

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**NÍVEIS DE ARGININA DIGESTÍVEL PARA FÊMEAS  
REPRODUTORAS DE FRANGOS DE CORTE E SUA  
PROGÊNIE**

**Autora: Luciana M<sup>a</sup> Garcia de Souza da Silva**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Alice Eiko Murakami**

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Novembro de 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**NÍVEIS DE ARGININA DIGESTÍVEL PARA FÊMEAS  
REPRODUTORAS DE FRANGOS DE CORTE E SUA  
PROGÊNIE**

**Autora: Luciana M<sup>a</sup> Garcia de Souza da Silva**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Alice Eiko Murakami**

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Novembro de 2010

*O Senhor é meu pastor, nada me faltará.  
Em verdes prados ele me faz repousar.  
Conduz-me junto às águas refrescantes,  
restaura as forças de minha alma.  
Pelos caminhos retos ele me leva,  
por amor do seu nome.*

*Ainda que eu atravessasse o vale escuro,  
nada temerei, pois estais comigo.  
Vosso bordão e vosso báculo são o meu amparo.*

*Preparais para mim a mesa à vista de meus inimigos.  
Derramais o perfume sobre minha cabeça,  
e transborda minha taça.  
A vossa bondade e misericórdia não de seguir-me  
por todos os dias de minha vida.  
E habitarei na casa do Senhor por longos dias.*

*(Salmo 22)*

Ao

*meu pai e minha mãe  
pela força, amor, carinho e incentivo  
nos momentos mais difíceis da minha vida*

Ao

*meu marido Junior pelo amor incondicional,  
pela cumplicidade e incentivo  
pela compreensão pelos momentos de ausência*

Aos

*meus irmãos Sara e Jonatah  
pela amizade e companheirismo*

Ao

*meu filho Eduardo,  
por suportar as dificuldades ao meu lado*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá, por ter possibilitado desenvolver este trabalho.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alice Eiko Murakami, pela sua orientação, pelo reconhecimento do meu trabalho, pelos “puxões de orelha” que sempre me ajudaram em todos os momentos a ser uma pessoa melhor, pelos conselhos e pela dedicação à minha pessoa, por todos esses anos e principalmente pela amizade, construída com respeito e carinho ao longo desta caminhada.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelo acesso ao conhecimento e pela paciência a mim dispensada, em especial ao Prof. Dr. Elias Nunes Martins, pelos valiosos conselhos e amizade e pelos auxílios as “estatísticas”, muito obrigada.

Aos secretários do Programa de Pós- graduação, Rose e Denilson, por todo “socorro” durante o meu período no programa, pelas conversas e amizade, obrigada por tudo.

As “Marias”, técnicas do laboratório de Histologia da UEM, Eurides e Dos Anjos, pela amizade e auxílio e toda ajuda durante as minhas análises.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi da UEM, pelo precioso auxílio durante a condução deste e todos os trabalhos realizados durante o meu período nessa universidade.

A todos os colegas que fizeram parte da minha caminhada, pela ajuda e companheirismos em todos os momentos fáceis e difíceis desta jornada, pelo auxílio durante a coleta e condução dos experimentos que me permitiram esta tese: Ana Ton, Jovanir, Márcia,

Suelen, Rodrigo, Luis Daniel, Ana Carolina, Ana Flávia, Leandro, Rafael, Fernando, Karla, Alexandra, Mariana, Celma, Andressa, Fábio.

Às minhas eternas irmãs Jovanir Inês Muller Fernandes e Márcia Izumi Sakamoto, pela amizade, companheirismo, pela força em todos os momentos de alegria, e em que estive em dificuldades, minha eterna gratidão por tudo que vocês fizeram por mim.

A minha irmãzinha Sussu e seu “maridão” Maurício, pelo apoio e amizade, pelo companheirismo e auxílio nos momentos em que precisei, muito obrigada por tudo.

As mais novas amigas e companheiras Cinthia e Cris, muito obrigada pela amizade incondicional que vocês me dedicaram durante esse tempo, que apesar de não ter sido tão longo, valeu por uma eternidade, muito obrigada por tudo.

A minha irmã Sara, que durante a minha gravidez foi meu braço direito na condução deste trabalho, auxiliando e principalmente me levantando nos momentos de dificuldade, obrigada por você fazer parte da minha vida.

Ao Waldir Pereira da Silva Junior meu profundo agradecimento, pelo companheirismo, incentivo, amizade, por estar ao meu lado e compreender meus momentos de ausência, pelo amor incondicional a mim dedicado, meu eterno amor a você.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para esse trabalho, meu muito obrigada.

## BIOGRAFIA

LUCIANA MARIA GARCIA DE SOUZA DA SILVA, filha de Vera Lúcia Aparecida Garcia de Souza e João Gusman de Souza, nasceu em Maringá, Paraná, no dia 18 de maio de 1981.

Em março de 2005, conclui o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2005, iniciou no curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, e no dia 3 de março de 2007, submeteu-se a banca para defesa de Dissertação.

Em março de 2007, iniciou no curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, área de concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de frangos de corte. No dia 17 de novembro de 2010, submeteu-se a banca para defesa da Tese.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xi
I - INTRODUÇÃO .....	17
1.1 REVISÃO DA LITERATURA .....	19
1.1.1 Matriz e o Sistema imune da Progênie .....	19
1.1.2 Influência da Arginina no Sistema Imune e na Formação Óssea das Aves ...	20
REFERÊNCIAS .....	32
II - OBJETIVOS GERAIS .....	39
2.1 Objetivos Específicos .....	39
III - Desempenho produtivo e reprodutivo de aves reprodutoras de corte suplementadas com níveis crescentes de arginina na ração .....	40
Resumo .....	40
Introdução .....	42
Material e métodos .....	43
Resultados e Discussão .....	47
Conclusão .....	52
Referências .....	53
IV - Efeito da suplementação de arginina na dieta de matrizes de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros ósseos da progênie .....	57
Resumo .....	57
Introdução .....	59
Material e Métodos .....	60
Resultados e discussão .....	67
Conclusão .....	83
Referências .....	83
V - Efeito da suplementação de arginina em matrizes de corte sobre a resposta imune humoral e celular da progênie .....	89
Resumo .....	89
Introdução .....	91
Material e Métodos .....	92
Resultados e Discussão .....	101
Conclusão .....	110
Referências .....	110
VI - CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	113

## LISTA DE TABELAS

Página

### Capítulo III

Tabela 1 - Composição percentual e calculada da dieta experimental basal das matrizes de corte no período experimental .....	45
Tabela 2 – Médias e erro padrão das variáveis de produção e qualidade de ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.....	48
Tabela 3 - Valores médios reprodutivos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	50
Tabela 4 - Estimativas Bayesianas para o embriodiagnóstico realizado nos ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg, considerando os modelos linear e quadrático. ....	51
Tabela 5 - Valores médios de embriodiagnóstico de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	52

### Capítulo IV

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie não suplementada com dietas com níveis de Arg.....	48
Tabela 2 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dieta contendo níveis de Arg (1-21 dias).....	50
Tabela 3 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dieta contendo níveis de Arg (22-42 dias).....	51
Tabela 4 – Médias e estimativas da progênie não suplementada, provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.....	55
Tabela 5 – Médias e estimativas da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.....	56
Tabela 6 - Médias de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) dos experimentos realizados com a progênie suplementada ou não com dietas com níveis de Arg.....	60
Tabela 7 – Médias e estimativas de rendimento de carcaça da progênie suplementadas, provenientes de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis de Arg.....	64
Tabela 8 – Médias e estimativas de rendimento da progênie suplementada com dietas suplementadas contendo níveis de Arg.....	64

Tabela 9 – Médias de porcentagem de carcaça (CARC), porcentagem de peito (PEITO), porcentagem de coxa (COXA), porcentagem de asa (ASA), porcentagem de gordura abdominal (GORDURA) dos experimentos realizados com progênie suplementada ou não com dietas com níveis de Arg.....	65
Tabela 10 – Parâmetros morfológicos do fêmur e da tíbia da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis de arginina.....	67
Tabela 11 – Parâmetros morfológicos do fêmur e da tíbia da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.....	69
Tabela 12 – Médias de comprimento do fêmur (FC), espessura do fêmur (FE), índice de seedor do fêmur (FSEE), comprimento da tíbia (TC), espessura da tíbia (TE), índice de seedor da tíbia (TSEE) dos experimentos realizados com progênie suplementada ou não com dietas com níveis de Arg aos 7 e 21 dias de idade.....	72

## Capítulo V

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das dietas experimentais das matrizes de frangos de corte no período experimental.....	83
Tabela 2 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie não suplementada proveniente de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis de Arg.....	85
Tabela 3 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg (1-21 dias).....	86
Tabela 4 - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg (21-42 dias).....	86
Tabela 5 – Médias e erros padrão dos pesos relativos (%) dos órgãos linfoides da progênie não suplementada provenientes de matrizes alimentadas com níveis crescentes de arginina.....	89
Tabela 6 – Médias e erros padrão dos pesos relativos (%) dos órgãos linfoides da progênie alimentadas com dietas suplementadas com níveis de Arg.....	90
Tabela 7 – Médias do peso relativo dos órgãos linfoides (%), timo, baço e bolsa de cloacal dos experimentos realizados com progênie suplementada ou não com dietas com níveis de Arg aos 7 e 21 dias de idade.....	91
Tabela 8 – Aglomerados linfoides e comprimento das dobras do tecido linfoide da bolsa cloacal (mm) da progênie suplementada ou não, provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas com níveis crescentes de Arg.....	92
Tabela 9 – Média e erro padrão da reação interdigital a fitohemaglutinina (mm) na progênie alimentada com dietas contendo níveis de Arg.....	92
Tabela 10 – Médias e erro padrão da atividade fagocítica dos macrófagos dos frangos de corte suplementados e não suplementados com dietas contendo níveis crescentes de Arg.....	92
Tabela 11 – Médias e erros padrão dos títulos de anticorpos da progênie não suplementada, em diferentes idades, provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis de Arg.....	94
Tabela 12 – Médias e erros padrão dos títulos de anticorpos da progênie alimentada com dietas suplementadas com níveis de Arg, em diferentes idades.....	94

## LISTA DE FIGURAS

Página

### Capítulo III

Figura 1 - Porcentagem de postura de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg digestível.....	33
Figura 2 – Peso e gravidade específica dos ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.....	34

### Capítulo IV

Figura 1 - Conversão alimentar (1 a 21 dias) da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	70
Figura 2 - Consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.....	71
Figura 3 - Conversão alimentar de 21 a 42 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	72
Figura 4 - Ganho de peso de 1 a 42 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg. ....	72
Figura 5 - Porcentagem de carcaça da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	75
Figura 6 - Parâmetros de rendimento de carcaça da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	77
Figura 7 - Diâmetro de tibia da progênie não suplementada provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg. ....	81
Figura 8 - Comprimento, diâmetro e índice de Seedor de fêmur e tibia da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg, aos 7 dias de idade. ....	82
Figura 9 - Índice de Seedor do fêmur da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg, aos 21 dias de idade. ....	83

**Capítulo IV**

Figura 1 - Reação do espaço interdigital após 12 horas da inoculação de fitohemaglutinina da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.....	106
Figura 2 - Título de anticorpos da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.....	108

## RESUMO

Foram realizados três experimentos com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de arginina na nutrição de matrizes de corte e a modulação da resposta imune e do desenvolvimento esquelético na progênie. No primeiro experimento, avaliou-se o efeito da suplementação de arginina (Arg) na dieta de matrizes de corte sobre o desempenho produtivo e qualidade de ovos. Para tanto, foram utilizados 416 reprodutores da linhagem “Ross”, sendo 360 fêmeas e 30 machos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Arg (0,943%; 1,093%; 1,243%; 1,393%; 1,543% de Arg digestível) e seis repetições, com 12 fêmeas e 1 macho por unidade experimental. Para determinação do desempenho produtivo e da qualidade de ovos foram avaliadas a porcentagem de postura, de albúmen e de gema, o peso médio, a gravidade específica, a porcentagem e espessura de casca, o rendimento de incubação e o embriodiagnóstico. Os níveis de Arg digestível utilizados afetaram de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) o percentual de postura ( $P < 0,05$ ), em que a maior taxa de postura foi obtida com a suplementação de 1,262% de Arg digestível. Verificou-se um aumento linear crescente ( $P < 0,05$ ) no peso dos ovos das matrizes, porém, à medida que os níveis de Arg digestível na dieta foram aumentando, houve uma queda linear ( $P < 0,05$ ) na gravidade específica dos ovos. Para o rendimento da incubação, verificou-se que os níveis de Arg digestível utilizados não afetaram ( $P > 0,05$ ) nenhuma das variáveis avaliadas. A suplementação das matrizes de corte com dietas contendo níveis crescentes de Arginina, proporcionou uma maior produção de ovos e um ovo com maior peso com o nível de 1,262% e 1,543% de Arginina respectivamente. Para a reprodução, os níveis crescentes de Arginina não influenciaram nenhuma das variáveis estudadas, podendo esta ser utilizada sem prejuízo. O segundo experimento foi conduzido para determinar o efeito da suplementação de Arginina (Arg) na dieta de matrizes de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros ósseos da progênie suplementada com Arg ou não. A progênie foi alojada de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco níveis de L-Arginina incluídos na dieta da matriz de 0 a 600 mg/kg de Arg digestível acima da exigência e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. No período inicial (1 a 21 dias de idade), a suplementação das matrizes com Arg afetou quadráticamente ( $P < 0,05$ ) a conversão alimentar da progênie não suplementada, com melhor conversão ao nível de 1,359% de Arg. A progênie suplementada teve o consumo de ração e a conversão alimentar afetados quadráticamente ( $P < 0,05$ ) pelos níveis de Arg da dieta. O nível de suplementação 1,690% promoveu o maior consumo de ração e os níveis de 1,300% e 1,649% proporcionaram a melhor e a pior conversão alimentar, respectivamente. O ganho de peso apresentou um aumento linear ( $P < 0,05$ ) de acordo com os níveis de suplementação de Arg. No período total de criação (1 a 42 dias de idade), o ganho de peso da progênie alimentada com dietas suplementadas com Arg aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ), enquanto a progênie não

suplementada não foi afetada ( $P>0,05$ ). Para progênie não suplementada, apenas a porcentagem de carcaça foi influenciada linearmente ( $P<0,05$ ) pelos níveis suplementares de Arg recebidos pelas matrizes. Para progênie suplementada com Arg, a porcentagem de carcaça e de peito aumentou linearmente ( $P<0,05$ ). No entanto, a porcentagem de coxa e sobrecoxa e asa diminuiu linearmente ( $P<0,05$ ). A gordura abdominal destes animais foi influenciada quadraticamente ( $P<0,05$ ), com menor porcentagem de gordura abdominal ao nível de 1,672% . Os parâmetros ósseos da progênie não suplementada, apenas o diâmetro de tibia aos 7 dias de idade foi afetado quadraticamente ( $P<0,05$ ) pela suplementação de Arg na dieta das matrizes a partir do nível 1,196%. Na progênie suplementada o comprimento do fêmur, diâmetro da tibia e índice de Seedor de ambos aumentaram linearmente ( $P<0,05$ ). Estes resultados indicam que é necessário suplementar a dieta da progênie com Arg para se obter os melhores índices de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de ossos. O terceiro experimento foi conduzido para determinar o efeito da suplementação de Arginina (Arg) na dieta de matrizes de corte sobre a resposta imune celular e humoral da progênie suplementada ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg. A progênie foi alojada de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco níveis de L-Arg incluídos na dieta da matriz de 0 a 600% de Arg digestível acima da exigência e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. A resposta imune humoral foi avaliada pela titulação de anticorpos vacinais contra Doença de Newcastle. No 7º dia de idade, antes da vacinação, e no 14º, 21º, 28º e no 35º após a vacinação foram coletadas amostras de sangue de duas aves por repetição e o soro foi avaliado através de kit comercial *ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)*. A resposta imune celular foi medida pela injeção de fitohemaglutinina (PHA) aos 35 dias de idade. O peso relativo dos órgãos linfoides (bolsa cloacal, baço e timo) foram calculados como porcentagem do peso corporal vivo. A suplementação das matrizes de corte não influenciou ( $P>0,05$ ) o desenvolvimento dos órgãos linfoides da progênie suplementada ou não. A resposta imune celular foi afetada de forma quadrática ( $P<0,05$ ) pelos níveis de Arg. Esta resposta foi observada somente 12 horas após a inoculação com maior espessamento do espaço interdigital no nível de 1,574% de Arg na progênie suplementada. O título de anticorpos vacinais contra Doença de Newcastle na progênie não suplementada não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pela dieta da matriz. A progênie alimentada com dietas suplementadas mostrou uma diminuição linear no título de anticorpos ( $P<0,05$ ) aos 7 dias de idade, e um efeito quadrático ( $P<0,05$ ) aos 28 dias de idade, com 1,674% o melhor nível de suplementação. Este estudo concluiu que a suplementação de arginina na dieta das matrizes não é suficiente para melhorar a resposta imune humoral e celular, sendo necessário suplementar com Arg a dieta da progênie.

