	21,91 $\pm$ 2,29**
Média	2,75	7,56	30,68	112,33	28,05	25,09
Valor-P	0,8334	0,0029	0,8622	0,5385	0,0060	0,0004

Teste de Dunnett (5%); \*\* (P<0,01); \*(P<0,05); He= hemácias; Hb= hemoglobina; Ht= hematócrito; VCM= volume corpuscular médio; HCM= hemoglobina corpuscular média; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média.

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 5** - Inclusão de Trp e alguns parâmetros sanguíneos do eritrograma. Comparação entre tratamentos no 17º e 42º dias da muda forçada e 112º dia do segundo ciclo de postura.

Eritrograma	He (milhões/ $\mu$ L)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)
Inclusão de L-Trp (%)						
17º dia da Muda Forçada						
0,000	4,80 $\pm$ 1,89	8,50 $\pm$ 1,32	35,00 $\pm$ 6,25	77,12 $\pm$ 16,48	18,85 $\pm$ 4,44	24,36 $\pm$ 0,63
0,043	2,95 $\pm$ 0,08	8,30 $\pm$ 0,57	33,50 $\pm$ 2,12	113,89 $\pm$ 10,21	28,22 $\pm$ 2,67	24,78 $\pm$ 0,12
0,086	4,67 $\pm$ 1,76	9,27 $\pm$ 0,47	38,00 $\pm$ 2,65	88,43 $\pm$ 28,97	21,66 $\pm$ 7,40	24,41 $\pm$ 0,44
0,129	4,75 $\pm$ 2,33	9,00 $\pm$ 0,57	35,50 $\pm$ 3,54	82,91 $\pm$ 33,29	21,21 $\pm$ 9,23	25,40 $\pm$ 0,94
0,172	3,37 $\pm$ 0,81	8,70 $\pm$ 0,46	32,67 $\pm$ 3,06	99,18 $\pm$ 13,39	26,84 $\pm$ 6,47	24,91 $\pm$ 1,45
Média	4,15	8,77	35,00	92,31	23,36	24,71
Valor-P	0,5848	0,6704	0,5823	0,4400	0,5300	0,6100
ER	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Inclusão de L-Trp (%)						
42º dia da Muda Forçada						
0,000	2,60 $\pm$ 0,39	7,60 $\pm$ 1,01	30,33 $\pm$ 0,58	118,55 $\pm$ 17,39	29,55 $\pm$ 4,75	25,10 $\pm$ 2,17
0,043	2,57 $\pm$ 0,09	7,30 $\pm$ 0,76	29,67 $\pm$ 2,08	115,49 $\pm$ 4,21	28,42 $\pm$ 2,32	24,60 $\pm$ 0,93
0,086	2,57 $\pm$ 0,25	7,03 $\pm$ 0,64	29,33 $\pm$ 0,88	115,25 $\pm$ 9,43	27,81 $\pm$ 4,77	24,09 $\pm$ 1,94
0,129	2,24 $\pm$ 0,42	6,70 $\pm$ 0,98	25,67 $\pm$ 3,84	113,71 $\pm$ 14,89	30,16 $\pm$ 3,04	26,75 $\pm$ 2,19
0,172	1,55 $\pm$ 0,99	7,23 $\pm$ 1,23	31,33 $\pm$ 2,96	187,19 $\pm$ 70,21	46,25 $\pm$ 20,19	23,16 $\pm$ 1,41
Média	2,30	7,17	29,27	125,96	31,45	24,74
Valor-P	0,1525	0,8250	0,5032	0,0682	0,1469	0,7052
ER	<sup>1</sup> Q*	NS	NS	NS	NS	NS
Inclusão de L-Trp (%)						
112º dia do Segundo Ciclo de Postura						
0,000	2,93 $\pm$ 0,12	7,87 $\pm$ 0,64	32,00 $\pm$ 1,73	109,29 $\pm$ 8,95	26,81 $\pm$ 1,70	24,71 $\pm$ 3,44
0,043	2,73 $\pm$ 0,22	6,87 $\pm$ 0,32	31,00 $\pm$ 1,73	113,73 $\pm$ 3,94	25,27 $\pm$ 2,49	22,21 $\pm$ 1,91
0,086	2,86 $\pm$ 0,18	7,00 $\pm$ 0,56	31,00 $\pm$ 2,65	108,31 $\pm$ 4,13	24,54 $\pm$ 2,49	22,66 $\pm$ 2,19
0,129	2,58 $\pm$ 0,88	7,35 $\pm$ 1,34	31,50 $\pm$ 7,78	124,14 $\pm$ 12,04	29,30 $\pm$ 4,75	23,52 $\pm$ 1,54
0,172	2,61 $\pm$ 0,31	6,53 $\pm$ 1,17	29,67 $\pm$ 2,52	114,32 $\pm$ 7,19	24,95 $\pm$ 1,65	21,91 $\pm$ 2,29
Média	2,75	7,11	31,00	113,23	25,95	22,97
Valor-P	0,7420	0,4130	0,9302	0,2294	0,3271	0,6531
ER	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Teste de Dunnet (5%); \*\* (P<0,01); \*(P<0,05); He= hemácias; Hb= hemoglobina; Ht= hematócrito; VCM= volume corpuscular médio; HCM= hemoglobina corpuscular média; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; ER=Efeito de regressão; <sup>1</sup>Y= 2,5539+5,1517X-62,5821X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>= 0,3578).