**Palavras-chave:** desempenho produtivo, qualidade de ovos, qualidade óssea, sistema imune.

## ABSTRACT

Three experiments were conducted to evaluate the effect of arginine (Arg) supplementation in broiler breeder nutrition and modulation of the immune systems and skeletal development in the progeny. In the first experiment, the effect of Arg supplementation on heavy breed hen's productive performance and egg quality was evaluated. "Ross line" broiler breeders were used in a total number of 416 (360 females and 30 males). The complete randomized design used five levels of digestible Arg (0.943%; 1.093%; 1.243%; 1.393%; 1.543%) and was performed in 8 experimental replicate units, each with 12 females and 1 male. Laying, albumen and yolk percentage, egg weight, specific gravity, shell percentage and thickness, hatching performance and embryo diagnosis were evaluated to assess productive performance and egg quality. The digestible Arg levels of 1.262% provided the higher laying percentage and affected this parameter quadratically ( $P < 0.05$ ). Despite of that, with the increase of the Arg supplementation level, a linear increase in egg weights and a linear decrease in the specific gravity were observed. The levels of digestible Arg did not affect hatching performance. In the second experiment the effects of arginine (Arg) supplementation in broiler breeder hens diet on performance, carcass yield and bone parameters was evaluated in progeny fed with or without the Arg supplemented diet. The progeny was housed according to the hen's treatments. A complete randomized design used five levels of digestible L-Arg from 0 to 600 mg/kg above of the required levels and was performed in six replicates totaling 30 experimental units. The body weight gain, feed intake and feed: gain ratio was calculated to evaluate the performance. The carcass yield was evaluated by the carcass percentage, leg, breast and wing yield and abdominal fat. The bone quality was assessed by the analysis of the femur and tibia lengths, diameters and Seedor index. In the initial phase (from 1 to 21 days old) the feed: gain ratio in the non-supplemented progeny was affected quadratically ( $P < 0.05$ ) and the 1.359% level was considered the best. The supplemented progeny showed the feed intake and feed: gain ratio quadratically affected ( $P < 0.05$ ) by the Arg supplemented diet. The level of 1.690% provided the highest feed intake and the level of 1.300% and 1.649% provided the best and worst feed: gain ratio, respectively. The body weight gain presented a linear increase ( $P < 0.05$ ) according to the Arg supplementation levels. During the entire study (from 1 to 42 days old), the body weight gain of the progeny fed with the Arg-supplemented diet showed a linear increase ( $P < 0.05$ ), whereas the progeny fed with the non-supplemented diet was not affected ( $P > 0.05$ ). Only the carcass percentage was linearly influenced ( $P < 0.05$ ) by the Arg supplemented diet in the progeny without supplementation. The carcass and breast percentage linearly increased ( $P < 0.05$ ) in the supplemented progeny. However, the leg and wing percentage linearly decreased ( $P > 0.05$ ). The abdominal fat was quadratically influenced ( $P < 0.05$ ) with the lowest abdominal fat percentage observed in the 1.672% level. The bone parameters in the non-supplemented progeny at 7 days old showed that

just the tibia diameter was quadractily affected ( $P < 0.05$ ) by the Arg supplemented diet in the 1.196% level. In the supplemented progeny the femur length, tibia diameter and Seedor index of both bones linearly increased ( $P < 0.05$ ). In third experiment the effects of arginine supplementation in broiler breeder hen's diet on humoral and cellular immune responses was evaluated in progeny fed with or without an Arg supplemented diet. The progeny was housed according to the hen's treatments. A complete randomized design used five levels of digestible L-Arg from 0 to 600% above of the required levels and was performed in six replicates, totaling 30 experimental units. Humoral immune response was measured as antibody titers for the *Newcastle Disease* vaccine. On the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days of age, before the vaccination, and on the 21<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup> and 35<sup>th</sup> days of age after vaccination, samples of blood and serum from two birds per pen were evaluated using a commercial ELISA kit (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Cell-mediated immune response was assessed by the cutaneous basophil phytohemagglutinin (PHA) hypersensitivity test at 35 days of age. The percentage ratio of lymphoid organs (bursa of Fabricius, spleen and thymus) was calculated as percentage of live body weight. The Arg supplemented diet did not influence ( $P > 0.05$ ) in the relative weight of the progeny lymphoid organs. The cellular immune response was quadractily affected ( $P < 0.05$ ) by the Arg supplementation. This response was only observed 12 hours after the phytohemagglutinin-P injection, with a higher inter-digital thickness observed with the 1.574% level of Arg supplementation. The antibody titers for the *Newcastle Disease* vaccine in the non-supplemented progeny were not influenced by the diet. The progeny fed with the arginine-supplemented diet showed a linear decrease ( $P < 0.05$ ) in the antibody titers at 7 days old and a quadratic effect ( $P < 0.05$ ) at 28 days old, with the 1.674% level considered the best for this parameter. This study concluded that the arginine supplementation in the broiler breeder hen's diet is not sufficient to improve humoral and cellular immune responses. According to the results it is possible to conclude that supplementation with Arg provided improvements in the eggs weight of broilers, and evaluations in the progeny demonstrated that there is a need to supplement the diet with Arg in order to get the best performance index, bone quality and humoral and cellular immunity.

*Key-words: bone quality, egg quality, productive performance, immune system.*

## I - INTRODUÇÃO

Vários fatores afetam o desempenho de frangos de corte, como a genética, nutrição, sanidade, manejo e ambiência. Entretanto, fatores estabelecidos antes mesmo da incubação e da eclosão, como a idade das matrizes e o peso dos ovos, são preponderantes para o desenvolvimento inicial das aves tendo consequência em todo o crescimento (Pedroso et al., 2005).

As exigências nutricionais de uma reprodutora, leve ou pesada, devem atender às necessidades do embrião em desenvolvimento fora do organismo materno (Campos, 2003). O ovo é formado basicamente pela casca (10%), clara (60%) e gema (30%). Desse modo, os níveis nutricionais da matriz devem ser dirigidos para formação desses componentes, porque estes são responsáveis pela nutrição do embrião.

O ovo tem água, proteína, gordura e cinza na sua composição química. A gema apresenta papel importante no desenvolvimento do embrião, visto que este formará o saco vitelino após o quarto dia de vida. O saco vitelino constitui a única fonte fornecedora de energia para o desenvolvimento do embrião. Deste são absorvidos todos os nutrientes pelo embrião, como partículas lipoproteicas e proteicas. Estas últimas podem ser absorvidas intactas, porque a produção de proteinases pelo embrião aumenta de acordo com o seu desenvolvimento. Além disso, parte da absorção de proteínas ocorre na forma de aminoácidos (Campos, 2003). O saco vitelínico também é a única fonte de

imunoglobulinas produzidas pelo organismo materno capazes de manter certa imunidade ao pintinho no período inicial de sua vida.

Os aminoácidos presentes na gema podem ser suficientes durante o processo de eclosão, após o nascimento, as reservas do saco vitelino da ave são insuficientes para o processo de crescimento (Ohta et al., 2004).

Logo após a eclosão, a maior parte da demanda de energia e de proteína das aves é direcionada para o desenvolvimento do trato digestório, principalmente intestinos (Fisher da Silva, 2001). Este crescimento preferencial ocorre tanto na presença quanto na ausência do alimento (Laurentiz et al., 2001). Quando estes nutrientes não são fornecidos pela ração, os neonatos utilizam o saco vitelino como suplemento energético e como fonte proteica para o crescimento intestinal. Entretanto, segundo Dibner et al. (1998), 20% da proteína residual do saco vitelino são representadas pelas imunoglobulinas maternas, e que a gordura bruta residual é constituída basicamente de triglicérides, fosfolípides e colesterol.

Assim, a nutrição das matrizes de corte pode enriquecer a gema e produzir pintos de alta qualidade. Entretanto, com o passar dos anos não houve muita diferença nos níveis nutricionais propostos para nutrição das matrizes de corte, o que ocorre principalmente em razão das grandes diferenças existentes entre as linhagens comerciais existentes. Segundo Baião & Lúcio (2005), para matrizes pesadas existe uma pausa nas pesquisas orientadas para a determinação das exigências específicas de aminoácidos essenciais.

Dentre os aminoácidos utilizados na formulação de rações, principalmente as voltadas para o conceito de proteína ideal, a arginina (Arg) pode exercer efeitos positivos, pois este além de ser constituintes de proteínas, ainda está envolvido na síntese de creatina e de poliaminas, de prolina, como substrato para a síntese de colágeno, e do óxido nítrico (NO) e na secreção do hormônio de crescimento (GH) e dos fatores de crescimento

semelhantes à insulina (IGF), cuja síntese se inicia na fase embrionária da ave (Harvey et al., 2001).

Como as aves não apresentam o ciclo da ureia funcional, estas dependem exclusivamente da Arg sintética, principalmente no período inicial de produção (Allen & Baker, 1972). Além disso, em dietas à base de milho e de farelo de soja, a Arg é considerada o quinto aminoácido limitante para frangos de corte, após metionina+cistina, lisina, treonina e valina (Corzo, 2007).

Vários autores têm proposto que a nutrição das matrizes afeta o desempenho dos pintos (Uni & Ferket, 2004). Muitos desafios de agentes patogênicos e vacinais acontecem nos primeiros dias de vida, portanto, a exigência da matriz em nutrientes específicos com função imunomoduladora, assume importante papel na transferência de imunidade materna e na resposta imune dos pintos.

## 1.1 REVISÃO DA LITERATURA

### *1.1.1 Matriz e o Sistema imune da Progenie*

O sistema imune das aves é complexo e compreende uma série de funções celulares e fatores solúveis que trabalham juntos para produzir uma resposta imune protetora. Os órgãos linfoides primários das aves são a bolsa cloacal e o timo. Os órgãos como medula óssea, baço, glândula Harderiana, placas de Payer e tonsilas cecais são considerados órgãos linfoides secundários.

Com base nesses componentes, as aves podem apresentar respostas a vários antígenos, divididas em dois tipos: a imunidade passiva e a ativa. A imunidade passiva é transferida para a progênie, pelas reprodutoras, via saco vitelínico. Através da imunidade passiva é possível desenvolver a resposta imune específica sem que haja um envolvimento do organismo, pela transferência de células ou de anticorpos de outro indivíduo já

imunizado. A imunidade ativa, por sua vez, é decorrente da exposição das aves a um antígeno estranho, que pode ser de origem vacinal ou um agente patógeno.

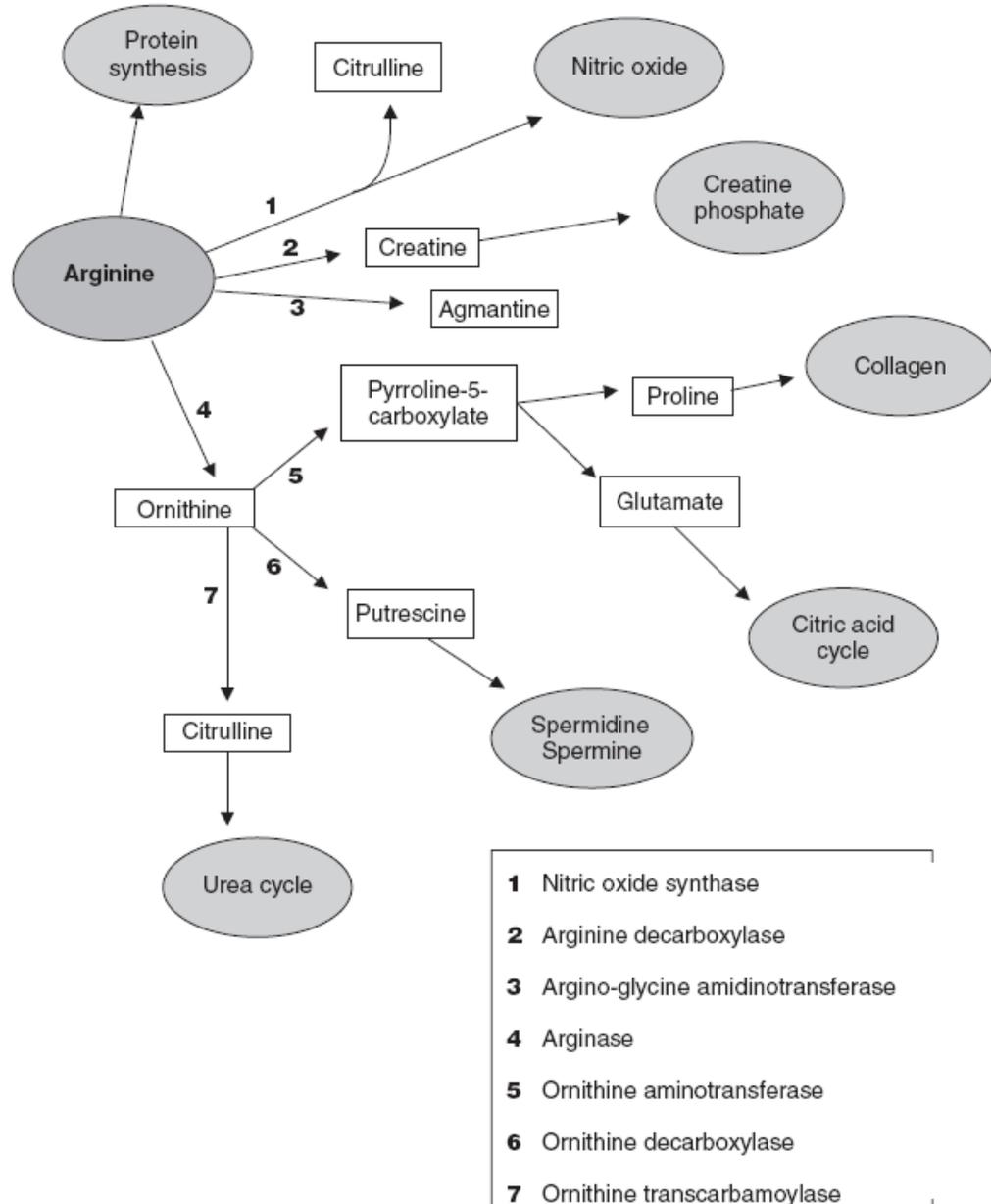
Nas aves, a imunidade passiva é passada da matriz até o pintinho pelo do ovo, no processo de produção de ovo, imunoglobulinas (Ig) Y presentes no sangue das matrizes chega até o oviduto e se deposita na gema do ovo, enquanto, durante a secreção do albúmen, que ocorre na porção magnum do oviduto, secreta também, IgA e IgM. É essa imunidade enviada pela mãe que protege esses pintos nos primeiros dias de vida contra vários agentes que estão presentes no campo (Santin, 2009). Há relação direta entre os títulos de séricos de Ig da mãe e a quantidade repassada ao ovo. Assim, é de extrema importância que o pintinho absorva adequadamente e rapidamente essa gema para que ele tenha acesso a estas Ig (Santin, 2009). Maiorka (2002) demonstrou que jejum de água e de alimento por 12 horas após a eclosão diminui a absorção da gema e afetam o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos de corte. Vargas et al. (2009) mostraram que os títulos séricos de anticorpos contra a vacina de doença de Newcastle (NDV) foram mais baixos em pintos submetidos a 12 horas de jejum pós eclosão quando comparados àqueles que consumiram água e alimento logo após a eclosão. De fato, o atraso no consumo de alimento dos animais pode diminuir a absorção da gema e conseqüentemente a passagem da imunidade passiva da mãe para o pintinho. Dibner et al. (1998) sugerem que quando o pintinho não recebe rapidamente água e alimento após a eclosão acaba utilizando as Ig e os fosfolípidios da gema como alimento, diminuindo assim sua função na proteção animal.

### *1.1.2 Influência da Arginina no Sistema Imune e na Formação Óssea das Aves*

A Arg é um aminoácido essencial em aves, principalmente na fase inicial. Isso ocorre porque as aves, diferentemente dos mamíferos, não possuem o ciclo da ureia funcional, necessitando da fonte exógena de suplementação. Evoy et al. (1998) em seu

trabalho, relataram o papel da Arg como essencial na estimulação do sistema imune do hospedeiro.

As vias metabólicas que envolvem a Arg são complexas e demonstradas resumidamente a seguir:



Adaptado de Duff & Daly (2002).

Juntamente com a complexidade dessas vias, soma-se a variada localização das enzimas envolvidas, no meio intracelular como nos tecidos. Com exceção dos enterócitos

em recém-nascidos, nenhum outro tipo de célula contém todas as enzimas necessárias para a síntese de Arg (Wu & Morris, 1998).

A Arg é ativamente absorvida pelo intestino pelo sistema de transporte sódio-dependente. A alta atividade da arginase no enterócito converte cerca de 40% da dieta de Arg em citrulina, a qual é liberada na circulação (Castillo et al., 1993). Quando a Arg cai na corrente sanguínea, cerca de 15% é eliminada pelo fígado e o restante entra na circulação sistêmica (O'Sullivan et al., 1998). A Arginina é sintetizada a partir da citrulina, principalmente nos rins, e é então liberada na circulação para ser utilizada pelos demais tecidos.

O óxido nítrico (NO) constitui uma das menores e mais simples moléculas biossintetizadas (Morris et al., 1994). O NO é um radical livre, gasoso, inorgânico e identificado como mensageiro molecular extremamente lábil (meia vida biológica em torno de segundos). O NO media vários fenômenos, como vasorrelaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária. É produzido pelas células endoteliais, neurônios, macrófagos e tecidos, entre eles a hipófise, que age paracrinamente, exercendo efeitos intra e extracelulares em vários sistemas fisiológicos (Kutchai, 1998).

Palmer et al. (1988) demonstraram que a L-Arg é o precursor fisiológico do NO nas células endoteliais. Com base nesta informação, vários grupos de investigadores suspeitaram que o NO fosse o provável precursor da síntese de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  pelos macrófagos. Subsequentemente, esta hipótese foi comprovada e ficou demonstrado que o NO é o principal mediador citotóxico de células imunes efetoras ativadas e constitui a mais importante molécula reguladora do sistema imune (Hibbs Jr. et al., 1988 e Marletta, et al., 1988 citados por Dusse et al., 2003).

Este composto é produzido a partir da oxidação da L-arginina, pela ação da enzima óxido nítrico sintetase (NOS), uma enzima  $\text{Ca}^{++}$ -calmodulina-dependente. Por este mecanismo, é gerado citrulina como produto final (Kiechele & Malinski, 1993).

O surgimento do NO como agente da sinalização celular é uma importante descoberta da fisiologia humana e animal nos últimos anos. O NO participa de vários fenômenos, como vasorrelaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária. O NO é o principal mediador citotóxico de células imunes efetoras ativadas e constitui a mais importante molécula reguladora do sistema imune (Hibbs Jr. *et al.*, 1988 e Marletta *et al.*, 1988 citados por Dusse *et al.*, 2003).

Existem três formas de NOS, sendo a NOS induzida (iNOS) e duas NOS constitutivas (cNOS). O NO é sintetizado pela ativação da cNOS basal (em células endoteliais vasculares e neurônios), segundos a minutos após o aumento na concentração de cálcio em resposta à ativação de receptores da superfície celular e mecanismos de transdução de sinal (Adams, 1996).

Ao contrário, a iNOS não depende de cálcio para ativação, mas a síntese de mRNA da iNOS é necessária para sua atividade. A NOS induzida não é detectável em condições basais. As LPS ou endotoxinas bacterianas, junto com citocinas, como  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  ou  $\text{IF-}\gamma$ , induzem a síntese de iNOS, de duas a quatro horas após a exposição ao agente. A iNOS requer síntese proteica para sua expressão e sua atividade persiste por mais de 24 horas e sintetiza NO em concentrações nanomolares, 1000 vezes maior que cNOS (Davies *et al.*, 1995).

A expressão da iNOS é o resultado da resposta inflamatória localizada ou difusa resultante da infecção ou dano tecidual. Segundo Salvemini *et al.* (1996), o NO é potente vasodilatador e seu envolvimento na resposta inflamatória pode ter relação com sua

habilidade em aumentar a permeabilidade vascular e o edema através de mudanças no fluxo sanguíneo local e do aumento na produção de prostaglandinas proinflamatórias.

A expressão de iNOS em endotoxemia é citoprotetória, inibindo microtrombose, pela prevenção de adesão plaquetária e danos mediados por radicais. Por outro lado, a citotoxicidade do NO resulta da sua ação direta ou da sua reação com outros compostos liberados durante o processo inflamatório. A base bioquímica para a ação direta do NO consiste na sua reação com metais (especialmente o ferro) presentes nas enzimas do seu alvo (Moncada, 1991; James, 1995). Desta forma, são inativadas enzimas cruciais para o ciclo de Krebs, para a cadeia de transporte de elétrons, para a síntese de DNA e para o mecanismo de proliferação celular. Em processos infecciosos, células ativadas como macrófagos, neutrófilos e células endoteliais secretam simultaneamente NO e intermediários reativos do oxigênio, a ação citotóxica indireta do NO consiste, principalmente, na sua reação com esses intermediários do oxigênio.

Durante a resposta imune mediada por células, a maioria das células adquire a capacidade de expressar a forma de NO induzida (Nathan & Xie, 1994). A ação do NO depende da célula T reconhecer um antígeno específico, embora sua ação na resposta imune mediada por células não seja específica (Schmidt & Walter, 2004).

Costa et al. (2003) corroboram com o fato de que a fagocitose por si só não induz a síntese de NO. A fagocitose de partículas inertes por macrófagos peritoniais, em cultura, ou por macrófagos murinos, estimulados por citocinas, não são estímulos suficientes para a indução expressiva de iNOS. No entanto, a fagocitose de agentes biológicos, nas mesmas condições, induz altos níveis de NO, sugerindo que a produção de NO seja dependente de estímulo imunológico e que faça parte dos mecanismos de defesa do organismo.

Todas estas investigações estabeleceram, de forma definitiva, uma associação entre arginina, óxido nítrico e resposta imune. Por isso, nas últimas duas décadas, a arginina tem sido o foco de estudos como regulador de muitos processos imunológicos e fisiológicos (Tayade et al., 2006).

Trabalhos desenvolvidos com mamíferos demonstraram que as respostas imunes podem ser influenciadas pela arginina dietética (Kennedy et al., 1994; Kobayashi et al., 1998; Lewis & Langkamp-Henken, 2000). Em experimentos desenvolvidos com animais jovens, os efeitos timotróficos da suplementação com L-arginina, foram demonstrados como o aumento do peso do timo, do número e a reatividade funcional dos linfócitos tímicos. Os efeitos imunoestimulatórios foram ainda mais expressivos em animais estressados ou imunossuprimidos.

Os efeitos benéficos da arginina não se limitam à imunidade celular. Segundo LeBien (2002), em mamíferos geneticamente modificados, a arginina é utilizada para diferenciação de pró-linfócitos B para pré-linfócitos B na medula óssea e está envolvida na liberação destas células da medula.

Por outro lado, Deng et al. (2005) relatam que relevantes pesquisas em espécies aviárias são esparsas. Estas pesquisas apontaram o aumento da produção de óxido nítrico por macrófagos de aves suplementadas com arginina (Sung et al., 1991), aumento do peso dos órgãos linfoides (Kwak et al., 1999), melhora da relação heterófilo:linfócito em pintos suplementados e desafiados com o agente viral da bronquite infecciosa e maior percentual de células CD8<sup>+</sup> (Lee et al., 2002).

Entretanto, para Kidd (2004), os efeitos benéficos da suplementação de arginina foram observados quando os níveis empregados foram de 25 a 50% das exigências estabelecidos. Níveis próximos ao recomendado, apesar de elevar o nível de arginina plasmática, não melhoraram a resposta imune humoral ou celular.

Outros autores obtiveram respostas positivas com a suplementação de arginina, na redução na mortalidade de frangos desafiados com *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella* e *Eimeria máxima*, alterando a relação arginina:lisina de 0,9 para 1,3 (Kidd et al., 2002) e na síndrome da hipertensão pulmonar (Wideman et al., 1995). Também Corzo et al. (2003) observaram redução linear de arranhões infectados em carcaças de frangos alimentados com níveis crescentes de arginina (0,8 a 1,25% da dieta). Embora esses parâmetros sejam indicativos indiretos da imunidade, mas apontam a importância da arginina na melhora da imunidade e no restabelecimento do *status* sanitário dos plantéis avícolas.

Tayade et al. (2006) demonstraram recentemente que frangos vacinados com uma vacina intermediária atenuada contra a doença de Gumboro e suplementados com 2% de arginina, mostraram 100% de proteção após desafio com o vírus da doença de Gumboro comparado com 80% de proteção induzido apenas pela vacina sem adição de arginina suplementar na dieta.

Além disso, Deng et al. (2005) verificaram aumento no nível de anticorpos contra eritrócitos de carneiro em frangas de postura somente na oitava semana de idade, quando estas aves foram suplementadas com níveis de arginina em 150% acima do recomendado pelo NRC do primeiro dia até a quarta semana de vida. Os autores concluíram que a suplementação com arginina por um período curto de tempo tem pouco efeito sobre a imunidade e que a imunocompetência pode ser permanentemente moldada pelo *status* nutricional nos estágios mais precoces do desenvolvimento.

Para a melhora da resposta imune deve-se garantir que as matrizes desenvolvam títulos elevados de anticorpos e assim, buscar atingir o controle contra surtos de doenças via imunidade materna, como meio de prevenção na progênie. Kidd et al. (1993) observaram que a diferença no nível de anticorpos contra eritrócitos de carneiro em

matrizes pesadas recebendo dietas compostas por grãos de várias origens, foi detectada na progênie recebendo a mesma dieta.

A imunidade e a resistência às doenças da progênie são afetadas pela alteração dos níveis nutricionais da dieta das matrizes. Segundo Kidd (2004), trabalhos desenvolvidos a cerca das exigências nutricionais das matrizes estão focados apenas na questão produtiva. Brake (1997) mostrou que a suplementação de dietas para matrizes com vitaminas E e C promoveu melhoria na transferência de imunidade materna e na resposta imune dos pintos, pela proteção aos anticorpos no ovo durante a incubação.

Segundo Gore & Qureshi (1997), um dos mecanismos pelo qual a vitamina E atua nesta fase de crescimento embrionário pode estar relacionado a uma maior produção de óxido nítrico, nitritos e nitratos, pelo fato de que a Vitamina E pode aumentar a afinidade dos receptores de membrana dos macrófagos para a ativação dos estímulos, tais como os lipopolissacarídeos, o que resulta em maior atividade da óxido nítrico sintetase.

Na literatura consultada, não existem relatos da suplementação das dietas das matrizes com arginina e o efeito na resposta imune da progênie.

A produção de NO pelos macrófagos das aves é arginina dependente, de forma similar aos macrófagos de mamíferos (Dietert & Golemboski, 1998). Entretanto, ao contrário dos mamíferos, as aves não podem sintetizar arginina. As aves por não apresentarem o ciclo da ureia funcional, dependem exclusivamente da arginina dietética (Allen & Baker, 1972). O quadro é ainda mais grave nas aves, uma vez que dependem de arginina suplementar também para a para a formação de ornitina, que em mamíferos é obtida através do ácido glutâmico. A síntese de ornitina é fundamental, pois está envolvida na obtenção de prolina e é utilizada também na formação de poliaminas (espermidina, espermina e putrescina) que são moléculas associadas diretamente ao crescimento e a diferenciação celular (Buttery & D'Mello, 1994).

Desta forma, a arginina é um aminoácido essencial para as aves na fase inicial. A dieta é um fator particularmente sensível na disponibilidade de arginina e conseqüentemente, de NO, considerando ainda que a arginina é um aminoácido dos mais limitantes em dietas à base milho e farelo de soja (Edmonds et al., 1985).

A suplementação adicional de Arg nas dietas de aves imunocomprometidas, poderia aumentar ainda mais a atividade da arginase, e com isso menos Arg seria disponível para a síntese de NO (Kepka-Lenhart *et al.* 2000). Alternativamente, Bansal *et al.* (2004) sugerem como estratégia dietética para restaurar as concentrações plasmáticas de Arg, a suplementação de citrulina, principalmente em condições de imunodeficiência associadas com elevada atividade plasmática da arginase. Nas espécies uricotélicas, o ciclo Arg-citrulina é funcional. A citrulina é um aminoácido que não é encontrado em nenhuma proteína corporal, além da inabilidade das aves na síntese endógena de citrulina, a suplementação dietética se constitui na única fonte de Arg para os macrófagos, via ciclo NO-citrulina (Wiesinger, 2001).

A suplementação de aminoácidos sintéticos tem propiciado facilidades no ajuste das fórmulas de ração, possibilitando a obtenção dos níveis exigidos de aminoácidos essenciais. A utilização de níveis elevados de lisina proporciona um maior crescimento muscular, principalmente o incremento no rendimento de peito e coxas dos frangos de corte. Entretanto, esse aumento da taxa de crescimento pode alterar o equilíbrio metabólico ideal entre os aminoácidos, especialmente a relação arginina:lisina.

O antagonismo entre arginina e lisina envolve a diminuição da síntese de creatinina, compromete a síntese de prolina, ornitina, promove o aumento da atividade da arginase renal e da excreção de ureia, além de que, quando os níveis de lisina são excessivamente altos, também ocorre a excreção renal de arginina (Austic & Scott, 1975).

Os sinais clássicos da deficiência de Arg são fraqueza e paralisia das pernas, penas deformadas e eriçadas sobre o dorso e asa das aves, redução do ganho de peso, lesões histológicas na medula óssea e desenvolvimento ósseo afetado (Jungherr et al., 1958; Newbern et al., 1960). A arginina, além de servir como substrato para a síntese de NO, está envolvida na secreção do GH.

Alba-Roth et al. (1988) estudando o papel da arginina sobre a secreção do hormônio do crescimento em indivíduos normais, verificaram um aumento na concentração plasmática de GH quando esse aminoácido foi administrado. Uma vez secretado pela hipófise anterior para a circulação, o GH age diretamente no seu próprio receptor, e indiretamente, via IGF-I e II (insulin-like growth factor ou somatomedina C), sobre os tecidos periféricos. Um dos efeitos mais conhecidos do GH ocorre em nível do disco epifisário, no qual estimula a síntese de IGF-I, que induza mitogênese, que resulta no crescimento dos ossos longos (Isaksson et al., 1987).

Os efeitos dos aminoácidos essenciais no tecido ósseo em crescimento são provavelmente mediados pelo IGF-I (Baylink et al., 1993). De fato, Chevalley et al. (1998) demonstraram que arginina e lisina aumentaram a produção *in vitro* de IGF-I por osteoblastos mantidos em cultura. Além disso, Conconi et al. (2001) trabalhando com cultura de osteoblastos enriquecida com solução de aminoácidos essenciais (Arg, Lis, Met, Thr e Trp), encontraram níveis significativamente aumentados de fosfatase alcalina e síntese de colágeno. Estes resultados, segundo os autores, sugerem que os aminoácidos podem atuar diretamente na formação da matriz óssea e podem também modular o crescimento e a diferenciação de osteoblastos.

Por outro lado, é conhecido que a arginina é precursor do óxido nítrico, mecanismo pelo qual ela poderia exercer os seus efeitos biológicos no crescimento ósseo. O NO pode participar da regulação do *turnover* de condrócitos da placa de crescimento (Hukkanen et

al., 1999). Estes autores demonstraram a expressão do mRNA da cNOS basal (óxido nítrico sintetase endotelial) em condrócitos hipertróficos de placas de crescimento de ratos neonatos.

Na placa de crescimento, o NO poderia facilitar a vascularização e a formação óssea (Rath et al., 2000), a exemplo de sua ação na cartilagem articular, em que induz respostas biológicas que levam a degradação irreversível (Pelletier et al. 1998). Segundo Amin & Abramson (1998) nas osteoartrites o NO induz a apoptose dos condrócitos.

Teixeira et al. (2005) comprovaram que o NO tem duas funções distintas nos condrócitos da placa de crescimento. Uma vez iniciado o processo de maturação, o NO estimula a hipertrofia por meio do aumento da expressão da fosfatase alcalina e colágeno tipo X, sendo conhecido que a expressão de ambas proteínas é um requerimento para a completa hipertrofia dos condrócitos. Além disso, o NO está associado ao estágio mais tardio do processo de maturação. Condrócitos totalmente diferenciados tratados com ativadores da apoptose sofrem morte celular, a inibição da síntese de NO bloqueia a apoptose, enquanto a exposição aos doadores de NO estimula a apoptose. Estes autores concluíram que os sistemas NOS – NO atuam como promotores da maturação dos condrócitos.

Por outro lado, Van't & Ralston (2001) advertem que o efeito do NO na atividade dos osteoblastos pode ser bifásico. Estudos *in vitro* têm indicado que pequenas quantidades de NO, que são produzidas constitutivamente pelos osteoblastos, podem agir como um estimulador autócrino do crescimento ósseo. Entretanto, altas concentrações de NO, tais como aquelas observadas após estimulação das citocinas inflamatórias, em que a iNOS é a isoforma envolvida, têm efeito inibitório no crescimento e diferenciação osteoblástica.

O crescimento e a remodelação dos tecidos são regulados por complexas interações entre potencial genético, fatores de crescimento, influências ambientais e nutrição (Gonzales & Sartori, 2002). A resposta imune e a inflamação podem modificar as necessidades de alguns nutrientes.

As alterações metabólicas decorrentes podem interromper os eventos envolvidos no processo de condrogênese e osteogênese e desencadear o processo de formação das lesões no tecido ósseo que levam a dificuldade locomotora, deformação óssea, predisõem às infecções e às desordens esqueléticas tais como a discondroplasia tibial (Thorp, 1994). Além das perdas econômicas, é clara a percepção que as disfunções do aparelho locomotor comprometem o bem-estar das aves.

Além de interagirem com o sistema imune, os processos que modulam o crescimento ósseo são complexos e múltiplos e mais estudos são necessários para elucidar estes mecanismos.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS HR. Physiologic, pathophysiologic, and therapeutic implications for endogenous nitric oxide. **Journal of the American Medical Association**; v.209, p.1297-1302, 1996.
- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6<sup>a</sup>. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. 566p.
- ALBA-ROTH, J.; MÜLLER, O.A.; SCHOPOHHL, J; et al. Arginine stimulates growth hormone secretion by suppressing endogenous somatostatin secretion. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.67, p.1186-1189, 1988.
- ALLEN, N.K., BAKER, D.H. Effects of excess lysine on the utilization and requirement for arginine by the chick. **Poultry Science**. v.51, p.902-906, 1972.
- ALLEN, P.C. Nitric oxide production during *Eimeria tenella* infection in chickens. **Poultry Science**, v.76, p.810-813, 1997.
- AMIN, A.R.; ABRAMSON, S.B. The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis. **Current Opinion in Rheumatology** v.10, p.263-268, 1998.
- AUSTIC, R.E.; SCOTT, R.L. Involvement of food intake in the lysine-arginine antagonism in chicks. **Journal of Nutrition**, v.105, p.1122-1131, 1975.
- BAIÃO, N.C.; LÚCIO, C.G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A.A.; **Manejo de matrizes pesadas**. Campinas: FACTA. cap. 10; p. 198-216, 2005.
- BANKS, W.J. **Applied Veterinary Histology**. 3.ed., Mosby, 1993. 512p.
- BAYLINK, D.J.; FINKELMAN, R.D.; MOHAN, S. Growth factors to stimulate bone formation. **Journal Bone Mineral Research**, v.8, p.565-572, 1993.
- BEÇAK, W. P. J., **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos S.A., 1976.
- BOLEA, S.; PERTUSA, J.A.G.; MARTÍN, F.; et al. Regulation of pancreatic b-cell electrical activity and insulin release by physiological amino acid concentrations. **European Journal Physiology**, v. 433, p.699-704, 1997.

- BRAKE, J. Immune status - the role of vitamins. **Feed Mix**, v.5, p.21-24, 1997.
- BREDT, D.S.; SNYDER S.H. Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. **Annual review of biochemistry**, v.63, p.175-195, 1994.
- BUTTERY, P.J. E D'MELLO, J.P.F. Amino acid metabolism in farm animals: an overview. In: D'Mello, J.P.F. (ed.). **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: Cab International. p.1-10, 1994.
- CAMPOS, E.J. Nutrição de matriz e do embrião. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas. p. 455-468, 2003.
- CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de hematología aviar**: material didático para curso de hematologia aviária. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. México, 70p , 2000.
- CHEVALLEY, T.; RIZZOLI, R.; MANEN, D.; et al. Arginine increases insulin-like growth factor-I production and collagen synthesis in osteoblast-like cells. **Bone**, v.23, p.103-109, 1998.
- COLLIN-OSDOBY, P.; NICKOLS, G.A.; OSDOBY, P. Bone Cell Function, Regulation, and Communication: A Role for Nitric Oxide. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.57, p.399-408, 1995.
- CONCONI, M.T.; TOMMASINI, M.; MURATORI, E.; et al.. Essential amino acids increase the growth and alkaline phosphatase activity in osteoblasts cultured in vitro. **IL Farmaco**, v.56, p.755-761, 2001.
- CONGER FD. Endothelial regulation of vascular tone. **Hospital Practice**, v.15, p.117-126,1994.
- CORZO, A. Valine and isoleucine: their importance in broiler feed formulation. **Aminonews**. v.9, p.15-21, 2007.
- CORRIER, D.E.; DeLOACH, J.R. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. **Poultry Science**, v.69, p.403-408, 1990.
- CORZO, A., E. T. MORAN, JR., AND D. HOEHLER. Arginine need of heavy broiler males: Applying the ideal protein concept. **Poultry Science**, v.82, p. 402-407, 2003.
- COSTA, M.T.; FABENI, R.C.; APTEKMANN; et al.. Diferentes papéis do óxido nítrico com ênfase nas neoplasias. **Ciência Rural**, v.33, p. 967-974, 2003.
- DAVIES MG, FULTON GJ, HAGEN PO. Clinical biology of nitric oxide. **British Journal of Surgery**; v. 82, p.1598-1610, 1995.