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 6** - Inclusão de L-Trp e áreas relativas (%) de polpa branca e polpa vermelha do baço analisadas ao 17º dia da muda forçada.

	Dia 0 e 17º dia		17º dia	
	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)
Dia 0 (T)	25,72 ± 3,71	74,28 ± 3,71	-	-
Inclusão de L-Trp (%)				
0,000	26,86 ± 7,07	73,14 ± 7,07	26,86 ± 7,07	73,14 ± 7,07
0,043	29,67 ± 7,96	70,33 ± 7,96	29,67 ± 7,96	70,33 ± 7,96
0,086	39,91 ± 6,16**	60,09 ± 6,16**	39,91 ± 6,16	60,09 ± 6,16
0,129	29,38 ± 6,83	70,62 ± 6,83	29,38 ± 6,83	70,62 ± 6,83
0,172	27,81 ± 6,93	72,19 ± 6,93	27,81 ± 6,93	72,19 ± 6,93
Média	29,89	70,11	30,82 <sup>1</sup>	69,18 <sup>2</sup>
Valor-P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
ER	-	-	<sup>1</sup> Q**	<sup>2</sup> Q**

Teste de Dunnet (5%); \*\* (p<0,01); \*(p<0,05); ER=Efeito de regressão; CV=coeficiente de variação; <sup>1</sup>Ŷ=25,9895+212,2662X-1193,7965X<sup>2</sup>, (R<sup>2</sup>=0,1826); <sup>2</sup>Ŷ=74,0105-212,2662X+1193,7965X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>=0,1826).

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 7** - Inclusão de Trp e áreas de polpa branca e polpa vermelha do baço - 42º dia

	Dia 0 e 42º dia		42º dia	
	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)
Dia 0 (T)	25,72 ± 3,71	74,28 ± 3,71	-	-
Inclusão de L-Trp (%)				
0,000	24,30 ± 5,91	75,70 ± 5,91	24,30 ± 5,91	75,70 ± 5,91
0,043	24,00 ± 5,82	76,00 ± 5,82	24,00 ± 5,82	76,00 ± 5,82
0,086	31,57 ± 8,97*	68,43 ± 8,97*	31,57 ± 8,97	68,43 ± 8,97
0,129	25,51 ± 3,09	74,89 ± 13,09	25,51 ± 3,09	74,89 ± 13,09
0,172	23,62 ± 4,11	76,38 ± 4,11	23,62 ± 4,11	76,38 ± 4,11
Média	25,79	74,21	25,80	74,20
Valor-P	0,0333	0,0333	0,0554	0,0054
ER	-	-	NS	NS

Teste de Dunnet (5%); \*\* (p<0,01); \*(p<0,05); ER=Efeito de regressão.