- DENG, K.; WONG, C.W.; NOLAN, J.V. Long-term effects of early life L-arginine supplementation on growth performance, lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. **British Poultry Science**, v.46, p. 318–324, 2005.
- DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D.; KITCHELL, M.L.; et al. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, p. 425-436, 1998.
- DIETER, T, R.; GOLEMBOSKI, K.A. Avian macrophage metabolism. **Poultry Science**, v.77, p. 990-997, 1998.
- DUSSE, L.M.S.; VIEIRA, L.M.; CARVALHO, M.G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.39, p. 343-350, 2003.
- EVOY, D.; LIEBERMAN, M.D.; FAHEY, T.J.; et al.. Immunonutrition: the role of arginine. **International Journal of Applied and Basic Nutritional Sciences**, v. 14, n. 7, p. 611-617, 1998.
- FISHER DA SILVA, A.V. Efeitos da restrição alimentar precoce e da glutamina no desempenho e na mucosa intestinal em frangos. TESE (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Paulista, 77p. 2001.
- GLICK, B. Immunophysiology. In STURKIE, P.D. **Avian Physiology**. 4<sup>a</sup> ed. Tennessee: Kingsport Press, p. 87-101, 1986.
- GHIGO, E.; CEDA, G.P.; VALCAVI, R.; et al. Low doses of either intravenously or orally administered arginine are able to enhance growth hormone response to growth hormone releasing hormone in elderly subjects. **Journal of Endocrinology Investigation**, v.17, p.113-22, 1994.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Eds.). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed., Jaboticabal:FUNEP/UNESP,p.279-297, 2002.
- GORE, A.B. & QURESHI, M.A. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. **Poultry Science**, v.76, p. 984-991, 1997.
- HARVEY,S.; JOHNSON, C.D.M.; SANDERS, E.J. Growth hormone in neural tissue of the chick embryo. **Journal of Endocrinology**, v.169, n.3, p. 487-496, 2001.
- HIBBS JR., TAINTOR R.R.; VAVRIN Z. et al. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. **Biochemical Biophysical Research Communications**, New York, v.157, p.87-94, 1988.
- HUKKANEN, M.V.; PLATTS, L.A.; FERNANDEZ, D.M.I.; et al. Developmental regulation of nitric oxide synthase expression in rat skeletal bone. **Journal Mineral Research**, v.14, p.868-877, 1999.
- ISAKSSON, O.G.; LINDAHL, A.; NILSON, A.; et al.. Mechanism of stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone. **Endocrine Reviews**, v.8, p.426-438, 1987.

- JAMES, S.L. Role of nitric oxide in parasitic infections. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.59, p.533-547, 1995.
- JUNGHERR, E.L.; SNYDER, J.M.; SCOTT, H.M. Cytopathologic changes in liver cord cells of arginine deficient chicks. **Journal of Nutrition**, v.65, p.281, 1958.
- KENNEDY, J.A., KIRK, S.J., MCCRORY, D.C., et al. Modulation of immune function and weight loss by L-arginine in obstructive jaundice in the rat. **British Journal of Surgery**, v.81, p.1199-1201, 1994.
- KIDD, M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.650-657, 2004.
- KIDD, M.T., PEEBLES, E.D., WHITMARSH, S.K., et al. Growth and immunity of broiler chicks as affected by dietary arginine. **Poultry Science**, v.80, p.1535-1542, 2001.
- KIECHELE FL, MALINSKI T. Nitric oxide: biochemistry, pathophysiology, and detection. **American Journal Clinical Pathology**; v.100, p.567-575, 1993.
- KLASING, K.C. Avian leukocytic cytokines. **Poultry Science**, v.73, n.7, p.1035-1043, 1994.
- KLASSING, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v.77, p.1119-1125, 1998.
- KOBAYASHI, T., YAMAMOTO, M., HIROI, T., et al. Arginine enhances induction of T helper 1 and T helper 2 cytokine synthesis by Peyer's patch alpha beta T cells and antigen-specific mucosal immune response. *Bioscience*, **Biotechnology and Biochemistry**, v.62, p.2334-2340, 1998.
- KONJUFCA, V.K. Influence of dietary vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.1530-1534, 2004.
- KUTCHAI, H.C. Cellular physiology. *In*: BERNE, R.M.; LEVY, M.N. (Eds.) **Physiology**. St. Louis: Mosby, p.443-77, 1998.
- KUO P.C, SCHROEDER R.A. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. **Annals of Surgery**, v.221, p:220-235, 1995.
- KWAK, H., AUSTIC, R.E. & DIETERT, R.R. Influence of dietary arginine concentration on lymphoid organ growth in chickens. **Poultry Science**, v.78, p.1536-1541, 1999.
- LAURENTIZ, A.C.; ARIKI, J.; ARAÚJO, L.F.; et al. Adaptações digestivas pós-eclosão. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais**. Campinas: FACTA, p. 141-151, 2001.

- LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; OBLED, C. Modification of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. **Livestock Production Science**, v.87, p.37-45, 2004.
- LEBIEN, T.W. Arginine: an unusual dietary requirement of pre-B lymphocytes? **The Journal of Clinical Investigation**, v.110, p.1411-1413, 2002.
- LEE, J.E., AUSTIC, R.E., NAQI, S.A., et al. Dietary arginine intake alters avian leukocyte population distribution during infectious bronchitis challenge. **Poultry Science**, v.81, p.793-798, 2002.
- LESSARD, M.; HUTCHINGS, D.; CAVE, N. A. Cell-mediated and humoral immune responses in broiler chickens maintained on diets containing different levels of vitamin A. **Poultry Science**, v.76, p.1368-1378, 1997.
- LEWIS, B. & LANGKAMP-HENKEN, B. Arginine enhances in vivo immune responses in young, adult and aged mice. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1827-1830, 2000.
- LYON, J.A. e HINSHAW, V.S. Inhibition of nitric oxide induction from avian macrophage cell lines by influenza virus. **Avian Diseases**, v.37, p.868-873, 1993.
- LYONS CR. The role of nitric oxide in inflammation. **Advanced Immunology**, v.60, p.323-355, 1995.
- MAIORKA, A. **Efeito da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte.** p.103. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. 2002.
- MASTELLER, E.L.; THOMPSON, C.B. B cell development in the chicken. **Poultry Science**, v.73, n.7, p.998–1011, 1994.
- MARLETTA, M.A.; YOON, P.S.; IYENGAR, R. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry**, v.27, p.8706-8711, 1988.
- McCORCKLE, F.M. Introduction to the symposium: nonlymphoid cells and their factors in immune response. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.963, 1998.
- MOLLACE V, SALVEMINI D, ANGGARD E, et al. Nitric oxide from vascular smooth muscle cells: regulation of platelet reactivity and smooth muscle cell guanylate cyclase. **British Journal Pharmacology**, v.104, p.633-638,1991.
- MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacology Reviews**, v.43, n.2, p.109-142, 1991.
- MONTASSIER, H.J. Enfermidades do sistema imune. *In*: JR. BERCHIERI, A.e MACARI, M. (Eds.). **Doenças das aves.** 1.ed., Jaboticabal:FUNEP/UNESP, 2000, p.141-150.

- MORGULIS, M.S. *Imunologia Aplicada*. IN: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZÁLES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2.ed. São Paulo: FUNEP, p.231-245, 2002.
- MORRIS, S.M. & BILLIAR, T.R. New insights into regulation of inducible nitric oxide synthesis. **American Journal of Physiology**, v.266, p.829-839, 1994.
- NATHAN, N.C.; XIE, Q. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. **Cell**, v.78, p. 915-918, 1994.
- NEWBERNE, P.M.; SAVAGE, J.E.; O'DELL, B.L. Pathology of arginine deficiency in the chick. **Journal of Nutrition**, v.72, p.347-352, 1960.
- OTHA, Y.; YOSHIDA, T.; TSUSHIMA, N. Comparasion between broilers and layers for growth and protein use by embryos. **Poultry Science**. v.83, n.5, p. 783-797, 2004.
- OVIEDO-RONDÓN, E.O. **Nutrição e Status Imunológico de Frangos de Corte**. In: II Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal (II CLANA). São Paulo: CBNA – AMENA, São Paulo-SP. 2006.
- PALMER, R.M.J.; ASHTON, D.S. & MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthetize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v.333, p.664-666, 1988.
- PEDROSO, A.A.; STRINGHINI, J.H.; LEANDRO, N.S.M.; et al. Desempenho e biometria de órgãos digestórios de frangos provenientes de matrizes jovens após diferentes intervalos de alojamento. **Revista Brasileira de Ciência Avícola, Campinas**, v.7, p.5, 2005.
- PENZ, JR., A.M.; RENZ, S.V. Actualización em la nutrición de pollos de engorde. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 18., 2003, Santa Cruz de la Sierra. **Anais...**Cochabamba: Asociación Nacional de Avicultores de Bolívia e Asociación Latinoamericana de Avicultura, p.373-384, 2003.
- PELLETIER, J.P.; JOVANOVIC, D.; FERNANDES, J.C.; et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. **Arthritis Rheumatology**, v.41, p.1275-1286, 1998.
- QURESHI, M.A. Role of macrophages in avian health and disease. **Poultry science**, v.77, p.978-982, 1998.
- QURESHI, M.A.; DIETERI, R.R.; BACON, L.D. Genetic variation in the recruitment and activation of chicken peritoneal macrophages (42293). In: The Society for Experimental Biology and Medicine. **Proceedings**. v.181, p.560-568, 1986.
- RATH N C, HUFF WE, BAYARI GR, BALOG JM. Cell death in avian tibial dyschondroplasia. **Avian Diseases**, v.42, p.72-79, 2000.
- 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. **Tabelas brasileiras para aves e**

- suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 2ed. 185p., 2005.
- SALVEMINI D, WANG Z, WYATT PS, BOURDON DM, MARINO MH, MANNING PT, CURRIE MG. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British Journal Pharmacology**, v.118, p.829-838, 1996.
- SANTIN, E. Modulando o sistema immune das aves para incrementar produtividade. p.1-6, 2009.
- SCHMIDT, H.H.H.W.; WALTER, U. NO at work. **Science Journal**, v.60, p.101-111, 2004.
- SUNG, Y.-J., J. H. HOTCHIKISS, R. E. AUSTIC, AND R. R. DIETERT. L-arginine-dependent production of a reactive nitrogen intermediate by macrophages of a uricotelic species. **Journal of Leukocyte Biology**. v.50, p.49-56, 1991.
- TAYADE, C.; JAISWAL, T.N.; MISHRA, S.C.; MADHURI, K. L-Arginine stimulates immune response in chickens immunized with intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. **Vaccine**, v.24, p.552–560, 2006.
- TEIXEIRA, C.C., ISCHIROPOULOS, H.; LEBOY, P.S.; ADAMS, S.L.; SHAPIRO, I.M. Nitric oxide–nitric oxide synthase regulates key maturational events during chondrocyte terminal differentiation **Bone**, v.37, p.37 – 45, 2005.
- THOMAS, L. **Clinical laboratory diagnostics**. 1ed. Frankfurt:TH-Books Verlagsgesellschaft, p.80-86, 1996.
- THORP, B.H. Skeletal disorders in the fowl: a review. **Avian Pathology**, v.23, p.203-36, 1994.
- UNI Z. & FERKET R.P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.101-111, 2004.
- VAN'T HOF, R.J. e RALSTON, S.H. Nitric oxide and bone. **Immunology**, v.103, p.255-261, 2001.
- WENNMALM A. Endotelial nitric oxide and cardiovascular disease. **Journal of International Medicine**, v.235, p.317-327, 1994.
- WIDEMANN, R.F.; JR. KIRBY, Y.K.; ISMAIL, M; BOTTJE, W.G.; MOORE, R.W.; VALDERMAN, R.C. Supplemental L-arginine attenuates pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. **Poultry Science**, v.74, p. 323-330, 1995.
- WU G, MORRIS JR SM. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemistry Journal**, v.336, p.1-17, 1998.
- WONG GKT, Marsden PA. Nitric oxide synthases: regulation in disease. **Neprology Dial Transplant**, v.11, p.215-220, 1996.

## II - OBJETIVOS GERAIS

Essa pesquisa foi desenvolvida com a finalidade de estudar o efeito da suplementação de Arg na dieta de fêmeas reprodutoras de frangos de corte na qualidade dos ovos e nas características produtivas, na qualidade óssea, no desenvolvimento dos órgãos linfóides e do sistema imune da progênie suplementada ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

### *2.1 Objetivos Específicos*

Avaliar o efeito da nutrição das matrizes de corte com dietas contendo níveis crescentes de Arg no desempenho produtivo e na qualidade dos ovos.

Avaliar o efeito da nutrição das matrizes de corte com Arg no desempenho, no rendimento de carcaça e na qualidade óssea da progênie suplementada ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Avaliar o efeito da nutrição das matrizes de corte com Arg nas respostas imune e celular da progênie suplementada ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

### **III - Desempenho produtivo e reprodutivo de aves reprodutoras de corte suplementadas com níveis crescentes de arginina na ração.**

**Resumo** – Este estudo avaliou o efeito da suplementação de arginina (Arg) na dieta de matrizes de corte sobre o desempenho produtivo e reprodutivo e qualidade de ovos. Foram utilizados 416 reprodutores da linhagem “Ross”, sendo 360 fêmeas e 30 machos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Arg (0,943%; 1,093%; 1,243%; 1,393%; 1,543% de Arg digestível) e seis repetições, com 12 fêmeas e 1 macho por unidade experimental. Para determinação do desempenho produtivo e reprodutivo e da qualidade de ovos foram avaliadas a porcentagem de postura, de albúmen e de gema, o peso médio, a gravidade específica, a porcentagem e espessura de casca, o rendimento de incubação e o embriodiagnóstico. Os níveis de Arg digestível utilizados afetaram de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) o percentual de postura ( $P < 0,05$ ), em que a maior taxa de postura foi obtida com a suplementação de 1,262% de Arg digestível. Verificou-se aumento linear crescente ( $P < 0,05$ ) no peso dos ovos das matrizes, porém, à medida que os níveis de Arg digestível na dieta foram aumentando, houve queda linear ( $P < 0,05$ ) na gravidade específica dos ovos. Para o rendimento da incubação, verificou-se que os níveis de Arg digestível utilizados não afetaram ( $P > 0,05$ ) nenhuma das variáveis avaliadas. A suplementação das matrizes de corte com dietas contendo níveis crescentes de Arginina, proporcionou maior produção de ovos e um ovo com maior peso com o nível de 1,262% e 1,543% de Arg digestível respectivamente. Para a reprodução, os níveis crescentes de Arginina não influenciaram nenhuma das variáveis estudadas, podendo esta ser utilizada sem prejuízo.

**Palavras-chave:** embriodiagnóstico, incubação, qualidade de ovos.

### **III - Effect of arginine supplementation on productive performance and egg quality of broiler breeder hens**

**Abstract** - This study investigated the effect of arginine (Arg) supplementation on broiler breeder productive performance and egg quality. “Ross line” broiler breeders were used in a total number of 416 (360 females and 30 males). The complete randomized design used five levels of digestible Arg (0.943%; 1.093%; 1.243%; 1.393%; 1.543%) and was performed in 8 experimental replicate units, each with 12 females and 1 male. Laying, albumen and yolk percentage, egg weight, specific gravity, shell percentage and thickness, hatching performance and embryo diagnosis were evaluated to assess productive performance and egg quality. The digestible Arg levels of 1.262% provided the higher laying percentage and affected this parameter quadratically ( $P < 0.05$ ). Despite of that, with the increase of the Arg supplementation level, a linear increase in egg weights and a linear decrease in the specific gravity were observed. The levels of digestible Arg did not affect hatching performance. Supplementation of broiler diets with increasing levels of Arg provided an increase in the egg production and eggs with higher weights in the levels of 1.262% and 1543% respectively. The increased levels of Arg did not influence the reproduction variables studied, suggesting that it may be used without any harmful risk.

*Key words: embryo diagnosis, hatching, egg quality*

## Introdução

A nutrição e alimentação animal estão direcionadas para garantir ótimo aporte de nutrientes para os animais, de acordo com sua finalidade comercial e fase fisiológica. Na produção de frangos de corte, a taxa de crescimento acelerada imposta pela seleção genética os vários fatores estressantes (ambientais e de manejo) e de desafio imunológico (vacinação e infecção), nas condições de produção comercial, fazem com que as exigências das matrizes de corte para alguns nutrientes sejam maiores para que a progênie possa expressar seu potencial genético.

O desenvolvimento e a vitalidade do embrião dependem completamente dos nutrientes contidos no ovo e estes são originados da dieta e do metabolismo das matrizes. O ovo é um sistema fechado, assim, todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião devem ser fornecidos pela matriz, quando o ovo é formado (Oviedo-Róndon & Murakami, 1998).

Além disso, existe correlação positiva entre peso do ovo e peso do pinto ao nascer e deste, com o peso do frango ao abate (Lara et al., 2005). De fato, Whiting & Pesti (1984) verificaram que para cada grama a mais no peso do ovo correspondia a 10,7 e 6,0g adicionais para o peso final de machos e fêmeas, respectivamente.

Os aminoácidos, além de serem biomoléculas constituintes de proteínas e peptídeos em todos os organismos vivos, são precursores de muitos compostos nitrogenados que possuem importantes funções fisiológicas. No ovo, os aminoácidos presentes na gema são suficientes durante o processo de eclosão, porém, após o nascimento, as reservas do saco vitelino da ave são insuficientes para o processo de crescimento (Otha et al., 2004). Nos últimos anos, o impacto da nutrição das matrizes no estado nutricional e desempenho da progênie, bem como a melhora do estado imunológico, tem recebido especial atenção (Pappas et al., 2006).

A nutrição das matrizes com dietas com arginina seria uma alternativa para o enriquecimento da gema dos ovos com esse aminoácido. A Arg é um aminoácido básico, que pode influenciar a resposta imune e a resistência às doenças. A Arg ainda é conhecida pela função estimuladora sobre o processo de ovulação através do aumento da liberação de hormônio luteinizante (LH) (Basiouni et al., 2006) e como parte do hormônio arginina vasotocina, envolvido com a contração uterina e a oviposição.

Muitos desafios de agentes patogênicos e vacinais acontecem nos primeiros dias de vida, portanto, a exigência da matriz em nutrientes específicos com função imunomoduladora, assume importante papel na transferência de imunidade materna e na resposta imune dos pintos (Uni & Ferket, 2004).

A imunidade e a resistência às doenças da progênie são afetadas pela alteração dos níveis nutricionais da dieta das matrizes. De acordo com Kidd (2004), os trabalhos desenvolvidos em relação às exigências nutricionais das matrizes para melhorar o sistema imune da progênie são poucos, quando comparados a questão produtiva das aves.

Com isso, objetivou-se com o trabalho avaliar o efeito da suplementação de arginina, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de aves reprodutoras de corte.

### ***Material e métodos***

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina, constituído de 32 boxes com dimensões de 2,5 x 1,5 m, com cama de maravalha ( $\pm 10$  cm) sobre o piso. Foram utilizados boxes telados e providos de um bebedouro pendular e de dois comedouros, um deles com grade de restrição aos machos e outro instalado mais alto, não permitindo somente o acesso das fêmeas. Em cada boxe experimental, foram utilizados ninhos convencionais de um andar com quatro bocas, de madeira, com dimensões de 0,30 m x 0,30 m x 0,30 m, a 0,30 m acima do nível do piso, sendo uma boca para cada quatro fêmeas.

Foram utilizados 390 reprodutores de frangos de corte, sendo 360 fêmeas e 30 machos, da linhagem Ross. As aves foram selecionadas na 18ª semana de idade, a partir de um plantel de reprodutores, dentro da faixa de peso de 1.850 a 1.950 g para as fêmeas, e de 2.450 a 2.550 g para os machos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Arg (0,943; 1,093; 1,243; 1,393 e 1,543% de Arg digestível), seis repetições e 12 fêmeas e um macho por unidade

experimental. O acasalamento foi realizado na 18ª semana de idade das aves, na proporção de um macho para cada 12 fêmeas.

O período experimental iniciou na 25ª semana quando o plantel alcançou 5% de produção, e finalizou na 56ª semana de idade das aves. O programa de iluminação iniciou na 19ª semana de idade, com fornecimento inicial de 14 horas de luz diária, e aplicados aumentos semanais de 30 minutos de luz até o fornecimento de 17 horas de luz diária na 25ª semana de idade das aves.

O fornecimento de ração foi limitado e controlado diariamente, enquanto o de água foi *ad libitum*. As exigências nutricionais utilizadas para formulação das dietas das fêmeas e dos machos foram baseadas nas recomendações contidas no manual da linhagem.

A partir da 23ª semana de idade as fêmeas passaram a receber as dietas experimentais constituídas da dieta basal, suplementada com cinco níveis de L – Arginina variando de 0 a 600 mg/kg na dieta basal em substituição ao caulin, que corresponderam aos níveis de 0,943%; 1,093%; 1,243%; 1,393% e 1,543% de Arg digestível (Tabela 1). Os machos receberam uma única dieta durante todo o período experimental. O período experimental teve início na 25ª semana. Para determinação da produção de ovos, os mesmos foram coletados diariamente e a produção diária anotada em planilhas por repetição. Semanalmente, foi obtida a produção total de ovos e a porcentagem de postura de cada unidade experimental. Na 30ª, 34ª e 38ª semana de idade, foram coletados todos os ovos produzidos em um dia para avaliação da qualidade (peso médio, gravidade específica, porcentagem de albúmen e gema, porcentagem e espessura da casca).

A quantidade de ração oferecida para as fêmeas foi calculada de acordo com a produção de ovos e do peso corporal. Para os machos, forneceu-se ração em função do peso corporal (conforme manual da linhagem). O peso foi controlado semanalmente até a 35ª semana e, quinzenalmente, a partir da 36ª semana de idade das aves até o final do experimento.

A avaliação do rendimento de incubação foi realizada na 40ª semana de idade das aves. Foram incubados 80 ovos de cada tratamento, totalizando 400 ovos. Os ovos foram pesados e incubados em cada idade avaliada, de acordo com o tratamento e repetição, e avaliadas as seguintes características: peso médio do ovo incubado, peso médio dos pintos ao nascer, percentual do peso da progênie ao nascer em relação ao peso do ovo e taxa de eclosão. Após a eclosão, foi realizado o embriodiagnóstico dos

ovos que não eclodiram, os quais foram classificados em: mortalidade por fase (inicial, intermediária e final), ovos contaminados, bicados vivos e bicados mortos.

**Tabela 1** - Composição percentual e calculada da dieta experimental basal das matrizes de corte no período experimental

<i>Ingredientes (%)</i>	<b>Ração postura I</b>
Milho	60,72
Farelo de Trigo	4,20
Óleo de Soja	2,00
Farelo de Soja	22,60
Sal Comum	0,32
Caulim	0,50
Calcáreo 38%	6,47
Fosfato Bicálcico	1,31
Bicarbonato de Sódio	0,10
DL-Metionina 98%	0,14
Colina 60%	0,16
Milbond	0,10
Mycofix	0,15
Carbonato Potássio 99%	0,21
Premix vit. e mineral <sup>1</sup>	0,50
Hy D <sup>2</sup>	0,05
Eur. Bactiguard L	0,20
<b>Valores Calculados</b>	
Proteína, %	15,51
EM, Kcal/kg	2.815
Gordura, %	4,77
Ac.Linoleico, %	2,48
Cálcio, %	2,95
Fósforo disponível, %	0,44
Lisina dig., %	0,71
Met. + cistina dig., %	0,60
Treonina dig., %	0,51
Arginina dig., %	0,94
Sódio, %	0,19
Cloro, %	0,26
Potássio, %	0,80
Mongin, Meq/100g	213,88

<sup>1</sup> Conteúdo por kg de premix Vit. A, 8.000.000 UI; Vit. D3, 2.200.000 UI; Vit. E, 6200 mg; Vit. K 3, 2000 mg; Vit. B 1, 2000 mg; Vit. B2, 3000 mg; Vit. B6, 6000 mg; Vit. B12, 10.000 mcg; Pantotenato de cálcio, 6000 mg; Niacina, 25.000 mg; Ác. fólico, 400 mg; Se, 100 mg; Mn, 65.000 mg; Fe, 40.000 mg; Cu, 10.000 mg; Zn, 50.000 mg; I, 1000 mg Zn, 50.000 mg; I, 1000 mg

<sup>2</sup> Rovimix Hy D – DSM Nutritional Products

Para gravidade específica, foi utilizado o método da imersão dos ovos em solução salina. Foram preparadas seis soluções (água e sal comum) com densidades que variaram de 1,070 a 1,090, com variação de 0,004 para cada solução. As gravidades foram aferidas com utilização de densímetro de Petróleo.

O peso médio do albúmen de cada repetição foi obtido pela diferença entre o peso médio do ovo e o peso médio da gema somados ao peso médio da casca de cada repetição. Após a pesagem das cascas, a espessura das mesmas foi medida com auxílio de um micrômetro digital (Mitutoyo®) em quatro pontos na região central de cada casca. Para a medida de peso da casca, os ovos foram quebrados e as cascas lavadas e secas à temperatura ambiente por 48 horas, em seguida foram pesadas em balança analítica e os pesos anotados.

### *Análise Estatística*

Os dados obtidos de cada parâmetro, que apresentaram distribuição normal, foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG®.

Os dados foram analisados, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1A_i + b_2A_i + b_3A_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : observação da variável dependente na unidade experimental  $j$  submetida ao nível  $i$  de Arg,  $i$ : 1,2,3,4,5 (1= 0,943; 2= 1,093; 3= 1,243; 4= 1,393 e 5= 1,543%);

$b_0$ : constante;

$b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$ : são, respectivamente, coeficientes linear, quadrático e cúbico de regressão da variável dependente em função dos níveis de Arg;

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$

Os dados de embriodiagnóstico não apresentaram distribuição normal, e foram analisados pela análise Bayesiana assumindo que a porcentagem observada,  $r_i$ , a cada nível de concentração de Arg,  $x_i$ , segue distribuição Binomial com parâmetros  $n_i$  (tamanho de amostra) e  $p_i$  (taxa de eclosão),  $p_i = e^n / 1 + e^n$  com função de ligação logit,

$\logit(p_i) \equiv \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \mu$ , nas formas linear e quadrática dadas, respectivamente, por:

$n = \alpha + \beta_1 x_i$  e  $n = \alpha + \beta_1 x_i + \beta_2 x_i^2$ . Para a modelagem foram considerados um conhecimento vago *a priori* sobre os parâmetros de regressão, isto é, com distribuições não informativas  $\alpha \sim N(0; 10^3)$  e  $\beta_k \sim N(0; 10^3)$ ,  $k=1,2$ .

A obtenção das distribuições marginais *a posteriori* para os parâmetros foi por meio do pacote BRugs do programa R (R Development Core Team, 2007).

Para cada parâmetro, foram gerados 510.000 valores em um processo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), considerando um período de descarte amostral de 10.000

valores iniciais. A amostra final tomada com saltos de tamanho 20 contém 25.000 valores gerados. A convergência das cadeias foi verificada por meio do pacote *CODA* (Best et al., 1995) do programa *R*, pelos critérios de Geweke (1992) e de Heidelberger & Welch (1983).

### ***Resultados e Discussão***

Os resultados de produção e de qualidade dos ovos de matrizes de corte alimentadas com níveis crescentes de Arg estão apresentados na Tabela 2. Os níveis de Arg digestível utilizados nas dietas das matrizes de corte, influenciaram de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) a porcentagem de postura, em que o nível de 1,262% de Arg proporcionou a maior porcentagem de postura para as matrizes de corte (Figura 1).

Outros autores também encontraram resultados semelhantes em relação ao aumento da taxa de postura em função da suplementação de Arg. Segundo Najib & Basiouni (2004), a produção de ovos de matrizes elevou de 52% para 67,86% quando utilizaram níveis de Arg e Lys na dieta de 1,5 e 1,2%, respectivamente. Adicionalmente, Basiouni et al. (2006) observaram aumento no peso de folículos F1 em poedeiras que receberam dietas com 2,05% Arg comparado com dietas que continham 1,54% de Arg. Esse efeito sugere que o aumento na produção de ovos possa ser atribuído do efeito estimulatório específico da Arg na secreção de LH (Hormônio Luteinizante), o qual tem ação direta sobre o ovário e seus folículos (Basiouni, 2009).

O comportamento observado na curva de produção de ovos demonstra aumento da produção até o nível de 1,262% de Arg e posterior queda até o nível de 1,543%, o que provavelmente pode estar associado ao desequilíbrio aminoacídico das dietas nos níveis extremos de Arg na ração. Os altos níveis de Arg utilizados podem ter afetado a produção de ovos, principalmente pelo antagonismo existente entre Arg e Lisina (Lys).

Baixas relações Arg:Lys em dietas de matrizes reduzem o consumo de ração e deprimem a produção de ovos (Basiouni et al., 2006). Altos níveis de Lys associados a baixos níveis de Arg são deletérios às aves, pois, níveis elevados de Lys promovem expressiva elevação da atividade da arginase renal e conseqüentemente induz à degradação da Arg (Austic & Scott, 1975) causando sintomas de deficiência de Arg, em virtude das aves não possuírem o ciclo da ureia funcional (D' Mello, 2003). Esse antagonismo ainda leva à diminuição da atividade da glicina-amidino transferase no fígado, enzima que utiliza Arg e glicina como substratos juntamente com a metionina na síntese da creatina muscular (Jones et al., 1967; Andriquetto et al., 1999).

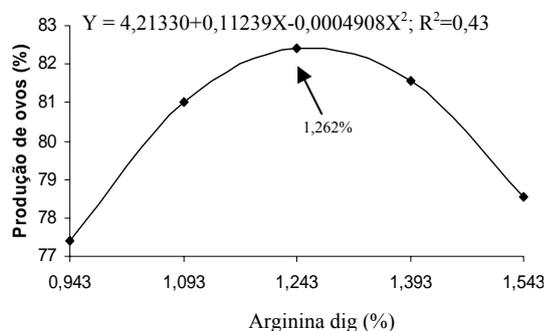
**Tabela 2** – Médias e erro padrão das variáveis de produção e qualidade de ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Arg (%)	Postura (%)	Peso Ovo (g)	Gema (%)	Clara (%)	Casca (%)	Casca (mm)	Gravidade Específica (g/ml)
0,943	77,41±4,60	60,46±0,48	29,98±0,35	59,55±0,45	8,76±0,15	0,577±0,004	1,082±0,001
1,093	81,01±5,44	60,81±0,52	29,72±0,42	59,74±0,40	9,02±0,14	0,584±0,005	1,082±0,001
1,243	82,40±3,70	60,86±0,51	29,71±0,43	60,35±0,31	8,75±0,11	0,569±0,004	1,081±0,001
1,393	81,58±3,68	61,33±0,57	29,86±0,41	59,84±0,43	8,80±0,09	0,571±0,003	1,080±0,001
1,543	78,55±6,00	61,67±0,46	29,64±0,30	60,15±0,38	8,76±0,10	0,573±0,004	1,081±0,001
CV(%)	6,64	1,83	1,95	1,16	3,51	1,98	0,133

#### Análise Variância

% Arg	Quadrático <sup>1</sup>	Linear <sup>2</sup>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	Linear <sup>3</sup>
R <sup>2</sup>	0,43	0,96	-----	-----	-----	-----	0,66

1.  $Y = 4,21330 + 0,11239X - 0,0004908X^2$ ; 2.  $Y = 58,5813 + 0,00196527X$ ; 3.  $Y = 1,08413 - 0,00000249943X$ ; *ns* – não significativo



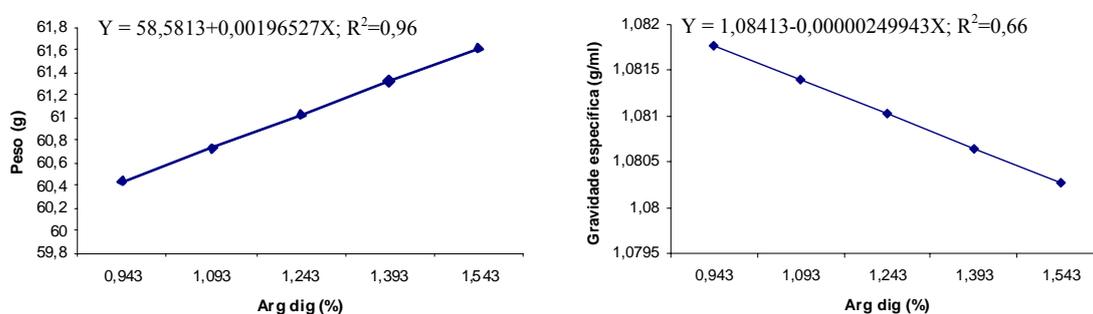
**Figura 1** - Porcentagem de postura de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg digestível

Ao avaliar o efeito da suplementação de Arg no peso dos ovos das matrizes de corte, verificou-se aumento linear ( $P < 0,05$ ) no peso dos ovos com o aumento de Arg digestível nas rações, por outro lado, houve queda linear ( $P < 0,05$ ) na gravidade específica dos ovos dessas matrizes (Figura 1).

Basiouni et al. (2006), encontraram efeito dos níveis de Arg e de Lys sobre na gravidade específica dos ovos. Estes autores observaram que baixos níveis de Arg e altos níveis de Lys proporcionaram a melhor gravidade específica dos ovos, e quando a

relação Arg:Lys era alta a gravidade específica piora significativamente. Por outro lado, Lima & Silva (2007) não verificaram efeito das diferentes relações Arg:Lys digestível nos parâmetros de qualidade de ovos.

O aumento do peso do ovo e a queda na gravidade específica desses ovos possuem relação direta. Isso ocorre porque segundo Basiouni et al. (2006) a síntese da quantidade de casca dos ovos nas galinhas é constante. Além disso, com o aumento da idade das galinhas, ocorre aumento no tamanho dos ovos. Do início até o final do ciclo de postura, o ovo chega a aumentar até 40% do seu tamanho e, por isso, haverá menos cálcio na superfície da casca, o que reduz a espessura da casca (Baião & Aguilar, 2001) e consequentemente a gravidade específica dos ovos.



**Figura 2** – Peso e gravidade específica dos ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Os resultados de rendimento da incubação dos ovos de matrizes de corte alimentadas com níveis crescentes de Arg digestível estão apresentados na Tabela 3. Os níveis de Arg digestível utilizados não afetaram ( $P > 0,05$ ) nenhuma das variáveis de incubação. Demonstra-se, portanto, que a Arg pode ser utilizada na dieta das matrizes sem trazer prejuízos à reprodução.

A fertilidade e a eclosão dos ovos das matrizes são dois parâmetros importantes na incubação dos ovos. Valores próximos de 96% para fertilidade e 88% para eclosão são indicativos de bom manejo de reprodutoras (Rosa & Ávila, 2000). Segundo Rosa & Ávila (2000), o rendimento da incubação está diretamente relacionado com a mortalidade embrionária, a qual sofre influência da gravidade específica e da capacidade do ovo em perder umidade. No presente trabalho, observou-se que a utilização de dietas suplementadas com Arg não afetou nenhuma dessas variáveis, apesar de ter interferido na gravidade específica dos ovos, conforme demonstrado em tabelas anteriores.

O peso do pinto, não foi influenciado pelos níveis de Arg na dieta das matrizes de corte, é considerado muito importante na cadeia de produção, por estar diretamente relacionado ao desempenho produtivo do frango. A variação de peso do pinto no momento da eclosão pode ser causada por fatores como linhagem, idade da matriz, peso e níveis de nutrientes do ovo (Vieira & Moran Jr., 1999). Okada (1994) e Castro (1996) ressaltam que pintos de corte com mais de 40g no primeiro dia de vida devem ser considerados de boa qualidade. Os pintos desse experimento podem ser considerados de boa qualidade, já que o menor peso dos pintos ao nascer foi de 43,9g. Embora neste estudo os níveis de Arg na dieta das matrizes não tenham afetado o peso dos pintos, esse aminoácido é essencial para o bom desenvolvimento da progênie. Kita et al. (2002) relatam que dietas com alta proteína suplementadas com aminoácidos essenciais (Arg, metionina+cistina), aumentam os níveis plasmáticos do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) e o ganho de peso em aves jovens.

**Tabela 3** - Valores médios reprodutivos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Níveis de Arginina (%)	Variáveis				
	Fertilidade (%)	Eclosão (%)	Peso ovo (g)	Peso Pinto (g)	Relação Peso Ovo/Peso Pinto
0,943	97,50±2,18	78,75±4,50	62,69±0,42	45,07±0,53	71,68±0,45
1,093	95,13±2,12	80,38±4,59	62,12±0,33	43,90±0,45	71,15±0,54
1,243	92,50±2,06	81,25±4,64	62,00±0,47	44,87±0,66	72,34±0,47
1,393	97,50±2,18	80,00±4,57	63,14±0,72	45,14±0,86	71,73±0,82
1,543	96,25±2,15	77,50±4,43	63,51±0,55	45,29±0,39	71,27±0,45
Média	95,78	79,58	62,69	44,86	71,63
CV (%)	6,56	16,41	2,31	3,74	2,22
<b>Análise de Variância</b>					
% Arginina	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
R <sup>2</sup>	-----	-----	-----	-----	-----

*ns* = não significativo.

O peso dos ovos é outra característica de grande importância relacionada com a idade da matriz, os quais são preponderantes para o desenvolvimento inicial das aves, e tem consequências em todo o crescimento (Pedroso et al., 2005). Essa influência é bem conhecida e o peso do pinto representa entre 66 e 71% do peso do ovo (Fiúza et al., 2006; Marinho et al., 2006; Pappas et al., 2006). Segundo North & Bell (1990), cada

grama a mais no peso do pinto representa 13 gramas no peso do frango ao abate, por isso a nutrição das matrizes é de grande importância, já que a Arg tem relação positiva com o hormônio de crescimento (GH), cuja síntese se inicia na fase embrionária da ave (Harvey et al., 2001).

**Tabela 4** - Estimativas Bayesianas para o embriodiagnóstico realizado nos ovos de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg, considerando os modelos linear e quadrático.