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 8** - Inclusão de Trp e áreas de polpa branca e polpa vermelha do baço - 112º dia

	Dia 0 e 112º dia		112º dia	
	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)	Polpa Branca (%)	Polpa Vermelha (%)
Dia 0 (T)	25,72 ± 3,70	74,28 ± 3,71	-	-
Inclusão de L-Trp (%)				
0,000	34,50 ± 4,48**	65,50 ± 4,48**	34,50 ± 4,48	65,50 ± 4,48
0,043	31,11 ± 11,53	68,89 ± 11,53	31,11 ± 11,53	68,89 ± 11,53
0,086	23,10 ± 3,67	76,90 ± 3,67	23,10 ± 3,67	76,90 ± 3,67
0,129	29,11 ± 10,10	70,89 ± 10,10	29,11 ± 10,10	70,89 ± 10,10
0,172	26,21 ± 9,68	73,79 ± 9,68	26,21 ± 9,68	73,79 ± 9,68
Média	28,29	71,71	28,80 <sup>1</sup>	71,19 <sup>2</sup>
Valor-P	0,0007	0,0007	0,0059	0,0059
ER	-	-	Q**	Q**

Teste de Dunnet (5%); \*\* (p<0,01); \*(p<0,05); ER=Efeito de regressão; CV=coeficiente de variação; <sup>1</sup>Ŷ=

$34,6658-142,9094X+579,6698X^2 (R^2= 0,0975)$ ;  $^2 \hat{Y}= 65,3342+142,9094X-579,6698X^2 (R^2= 0,0975)$ .  
**Fonte:** Elaboração dos autores.

**ANEXO B** – Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL

A partir de 01 de abril de 2014, os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente traduzidos para o inglês.

Os artigos enviados para a revista até esta data e que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o documento comprobatório dessa correção na página de submissão em “Docs. Sup.”

**OBSERVAÇÕES:**

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi

executado obedecendo às normas técnicas de biossegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

**Não serão aceitos manuscritos em que:**

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação;
- b) Não tenha sido realizado o **cadastro completo** de todos os autores nos metadados de submissão; **Exemplo:** Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função.
- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “**Docs. Sup.**” no ato da submissão;
- e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL.
- f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

**Categorias dos Trabalhos**

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- d) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

**Apresentação dos Trabalhos**

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11, normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm,

respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

*Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas* serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc.) em “Docs Supl.” na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

### **Preparação dos manuscritos**

#### **Artigo científico:**

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. Material e Métodos... *Áreas de estudo...1.Área rural..2.Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

**1.Título do trabalho**, acompanhado de sua tradução para o inglês.

**2. Resumo e Palavras-chave:** Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Keywords*).

**3. Introdução:** Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

**4. Material e Métodos:** Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

**5. Resultados e Discussão:** Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos. Opcionalmente, as conclusões podem estar no final da discussão.

**6. Conclusões:** Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

**7. Agradecimentos:** As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

**Observações:**

**Notas:** Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

**Figuras:** Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

**Tabelas:** As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

**Grandezas, unidades e símbolos:**

a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.

b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.

c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.:  $\text{kg ha}^{-1}$ . Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.:  $\text{kg/ha}$ .

d) Utilizar um espaço simples entre as unidades,  $\text{g L}^{-1}$ , e não  $\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{gL}^{-1}$ .

e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

### **8. Citações dos autores no texto**

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que ....
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...] comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

#### **Citações com dois autores**

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

#### **Citações com mais de dois autores**

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

**Para citações de diversos documentos de um mesmo autor**, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

**As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor**, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

**Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores**, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula. Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

**9. Referências:** As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

**Observação:** Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

#### **Outras informações importantes**

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "*Ad hoc*" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

6. *Número de autores:* Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

#### **Condições para submissão**

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".

2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, estando ciente que a formatação incorreta importará na suspensão do processo de avaliação sem avaliação de mérito.

3. Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.

Utilize o botão "incluir autor"

1. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "editar metadados" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e keywords. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de** autoria do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.

2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New Roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.

2. Efetuar o pagamento da **Taxa de Submissão de artigos** e anexar o comprovante como documento suplementar "Docs. Sup."

### **Declaração de Direito Autoral**

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

### **Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

### **Semina: Ciências Agrárias**

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

[semina.agrarias@uel.br](mailto:semina.agrarias@uel.br)