	Ligação	Ligação	Estimativas Bayesianas				DIC
			Médias	Desvio Padrão	P <sub>2,5%</sub>	P <sub>97,5%</sub>	
<b>Embriodiagnóstico</b>							
<b>Mortalidade Embrionária (1 a 5 dias)</b>	Linear	$\alpha$	-0,7512	2,078	-4,811	3,426	47,83
		$\beta$	-2,5980	1,798	-6,367	0,784	
	Quadrática	$\alpha$	-8,444	10,610	-30,15	11,790	48,13
		$\beta_1$	10,690	18,020	-24,06	47,550	
		$\beta_2$	-5,607	7,538	-21,04	8,874	
<b>Mortalidade (11 a 17 dias)</b>	Linear	$\alpha$	2,259	3,790	-4,602	10,570	31,37
		$\beta$	-6,267	3,615	-14,470	-	
	Quadrática	$\alpha$	5,057	12,960	-20,27	31,12	31,67
		$\beta_1$	-11,090	22,430	-50,93	32,53	
		$\beta_2$	1,958	9,632	-17,14	20,52	
<b>Mortalidade (18 a 21 dias)</b>	Linear	$\alpha$	-3,726	1,0390	-5,8110	-1,730	107,9
		$\beta$	1,274	0,7968	-0,2681	2,882	
	Quadrática	$\alpha$	-1,634	6,330	-14,020	10,690	109,5
		$\beta_1$	-2,195	10,280	-22,380	17,840	
		$\beta_2$	1,387	4,084	-6,539	9,441	
<b>Bicado Vivo</b>	Linear	$\alpha$	-19,27	25,62	-72,33	27,39	0,070
		$\beta$	-22,66	23,59	-73,21	19,93	
	Quadrática	$\alpha$	-14,51	27,49	-70,44	37,55	0,057
		$\beta_1$	-16,92	28,21	-73,13	36,82	
		$\beta_2$	-20,19	25,39	-72,90	25,65	
<b>Bicado Morto</b>	Linear	$\alpha$	-2,564	2,860	-8,103	2,823	34,17
		$\beta$	-1,628	2,418	-6,479	2,755	
	Quadrática	$\alpha$	3,692	11,930	-19,36	27,39	34,28
		$\beta_1$	-12,350	19,920	-52,06	26,09	
		$\beta_2$	4,412	8,139	-11,48	20,54	
<b>Morte por Contaminação</b>	Linear	$\alpha$	-5,13600	3,798	-13,000	2,041	25,22
		$\beta$	-0,04923	3,023	-6,154	5,809	
	Quadrática	$\alpha$	-0,09106	13,200	-27,04	24,80	25,55
		$\beta_1$	-7,1940	21,610	-49,65	34,73	
		$\beta_2$	2,8920	8,744	-14,28	20,16	

Na Tabela 4, são apresentadas as estimativas Bayesianas para as equações de regressão ajustadas para o embriodiagnóstico realizado nos ovos provenientes das matrizes de corte alimentadas com níveis crescentes de Arg. Não foi verificado efeito da dieta das matrizes sobre nenhuma das variáveis parâmetros avaliadas ( $P > 0,05$ ).

Contudo, no período final do desenvolvimento embrionário (18 a 21 dias) há maior mortalidade (Tabela 5). Nesse período, há mudança drástica do meio aquoso protegido para o meio aeróbio totalmente diferente. Nas aves, essa fase final de desenvolvimento inclui absorção de água, retração do saco vitelino, maturação funcional do pulmão, transição da respiração cório-alantoide para pulmonar, bicagem e nascimento. Ocorre, ao mesmo tempo, o desenvolvimento da resposta homeotérmica (Oviedo-Róndon & Murakami, 1998). Além disso, nesse período ocorre a mudança pronunciada em hormônios tireoideanos, corticosteroides, hormônios do eixo somatotrópico, prolactina, vasotocina e melatonina.

**Tabela 5** - Valores médios de embriodiagnóstico de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

	<i>Morte Embrionária (1 a 5 dias) %</i>	<i>Morte (11 a 17 dias) %</i>	<i>Morte (18 a 21 dias) %</i>	<i>Bicado Morto %</i>	<i>Morte por Contaminação %</i>
<i>Arg (%)</i>					
0,943	2,64	4,16	8,89	2,64	1,25
1,093	5,14	0,00	7,64	1,25	0,00
1,243	2,50	0,00	8,36	0,00	1,25
1,393	0,00	1,25	15,14	1,25	0,00
1,543	1,25	0,00	14,06	1,25	1,25
<i>CV (%)</i>	209,62	507,85	99,99	274,39	365,15

( $P > 0,05$ )

### **Conclusão**

A suplementação das dietas de matrizes de corte com níveis crescentes de Arginina, proporcionou uma maior produção de ovos e um ovo com maior peso com o nível de 1,262% e 1,543% de Arg digestível, respectivamente. Para a reprodução, os níveis crescentes de Arginina não influenciaram nenhuma das variáveis estudadas, podendo ser utilizado o menor nível de suplementação, ou seja, 0,943% de Arg digestível, sem prejuízos.

## Referências

- AGROSS, Manual de manejo de matrizes, 82 p., 2003.
- ANDRIGUETTO, J.M. ; PÉRLY, L. ; MINARDI, I. ; et al. Nutrição Animal, 6ª ed, Nobel, São Paulo, 395p. 1999.
- AUSTIC, R.E., SCOTT, R.L., Involvement of food intake in the lysine-arginine antagonism in chicks. **Journal of Nutrition**, v. 105, p. 1122-1131, 1975.
- BAIAO, N.C.; AGUILAR, C.A.L. Manejo nutricional de reprodutoras pesadas e o impacto na qualidade do ovo e do pinto de um dia. In: V Encontro Técnico em Ciências Aviárias, Uberlândia. **Anais...**Uberlandia: UFU, p. 7-24, 2001.
- BALL, R.O. ; URSCHER, K.L. ; PENCHARZ, P.B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. **Journal of Nutrition**, v.137 ; p. 1626S-1641S, 2007.
- BASIOUNI, G.F. ; NAJIB,H. ; ZAKI, M.M. et al. Influence of extra supplementation with arginine and lysine on overall performance, ovarian activities and humoral immune response in local saudi hens. **International Journal of Poultry Science**, v. 5 ; n.5 ; p. 441-448, 2006.
- BASIOUNI, G.F. The effect of feeding an extra amounts of arginine to Local Saudi Hens on luteinizing hormone secretion. **Journal of Biological Sciences**, v.9, p. 617-620, 2009.
- BEST, N.G. et al. **CODA: Convergence diagnostics and output analysis software for Gibbs sampler output**. Cambridge, 1995.
- BRAKE, J. Immune status - the role of vitamins. **Feed Mix**, v.5, p.21-24, 1997.
- CASTRO A.G.M. Qualidade de pintos de um dia e importância do manejo no desempenho de frangos de corte. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 2., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Goiana de Avicultura/UFG., p.67-70. 1996.
- DENG, K.; WONG, C.W.; NOLAN, J.V. Long-term effects of early life L-arginine supplementation on growth performance, lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. **British Poultry Science**, v.46, p. 318–324, 2005.
- D’MELLO, J.P.F. **Amino acids in animal nutrition**. Wallingford: Cab International, 513p. 2003.
- FIUZA, M.A. **Efeitos das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação**. 2004. 34f. Dissertação Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

- FIUZA, M.A., LARA, L.J.C., AGUILAR, C.A.L., et al. Efeitos das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.3, p. 408-413, 2006.
- FRANK, F.R.; BURGER, R.E. The effect of carbon dioxide inhalation and sodium bicarbonate ingestion on eggshell deposition. **Poultry Science**, v.44, n.6, p. 1604-1606, 1965.
- GEWEKE, J. Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments (with discussion). *In*: BERNARDO, J.M. et al. (Ed.). **Bayesian statistics 4**. p.169-193. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- HAVEY, S.; JOHNSON, C.D.M.; SANDERS, E.J. Growth hormone in neural tissue of the chick embryo. **Journal of Endocrinology**, v.169, n.3, p.487-496, 2001.
- HEIDELBERGER, P.; WELCH, P. **Simulation run length control in the presence of an initial transient**. Maryland, v. 31, p. 1109-1144, 1983.
- JONES, J.D., PETERSBURG, S.J., BURNETT, P.C. The mechanism of the lysinearginine antagonism in the chick: effect of lysine on digestion, kidney arginase, and liver transamidinase. **Journal of Nutrition**, v.93, p.103116, 1967.
- KIDD, M.T.; ANTHONY, N.B.; NEWBERRY, L. A.; et al. Effect of supplemental zinc in either a corn-soybean or a milo and corn-soybean meal diet on the performance of young broiler breeders and their progeny. **Poultry Science**, v.72, p. 1492-1499, 1993.
- KIDD, M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science** v. 83, p.650-657, 2004.
- KITA, K.; NAGAO, N.; TANEDA, Y.; et al. Insulin-like growth factor binding protein-2 gene expression can be regulated by diet manipulation in several tissues of Young chickens. **Journal Nutrition**, v. 132, p. 145-151, 2002.
- LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.V. et al. Influencia do peso inicial sobre o desempenho e o rendimento de carcaça e cortes de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p. 799-804, 2005.
- LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V. Efeito da relação lisina:arginina digestível sobre o desempenho de poedeiras comerciais no período de postura. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.4, p. 118-124, 2007.
- MARINHO, J.C., LARA, L.J.C., BAIÃO, N.C., et al. Efeitos da idade da matriz e do peso do ovo sobre as relações entre o peso do pinto e pesos do saco vitelino. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 22, 2006.
- NAJIB, H.; BASIOUNI, G.D. Determination of the nutritional requirements of the Local Saudi chickens. 1. Effect of Arginine inclusion, in excess of the leghorn requirement, on performance of the Local Saudi chickens. **Scientific**

- Journal of King Faisal University Basic and Applied Sciences**. v.5, p. 121-144, 2004.
- NAJIB, H., BASIOUNI, G. D., Determination of the nutritional requirements of the baladi chickens: effect of arginine inclusion (in excess of the leghorn requirement) on performance of the saudi baladi chickens. **Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)**. v. 5, p. 131-144, 2006.
- NORTH, M.O.; BELL,D.D. **Commercial chicken production**. 4.ed. New York: Chapman & Hall, p. 31-44, 1990.
- OKADA, T.M.A. Qualidade do pinto de um dia. In: PINHEIRO, M.R. (Ed.) **Manejo de frangos**. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. p.41-46.
- OTHA, Y.; TSUSHIMA, N.; KOIDE, K. et al. Comparison between broilers and layers for growth and protein use by embryos. **Poultry Science**, v.83, n.5, p.c783-787, 2004.
- OVIEDO-RONDÓN, E.O., MURAKAMI, A.E. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. **Acta Scientiarum**, v. 20, p. 373-382, 1998.
- PAPPAS, A.C., ACAMOVIC, T., SPARKS, N.H.C., SURAI, P.F., et al. Effects of supplementing broiler breeder diets with organoselenium compounds and polyunsaturated fatty acids on hatchability. **Poultry Science**, n. 85, p. 1584-1593, 2006.
- PEDROSO, A.A.; STRINGHINI, J.H.; LEANDRO, N.S.M.; et al. Desempenho e biometria de órgãos digestórios de frangos provenientes de matrizes jovens após diferentes intervalos de alojamento. **Revista Brasileira de Ciência Avícola, Campinas**, v.7, p.5, 2005.
- PEEBLES, E.D.; ZUMWALT, C.D.; SMITH,T.W., et al. Poultry fat and corn oil may be used to adjust energy in the diets of young breeder hens without affecting embryogenesis and subsequent broiler grow out performance. **Journa of Applied Poultry Research**, v.11, p.146-154, 2002.
- ROSA, P.S.; AVILA, V.S. Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos de matrizes de frangos de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, p. 1-3, 2000.
- SPIEGELHALTER, D.J.; BEST, N.G.; CARLIN, B.P et al.. BUGS – Bayesian measures of model complexity and fit. **Journal of the Royal Statistical Society, Series B**, v.64, p.583-639, 2002.
- UNI Z.; FERKET R.P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.101-111, 2004.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 5.0 Viçosa, MG: 1997. 150p. (Manual do usuário).

VIEIRA, S.L.; MORAN JR, E.T. Broiler yield using chicks from egg weight extremes and diverse strains. **Journal Applied Poultry Research**, v. 7, p. 339-346, 1998.

WHITING, T.S.; PESTI, G.M. Broiler performance and hatching egg weight to marketing weight relationships of progeny from standard and dwarf broiler dams. **Poultry Science**, v.63, p. 425-429, 1984.

#### **IV - Efeito da suplementação de arginina na dieta de matrizes de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros ósseos da progênie**

**Resumo** – O experimento foi conduzido para determinar o efeito da suplementação de Arginina (Arg) na dieta de matrizes de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros ósseos da progênie suplementada com Arg ou não. A progênie foi alojada de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco níveis de L-Arginina incluídos na dieta da matriz de 0 a 600 mg/kg de Arg digestível acima da exigência e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. No período inicial (1 a 21 dias de idade), a suplementação das matrizes com Arg afetou quadraticamente ( $P < 0,05$ ) a conversão alimentar da progênie não suplementada, com melhor conversão ao nível de 1,359% de Arg. A progênie suplementada teve o consumo de ração e a conversão alimentar afetados quadraticamente ( $P < 0,05$ ) pelos níveis de Arg da dieta. O nível de suplementação 1,690% promoveu o maior consumo de ração e os níveis de 1,300% e 1,649% proporcionaram a melhor e a pior conversão alimentar, respectivamente. O ganho de peso apresentou um aumento linear ( $P < 0,05$ ) de acordo com os níveis de suplementação de Arg. No período total de criação (1 a 42 dias de idade), o ganho de peso da progênie alimentada com dietas suplementadas com Arg aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ), enquanto a progênie não suplementada não foi afetada ( $P > 0,05$ ). Para progênie não suplementada, apenas a porcentagem de carcaça foi influenciada linearmente ( $P < 0,05$ ) pelos níveis suplementares de Arg recebidos pelas matrizes. Para progênie suplementada com Arg, a porcentagem, de carcaça e de peito, aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ). No entanto, a porcentagem, de coxa e sobrecoxa e asa, diminuiu linearmente ( $P < 0,05$ ). A gordura abdominal destes animais foi influenciada quadraticamente ( $P < 0,05$ ), com menor porcentagem de gordura abdominal ao nível de 1,672% . Os parâmetros ósseos da progênie não suplementada, apenas o diâmetro de tibia aos 7 dias de idade foi afetado quadraticamente ( $P < 0,05$ ) pela suplementação de Arg na dieta das matrizes a partir do nível 1,196%. Na progênie suplementada o comprimento do fêmur, diâmetro da tibia e índice de Seedor de ambos aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ). Estes resultados indicam que é necessário suplementar a dieta da progênie com Arg para se obter os melhores índices de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de ossos.

**Palavras-chave:** avaliação de carcaça, desempenho produtivo, osso.

#### **IV - Effect of arginine supplementation in broiler breeder hens diet on performance, carcass yield and bone parameters of the progeny**

**Abstract** – An experiment was carried out to determine the effects of arginine (Arg) supplementation in broiler breeder hen's diet on performance, carcass yield and bone parameters in progeny fed with or without the Arg supplemented diet. The progeny was housed according to the hen's treatments. A complete randomized design used five levels of digestible L-Arg from 0 to 600 mg/kg above of the required levels and was performed in six replicates totaling 30 experimental units. In the initial phase (from 1 to 21 days old) the feed: gain ratio in the non-supplemented progeny was affected quadractily ( $P<0.05$ ) and the 1.359% level was considered the best. The supplemented progeny showed the feed intake and feed: gain ratio quadractily affected ( $P<0.05$ ) by the Arg supplemented diet. The level of 1.690% provided the highest feed intake and the level of 1.300% and 1.649% provided the best and worst feed: gain ratio, respectively. The body weight gain presented a linear increase ( $P<0.05$ ) according to the Arg supplementation levels. During the entire study (from 1 to 42 days old), the body weight gain of the progeny fed with the Arg-supplemented diet showed a linear increase ( $P<0.05$ ), whereas the progeny fed with the non-supplemented diet was not affected ( $P>0.05$ ). Only the carcass percentage was linearly influenced ( $P<0.05$ ) by the Arg supplemented diet in the progeny without supplementation. The carcass and breast percentage linearly increased ( $P<0.05$ ) in the supplemented progeny. However, the leg and wing percentage linearly decreased ( $P>0.05$ ). The abdominal fat was quadractily influenced ( $P<0.05$ ) with the lowest abdominal fat percentage observed in the 1.672% level. The bone parameters in the non-supplemented progeny at 7 days old showed that just the tibia diameter was quadractily affected ( $P<0.05$ ) by the Arg supplemented diet in the 1.196% level. In the supplemented progeny the femur length, tibia diameter and Seedor index of both bones linearly increased ( $P<0.05$ ). These results indicate that it is necessary to feed the progeny with an Arg-supplemented diet to obtained better performance and bone quality.

**Key words:** bone, carcass evaluation, productive performance

## Introdução

As exigências nutricionais para a maioria dos nutrientes são estabelecidas com base nas respostas produtivas, mas, em alguns casos, a saúde é o critério principal. A nutrição de reprodutoras pesadas deve atender as exigências da ave, alcançando bom desempenho produtivo e, ainda, suprir as necessidades dos embriões e dos pintos neonatos, originados de seus ovos. O desenvolvimento e a vitalidade do embrião dependem completamente dos nutrientes contidos no ovo, os quais são originados da dieta e do metabolismo das galinhas (Baião & Lucio, 2005). Assim, a concentração de nutrientes disponíveis no ovo para o desenvolvimento do embrião é crítico e pode influenciar o potencial de ganho de peso da progênie e características importantes de desenvolvimento imunitário, ósseo e muscular.

O crescimento precoce, no período pós-eclosão, é influenciado por vários fatores, entre eles, o conteúdo de resíduos do saco vitelínico, a ingestão de alimento e de água, os níveis de enzimas pancreáticas e intestinais, a área de superfície intestinal e a digestibilidade global de nutrientes (Dibner, 1996). As reservas contidas no saco vitelino são as primeiras fontes de nutrientes utilizadas pelo pintainho ao nascer. Desse modo, quanto maior o tempo decorrido entre a eclosão e o início da ingestão de alimento e água, maior a dependência que o pintainho terá dessas reservas (Vieira & Pophal, 2000), a dieta materna é a origem dos nutrientes para o embrião (Vieira, 2007).

Baião & Lúcio (2005) afirmam que, para matrizes pesadas existe uma pausa nas pesquisas que visam determinar as exigências específicas de aminoácidos. Embora os aminoácidos presentes na gema possam ser suficientes durante o processo de eclosão, após o nascimento, as reservas do saco vitelino da ave são insuficientes para o desenvolvimento inicial (Otha et al., 2004).

Os aminoácidos sintéticos disponíveis no mercado proporcionam o atendimento das exigências nutricionais das aves, principalmente em relação aos aminoácidos

limitantes. Dentre esses aminoácidos, a arginina (Arg) é considerada o quinto aminoácido limitante para frangos de corte em dietas à base de milho e de farelo de soja, após metionina+cistina, lisina, treonina e valina (Corzo, 2007). Como as aves não apresentam o ciclo da ureia funcional, estas dependem exclusivamente da Arg sintética, principalmente no período inicial de criação (Allen & Baker, 1972). A suplementação da Arg é necessária para a formação da ornitina, a qual está envolvida na síntese da prolina, que é utilizada para a formação das poliaminas (espermidina, espermina e putrescina). Estas moléculas estão associadas diretamente ao crescimento e a diferenciação celular (Buttery & D'Mello, 1994).

A Arg, além de serem constituintes de proteínas, participa como coadjuvante na secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas (Bolea et al., 1997) e na secreção do hormônio de crescimento (GH) (Ghigo et al., 1994). Os efeitos do GH são mediados pelos fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF-I e II) (Le Roith et al., 2001). O IGF-I é conhecido por incitar numerosos efeitos anabólicos no metabolismo do músculo esquelético, como a proliferação e diferenciação das células satélite (Florini et al., 1996) e a agregação de proteína miofibrilar pela combinação dos efeitos sobre a síntese e a degradação proteica (Duclos et al., 1991; Coleman et al., 1995, Duclos et al., 2005). Outro efeito do GH ocorre em nível do disco epifisário, no qual estimula a síntese de IGF-I, que induz mitogênese, que resulta no crescimento dos ossos longos (Isaksson et al., 1987).

O enriquecimento dos ovos das matrizes com Arg, bem como sua suplementação logo após a eclosão, pode trazer inúmeros benefícios sobre o desenvolvimento da progênie, já que o GH, influenciado pela Arg, tem sua síntese iniciada na fase embrionária da ave (Harvey et al., 2001).

Diante do exposto, com este estudo objetivou-se testar a influência da suplementação com L-Arginina na dieta das matrizes de corte sobre a progênie, com dieta suplementada ou não suplementada com L-Arginina, sobre o desempenho, parâmetros ósseos e rendimento de carcaça dos frangos de corte.

## **Material e Métodos**

Foram realizados três experimentos, um utilizando dietas suplementadas com L-Arginina para as matrizes para obtenção da progênie e dois com a suplementação ou não da dieta da progênie.

Para obtenção da progênie, durante a 31<sup>a</sup> semana foram armazenados todos os ovos postos para a incubação. Foram obtidos cerca de 265 ovos por tratamento, totalizando 1325 ovos, os quais foram transportados até um incubatório comercial onde foram incubados. Após o nascimento, os pintinhos foram selecionados e transportados para a Fazenda Experimental de Iguatemi na Universidade Estadual de Maringá.

### ***Experimento 1 – Progênie sem suplementação de Arginina na dieta***

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

Foram utilizados 1050 pintos de um dia de idade, machos, da linhagem Ross<sup>®</sup>, com peso médio inicial de 41,22 g, provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes de L-Arginina. As aves foram alojadas em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, dividido em boxes de 6,3 m<sup>2</sup> com cobertura de telha de barro, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 0,30 cm de altura, completadas com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo palha de arroz sobre o piso.

Os pintos foram alojados de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes, no delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco níveis de L-Arginina incluídos na dieta materna, variando de 0 a 600 mg/kg em relação à dieta basal (0, 943%; 1,093%; 1,243%; 1,393% e 1,543% de Arg digestível) e seis repetições com 35 aves cada, totalizando 30 unidades experimentais.

Na fase inicial, foram utilizados comedouros e bebedouros infantis até o quinto dia de idade, sendo substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada box, foram utilizados um círculo de proteção e uma campânula como fonte de aquecimento para os pintos. Foi adotado o programa de luz contínuo durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. A ração e a água foram fornecidas “*ad libitum*” em todo o período experimental.

A mortalidade foi registrada e as sobras de ração dos boxes foram pesadas para ajustar o consumo de ração e da conversão alimentar.

O programa nutricional utilizado foi dividido em duas fases, uma inicial (1 a 21 dias de idade) e outra de crescimento e final (22 a 42 dias de idade) (Tabela 2). As dietas experimentais à base de milho e de farelo de soja foram formuladas de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as recomendações nutricionais

propostas por Rostagno et al. (2005). As aves controle receberam dieta, sem suplementação de arginina, para verificar apenas o efeito da suplementação da matriz sobre o desempenho da progênie.

**Tabela 2** - Composição percentual e calculada das rações experimentais basais da progênie não suplementada com dietas com níveis de Arg.

<b>Ingredientes</b>	<b>1 – 21 dias</b>	<b>22 – 42 dias</b>
Milho, grão	64,56	65,67
Farelo de soja, 45%	30,07	26,95
Fosfato bicálcico	1,85	1,49
Calcário	0,77	0,77
Bicarbonato de Sódio	0,41	0,00
Inerte (caulin)	0,70	0,70
Óleo de soja	0,19	3,20
Sal comum	0,30	0,30
DL-Metionina, 98%	0,35	0,28
L-Lisina HCl, 78%	0,45	0,37
L-Treonina 98%	0,17	0,12
L-Triptofano 98%	0,02	0,00
L-Arginina 99%	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05
Supl. Vitamínico <sup>2,3</sup>	0,10	0,10
<b>Total</b>	<b>100,0</b>	<b>100,00</b>
<b>Valores calculados</b>		
PB (%)	20,00	18,50
EMA (kcal/kg)	2947	3170
Met + Cis, dig (%)	0,890	0,790
Lisina, dig (%)	1,240	1,100
Triptofano, dig (%)	0,230	0,193
Treonina, dig (%)	0,810	0,710
Arginina, dig (%)	1,30	1,150
Cálcio (%)	0,870	0,770
Fósforo disponível(%)	0,450	0,380
Sódio (%)	0,270	0,157
Cloro (%)	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg, Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg, Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

<sup>3</sup> Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg, Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg, Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

### ***Experimento 3 – Progênie com suplementação de Arginina digestível na dieta:***

Foram utilizados 960 pintos de um dia de idade, machos, da linhagem Ross<sup>®</sup>, com peso médio inicial de 41,52 g, provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes de L- Arginina. Os pintos foram alojados de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes, utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco níveis de L-Arginina e seis repetições com 32 aves cada, totalizando 30 unidades experimentais.

Para obtenção dos níveis crescentes de arginina suplementar, foi adicionado L-Arginina de 0 a 600 mg/kg em relação à dieta basal inicial e de crescimento em substituição ao inerte. Os níveis dietéticos na fase inicial corresponderam a 1,300%; 1,450%; 1,600%; 1,750% e 1,900% de arginina digestível (Tabela 2). A partir dos 22 dias de idade, os níveis dietéticos corresponderam a 1,150%; 1,300%; 1,450%; 1,600% e 1,750% de arginina digestível (Tabela 3). O manejo realizado nesse experimento foi conduzido conforme descrito no experimento anterior.

### ***Desempenho***

Para ambos os experimentos com a progênie, foram avaliados o desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar). Para avaliação do desempenho as rações e as aves foram pesadas no início do experimento, aos 7, 21 e 42 dias de idade.

### ***Parâmetros ósseos***

Os parâmetros ósseos avaliados foram: comprimento, diâmetro, peso e calculado o Índice de Seedor. Para avaliação dos parâmetros ósseos em ambos os experimentos com a progênie, após o sacrifício por meio de atordoamento seguido de sangria, foram coletados os fêmures e as tíbias esquerdas de duas aves/repetição aos 7 e 21 dias de idade. As amostras ficaram congeladas (-18°C) até o início das análises dos parâmetros ósseos, que foram executadas conforme descrito a seguir.

Após o descongelamento dos ossos, foram retirados os tecidos envolventes (tecido muscular aderido) com auxílio de tesouras e pinças. Os ossos descongelados foram pesados em balança analítica ( $g \pm 0,0001$ ) e o comprimento e o diâmetro (na

porção média do osso) foram medidos usando paquímetro eletrônico digital (capacidade de 0 a 150 mm e resolução de 0,01 mm).

**Tabela 3** - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dieta contendo níveis de Arg (1-21 dias)

<i>Ingredientes</i>	<i>Níveis de Arginina Digestível (%)</i>				
	<b>1,300</b>	<b>1,450</b>	<b>1,600</b>	<b>1,750</b>	<b>1,900</b>
Milho, grão	64,56	64,56	64,56	64,56	64,56
Farelo de soja, 45%	30,07	30,07	30,07	30,07	30,07
Fosfato bicálcico	1,85	1,85	1,85	1,85	1,85
Calcário	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Bicarbonato de Sódio	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Óleo de soja	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL-Metionina, 98%	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L-Lisina HCl, 78%	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
L-Treonina 98%	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
L-Triptofano 98%	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-Arginina 99%	0,00	0,15	0,30	0,45	0,60
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. Vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Inerte (caulin)	0,70	0,55	0,40	0,25	0,10
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Valores calculados</b>					
PB (%)	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg)	2947	2947	2947	2947	2947
Met + Cis, dig (%)	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890
Lisina, dig (%)	1,240	1,240	1,240	1,240	1,240
Triptofano, dig (%)	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
Treonina, dig (%)	0,810	0,810	0,810	0,810	0,810
Arginina, dig (%)	1,300	1,450	1,600	1,750	1,900
Cálcio (%)	0,870	0,870	0,870	0,870	0,870
Fósforo disponível(%)	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Sódio (%)	0,270	0,270	0,270	0,270	0,270
Cloro (%)	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg; Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg; Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

A partir do peso do osso e do seu comprimento, foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1993) de acordo com a seguinte fórmula: Índice de Seedor = Peso do osso (mg)/comprimento do osso (mm).

Este índice é utilizado como indicativo da densidade óssea. Quanto maior o Índice de Seedor maior a densidade da peça óssea e vice-versa.

**Tabela 4** - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dieta contendo níveis de Arg (22-42 dias).

<i>Ingredientes</i>	<i>Níveis de Arginina Digestível (%)</i>				
	<b>1,150</b>	<b>1,300</b>	<b>1,450</b>	<b>1,600</b>	<b>1,750</b>
Milho, grão	65,67	65,67	65,67	65,67	65,67
Farelo de soja, 45%	26,95	26,95	26,95	26,95	26,95
Fosfato bicálcico	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
Calcário	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Óleo de soja	3,20	3,20	3,20	3,20	3,20
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DL-Metionina, 98%	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
L-Lisina HCl, 78%	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
L-Treonina 98%	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
L-Arginina 99%	0,00	0,15	0,30	0,45	0,60
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Inerte (caulin)	0,70	0,55	0,40	0,25	0,10
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b><i>Valores calculados</i></b>					
PB (%)	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50
EMA (kcal/kg)	3170	3170	3170	3170	3170
Met + Cis, dig (%)	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Lisina, dig (%)	1,100	1,100	1,100	1,100	1,100
Triptofano, dig (%)	0,193	0,193	0,193	0,193	0,193
Treonina, dig (%)	0,710	0,710	0,710	0,710	0,710
Arginina, dig (%)	0,150	1,300	1,450	1,600	1,750
Cálcio (%)	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770
Fósforo disponível(%)	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Sódio (%)	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157
Cloro (%)	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

### ***Rendimento de carcaça***

Para determinação do rendimento de carcaça foram utilizadas três aves por unidade experimental (15 aves/tratamento), identificadas com anilhas numeradas e submetidas ao jejum por seis horas, atordoadas com eletricidade (220W) e com posterior sangria no final de cada experimento realizado com a progênie.

Para cálculo do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa) e das asas, que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Para cálculo da gordura abdominal, foi considerada a gordura presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por Smith (1993). Em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

### ***Análise estatística***

#### ***Experimento 1:***

Os dados obtidos de cada parâmetro foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG<sup>®</sup>.

Os dados foram analisados, segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1A_i + b_2A_i + b_3A_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : observação da variável dependente na unidade experimental j submetida ao nível i de Arg adicionada na dieta materna, i: 1,2,3,4,5 (1= 0,943%; 2= 1,093%; 3= 1,243%; 4= 1,393% e 5= 1,543%);

$b_0$ : constante;

$b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$ : são, respectivamente, coeficientes linear, quadrático e cúbico de regressão da variável dependente em função dos níveis de Arg;

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$

Os coeficientes de determinação foram calculados como percentagem da soma de quadrados do modelo em relação à soma de quadrados total.

### **Experimento 2:**

Os dados obtidos de cada parâmetro, que apresentaram distribuição normal, foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG<sup>®</sup>.

Os dados foram analisados, segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1A_i + b_2A_i + b_3A_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : observação da variável dependente na unidade experimental j submetida ao nível i de Arg, i: 1,2,3,4,5 (1= 1,300; 2= 1,450; 3= 1,600; 4= 1,750 e 5= 1,900% no período de 1 a 21 dias de idade; 1= 1,150; 2= 1,300; 3= 1,450; 4= 1,600 e 5= 1,750% no período de 1 a 42 dias de idade);

$b_0$ : constante;

$b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$ : são, respectivamente, coeficientes linear, quadrático e cúbico de regressão da variável dependente em função dos níveis de Arg;

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$

Os coeficientes de determinação foram calculados como percentagem da soma de quadrados do modelo em relação à soma de quadrados total.

### **Resultados e discussão**

Os valores médios de desempenho de frangos de corte, provenientes de matrizes alimentadas com níveis crescentes de Arg, com dieta suplementada e não suplementada com Arg, estão demonstrados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

No período inicial (1 a 21 dias de idade), os frangos que receberam dietas suplementadas com Arg apresentaram efeito linear positivo ( $P < 0,05$ ) dos níveis crescentes de suplementação com Arg sobre o ganho de peso. O consumo de ração e a conversão alimentar foram influenciados de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) e o nível de 1,690% promoveu o maior consumo de ração e os níveis de 1,300% e 1,649% proporcionaram a melhor e a pior conversão alimentar, respectivamente (Figura 2). Esses níveis são superiores aos encontrados por Atencio et al. (2004) que apresentaram os níveis de 1,27% e 1,28% de Arg digestível, para ganho de peso e conversão alimentar, respectivamente. Mendes et al. (1997) e Brake et al. (1998) observaram melhor conversão alimentar à medida que a Arg foi adicionada às dietas dos frangos de corte.

**Tabela 5** – Médias e erro padrão da progênie não suplementada, provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

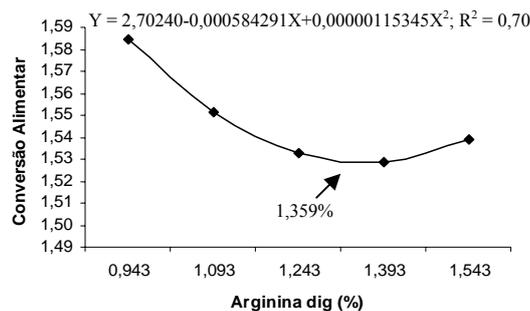
	Arg digestível na dieta materna, %					CV (%)	Efeito
	0,943	1,093	1,243	1,393	1,543		
Período de 1 a 21 dias							
Ganho de peso, g	687,49±6,51	698,13±15,53	694,98±8,76	713,93±20,71	711,48±10,09	4,66	<i>ns</i>
Consumo de ração, g	1089,37±9,73	1080,77±25,06	1069,38±11,43	1085,70±25,84	1096,17±14,24	4,20	<i>ns</i>
Conversão alimentar, g/g	1,585±0,015	1,548±0,006	1,539±0,014	1,523±0,023	1,541±0,004	2,24	Quadrático <sup>1</sup>
Período de 21 a 42 dias							
Ganho de peso, g	1824,10±17,86	1782,80±19,63	1832,09±23,55	1706,99±32,72	1777,43±34,93	3,66	<i>ns</i>
Consumo de ração, g	3391,69±25,97	3329,44±44,20	3344,32±44,60	3285,63±50,11	3355,12±43,51	3,11	<i>ns</i>
Conversão alimentar, g/g	1,859±0,017	1,868±0,017	1,825±0,008	1,926±0,027	1,889±0,014	2,30	<i>ns</i>
Período de 1 a 42 dias							
Ganho de peso, g	2511,60±21,18	2480,93±27,21	2527,08±23,27	2420,92±45,28	2488,91±36,14	3,14	<i>ns</i>
Consumo de ração, g	4481,06±33,33	4410,22±65,00	4413,70±51,78	4371,33±73,27	4451,29±46,55	3,09	<i>ns</i>
Conversão alimentar, g/g	1,784±0,013	1,777±0,011	1,746±0,005	1,807±0,021	1,789±0,008	1,77	<i>ns</i>

*ns* = não significativo ( $P > 0,05$ ); 1.  $Y = 1,5844 - 0,000270801X + 0,000000325260X^2$ ,  $R^2 = 0,70$

**Tabela 6** – Médias e erro padrão da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

	Arg digestível, %					CV (%)	Efeito
	1,300	1,450	1,600	1,750	1,900		
Período de 1 a 21 dias							
Ganho de peso, g	757,85±4,02	773,20±10,73	781,03±6,35	796,48±6,70	801,51±3,44	2,12	Linear <sup>1</sup>
Consumo de ração, g	892,99±11,40	921,24±22,46	1034,70±40,37	1047,82±5,62	966,77±16,65	5,57	Quadrático <sup>2</sup>
Conversão alimentar, g/g	1,179±0,007	1,192±0,031	1,326±0,055	1,316±0,012	1,207±0,026	6,13	Quadrático <sup>3</sup>
Período de 21 a 42 dias							
Ganho de peso, g	1772,61±28,17	1770,88±27,60	1806,66±22,20	1823,98±30,67	1774,84±21,09	3,59	<i>ns</i>
Consumo de ração, g	3588,40±50,51	3539,52±51,12	3560,84±27,23	3584,40±65,84	3543,62±26,70	3,22	<i>ns</i>
Conversão alimentar, g/g	2,025±0,013	1,999±0,017	1,972±0,016	1,965±0,006	1,997±0,013	1,65	Quadrático <sup>4</sup>
Período de 1 a 42 dias							
Ganho de peso, g	2530,47±27,82	2544,08±33,13	2587,69±24,43	2620,46±33,24	2576,35±20,41	2,69	Linear <sup>5</sup>
Consumo de ração, g	4481,39±51,04	4460,76±64,29	4595,54±48,64	4632,75±68,40	4510,39±36,51	2,97	<i>ns</i>
Conversão alimentar, g/g	1,771±0,009	1,754±0,015	1,777±0,022	1,768±0,005	1,751±0,012	1,92	<i>ns</i>

*ns* = não significativo ( $P > 0,05$ ); 1.  $Y = 759,898 + 0,0737276X$ ,  $R^2 = 0,81$ ; 2.  $Y = 872,315 + 0,790263X - 0,00101251X^2$ ,  $R^2 = 0,85$ ; 3.  $Y = 1,15219 + 0,000861079X - 0,00000123489X^2$ ,  $R^2 = 0,96$ ; 4.  $Y = 2,02897 - 0,000319117X + 0,000000432666X^2$ ,  $R^2 = 0,31$ ; 5.  $Y = 2538,18 + 0,112096X$ ,  $R^2 = 0,17$ .



**Figura 1** - Conversão alimentar (1 a 21 dias) da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

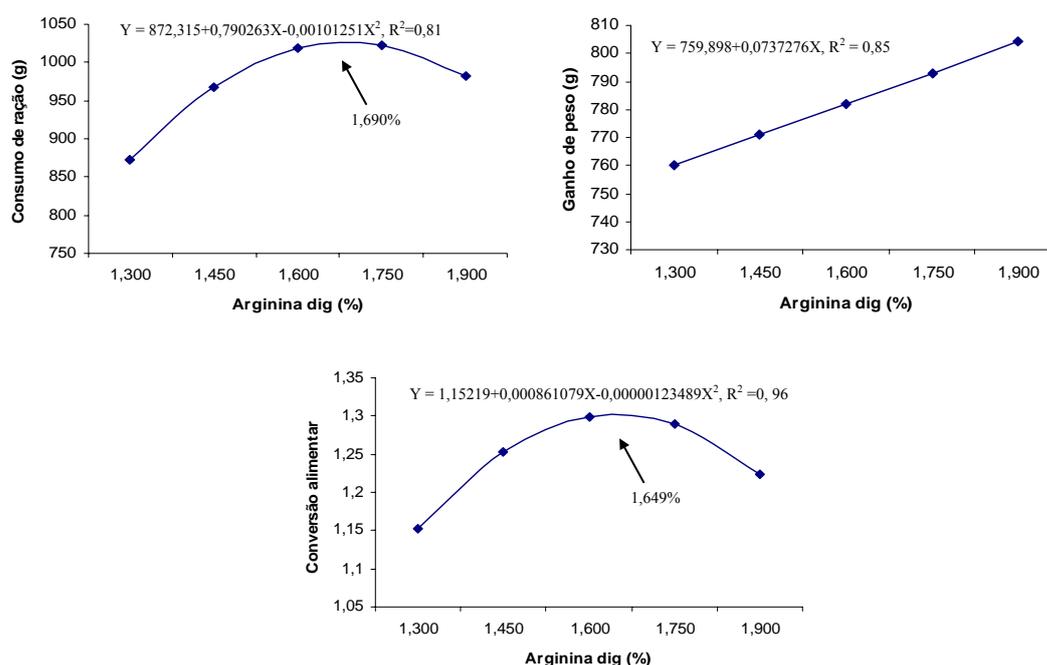
Na progênie não suplementada com dieta contendo Arg, verificou-se efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) da nutrição das matrizes na conversão alimentar (CA), (Figura 1), sendo que 1,359% de Arg dig. proporcionou o melhor índice. Já o consumo de ração e o ganho de peso não foram afetados ( $P > 0,05$ ) pela suplementação da matriz.

O efeito observado da suplementação com Arg das matrizes na CA de frangos de corte não suplementados com Arg ser atribuída ao aumento na concentração desse aminoácido na gema, a qual é responsável pela nutrição dos pintos durante o seu desenvolvimento embrionário e nas primeiras horas de vida pós-eclosão. Esse aumento pode ter efeito positivo no desenvolvimento muscular dos pintos, uma vez que esse aminoácido tem ação indireta na formação muscular através da síntese do hormônio de crescimento (GH) e do óxido nítrico (NO). Além disso, a Arg ainda está envolvida na síntese da creatina e de poliaminas. As poliaminas são consideradas de importância nutricional no crescimento e desenvolvimento do intestino do neonato (Quinn et al., 2002). Segundo Foye et al. (2005), o acesso do embrião a nutrientes pode melhorar o desenvolvimento do sistema digestório, a eclodibilidade e o desempenho dos frangos.

Quando o comportamento da curva do consumo de ração dos frangos de corte que receberam dietas suplementadas com Arg foi analisada, verifica-se que após o ponto de maior consumo de ração, ocorre uma queda na curva (Figura 2). Esse efeito pode ter sido ocasionado por um desequilíbrio dos aminoácidos na dieta, afetando principalmente a relação Lys:Arg. O antagonismo entre esses aminoácidos prejudica a absorção desses, uma vez que ambos competem pelo mesmo sítio de absorção.

Segundo Fernandes et al. (2009), o efeito negativo da suplementação de Arg pode estar associado à incapacidade funcional dos rins em eliminar o excesso de ureia formado pela degradação da Arg. Níveis elevados de Arg promovem aumento na

atividade da arginase renal produzindo ornitina e ureia (Stuz et al., 1971). Este aumento pode comprometer a síntese de NO, visto que a Arg é a única via fisiológica de produção deste composto. Adicionalmente a isso, a elevação da ureia plasmática, de acordo com Prabhakar et al. (1997), pode inibir a ação da óxido nítrico sintetase (NOS), enzima que cataliza a reação que converte Arg em NO. O NO além de neurotransmissor, também modula a liberação de outros neurotransmissores (Estrada & Murilo-Carretero, 2005), cujo envolvimento destas moléculas na regulação do apetite vem sendo discutido (Denbow, 1999).

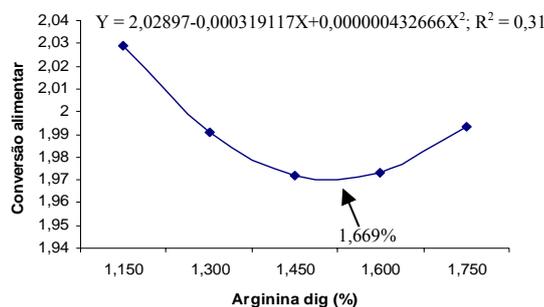


**Figura 2** - Consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

A suplementação das matrizes com dietas com Arg não afetou as variáveis de desempenho da progênie não suplementada com Arg no período de 21 a 42 dias de idade ( $P > 0,05$ ). Porém, quando a progênie recebeu dieta com Arg, verificou-se efeito quadrático para conversão alimentar ( $P < 0,05$ ) e o melhor resultado foi alcançado com 1,669% de Arg (Figura 3).

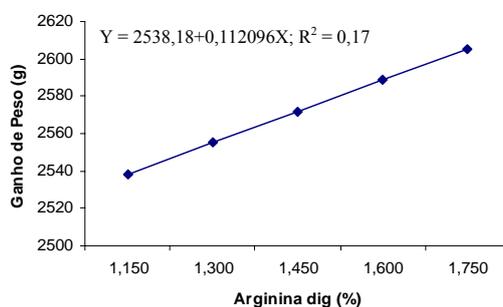
Sabe-se que a conversão alimentar indica a eficiência de utilização da dieta para o crescimento e deposição muscular. Assim, o crescimento consiste, em parte, do resultado da síntese proteica e a eficiência de utilização dependem da quantidade de aminoácidos que estão sendo catabolizados (Sklan & Noy, 2004). Este processo depende de energia para a biotransformação e a eliminação, com custo metabólico para

incorporar um aminoácido na cadeia proteica de 4 mol de ATP e de 6 mol de ATP/g de N para eliminá-lo (Mc Leoad, 1997).



**Figura 3** - Conversão alimentar de 21 a 42 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

A suplementação de Arg, durante todo o período de criação, é essencial para que a ave expresse todo o seu potencial genético, principalmente em relação ao ganho de peso. Para a progênie suplementada no período total de criação (1 a 42 dias de idade), observou-se efeito linear positivo ( $P > 0,05$ ) no ganho de peso, e para a progênie que não recebeu suplementação, não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) da suplementação das matrizes nas variáveis de desempenho (Figura 4).



**Figura 4** - Ganho de peso de 1 a 42 dias de idade da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.

De fato, segundo Fernandes et al. (2009), a suplementação de Arg acima das exigências nas rações iniciais (1 a 21 dias) dos frangos, melhora o desempenho produtivo das aves, entretanto esse efeito é transitório, não havendo diferença nestas características na idade de abate.

Na fase inicial de criação, a Arg é considerada um aminoácido essencial na dieta das aves, visto que o ciclo da ureia não é funcional nas aves. Assim, a incapacidade desses animais em sintetizar Arg, implica na necessidade do fornecimento desse aminoácido na dieta. Além disso, a Arg é considerada o quinto aminoácido limitante

para frangos em dietas à base de milho e de farelo de soja após metionina+cistina, lisina, treonina e valina (Corzo, 2007).

Segundo Ball et al. (2007), a exigência de Arg pelas aves é a mais alta entre as espécies de animais estudadas, isso porque, além da falta da síntese endógena, a taxa de deposição proteica, pelo rápido crescimento das atuais linhagens de corte, é muito alta.

Os valores médios de desempenho (Tabelas 5 e 6) apresentados durante o período experimental total (1 a 42 dias) são muito próximos. Assim, foi realizada a análise conjunta de ambos os experimentos para confirmar a necessidade ou não de suplementação da progênie com Arg na dieta. No período total de 1 a 42 dias (Tabela 7), a CA foi melhor na progênie que recebeu dieta suplementada, apesar do CR ter sido superior nessas aves, demonstrando assim que a progênie suplementada com Arg converte mais eficientemente a ração em massa muscular.

**Tabela 7** - Médias de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) dos experimentos realizados com a progênie suplementada ou não com dietas com níveis de Arg.

	GP	<u>1 a 21 dias</u> CR	CA
Progênie (não suplementada)	701,20±5,85	1084,28±7,89	1,547±0,007
Progênie (suplementada)	782,02±4,06	972,71±14,56	1,243±0,018
CV (%)	4,73	9,13	0,011
	GP	<u>22 a 42 dias</u> CR	CA
Progênie (não suplementada)	1784,68±13,80	3341,24±18,77	1,874±0,10
Progênie (suplementada)	1789,79±11,60	3563,46±19,81	1,992±0,007
CV (%)	11,82	19,99	0,007
	GP	<u>1 a 42 dias</u> CR	CA
Progênie (não suplementada)	2485,88±14,87	4425,52±24,19 <sup>b</sup>	1,781±0,006 <sup>b</sup>
Progênie (suplementada)	2571,81±13,15	4536,17±25,97 <sup>a</sup>	1,764±0,006 <sup>a</sup>
CV (%)	13,47	24,77	0,006

<sup>a,b</sup>Letras diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste de F.

Dentre os parâmetros de rendimento de carcaça da progênie não suplementada, apenas a porcentagem de carcaça foi influenciada linearmente ( $P < 0,05$ ) pelos níveis suplementares de Arg recebidos pelas matrizes (Figura 5).

**Tabela 8** – Médias e erro padrão de rendimento de carcaça da progênie suplementada, provenientes de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

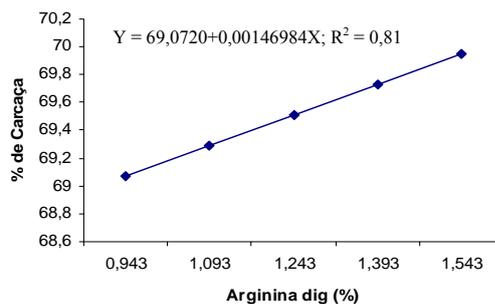
Parâmetros	Arg digestível na dieta materna, %					CV (%)	Efeito
	0,943	1,093	1,243	1,393	1,543		
% de Carcaça	69,44±0,25	68,63±0,44	69,87±0,33	69,53±0,28	70,09±0,29	1,15	Linear <sup>1</sup>
% de Peito	35,87±0,28	35,19±0,17	36,62±0,32	36,39±0,41	36,18±0,42	2,28	ns
% de Coxa	30,41±0,32	30,85±0,19	29,70±0,33	29,99±0,32	30,21±0,22	2,29	ns
% de Asa	11,42±0,16	11,29±0,14	11,18±0,06	11,04±0,20	11,10±0,14	3,29	ns
% de Dorso	22,79±0,20	23,52±0,26	22,67±0,14	22,87±0,30	22,62±0,30	2,66	ns
% de Gordura abdominal	2,95±0,15	3,25±0,14	2,92±0,16	3,67±0,19	2,90±0,11	12,20	ns

ns = não significativo (P>0,05); 1.  $Y = 69,0720 + 0,00146984X$ ,  $R^2 = 0,81$

**Tabela 9** – Médias e erros padrão de rendimento da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Parâmetros	Arg digestível, %					CV (%)	Efeito
	1,150	1,300	1,450	1,600	1,750		
% de Carcaça	69,93±0,29	70,22±0,28	71,38±0,33	71,28±0,20	71,60±0,31	0,99	Linear <sup>1</sup>
% de Peito	35,79±0,30	35,84±0,77	36,90±0,21	36,51±0,28	36,98±0,19	2,77	Linear <sup>2</sup>
% de Coxa	31,26±0,30	31,08±0,66	30,27±0,25	30,26±0,23	30,45±0,20	2,95	Linear <sup>3</sup>
% de Asa	11,37±0,22	11,23±0,15	11,05±0,17	10,95±0,15	10,96±0,21	3,98	Linear <sup>4</sup>
% de Dorso	22,72±0,33	22,86±0,57	22,63±0,28	22,73±0,28	22,60±0,48	4,36	ns
% de Gordura abdominal	3,14±0,13	3,11±0,13	2,38±0,07	2,79±0,14	2,85±0,07	9,64	Quadrático <sup>5</sup>

1.  $Y = 70,0017 + 0,00293620X$ ,  $R^2 = 0,45$ ; 2.  $Y = 35,7918 + 0,00203737X$ ,  $R^2 = 0,27$ ; 3.  $Y = 31,1542 - 0,00163610X$ ,  $R^2 = 0,21$ ; 4.  $Y = 11,3323 - 0,00072978X$ ,  $R^2 = 0,85$ ; 5.  $Y = 3,22863 - 0,00316200X + 0,00000424975X^2$ ,  $R^2 = 0,30$ .; ns = não significativo



**Figura 5** - Porcentagem de carcaça da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Al-Murrani (1982) demonstrou que injetando uma mistura de aminoácidos nos embriões em crescimento nos ovos de matrizes de corte, resultam em aumento no peso do pinto e no ganho de peso dos frangos de corte aos 56 dias de idade, quando estes foram comparados com os não tratados. De fato, o peso do embrião e dos pintos é influenciado pelo perfil nutricional da gema por sua utilização pelo pintos após o nascimento (Otha et al. 1999).

Quando os frangos receberam dietas suplementadas com Arg, houve aumento linear positivo ( $P < 0,05$ ) da porcentagem de carcaça e de peito, porém as porcentagens de pernas e de asa apresentaram queda linear ( $P < 0,05$ ) (Figura 6). Esses efeitos provavelmente ocorreram pela ação indireta da Arg pela formação muscular através da síntese do hormônio do crescimento (GH) e do óxido nítrico (NO).

A Arg é constituinte de proteínas e está envolvida na secreção de insulina pelo pâncreas (Bolea et al., 1997) e do GH pela hipófise (Merimee et al., 1969). Os efeitos desses hormônios se manifestam por meio da secreção secundária dos fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF-I e II) (Roith et al., 2001). O IGF-I é conhecido por incitar numerosos efeitos anabólicos no metabolismo do músculo esquelético, como a proliferação e a diferenciação das células satélites (Florini et al., 1996) e a agregação de proteína miofibrilar, pela combinação dos efeitos na síntese e na degradação proteica (Duclos et al., 2005).

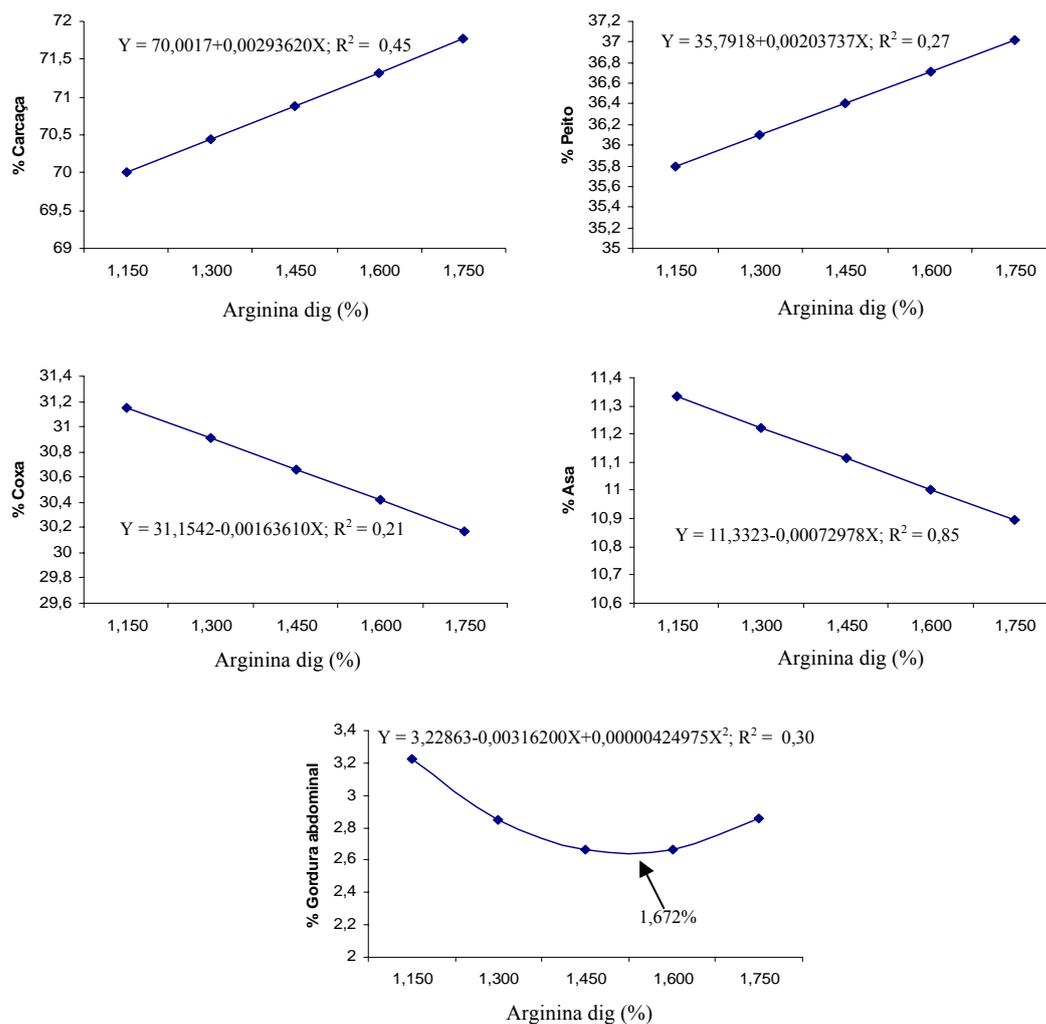
Outro mecanismo de ação da Arg, nas fibras musculares, está relacionada com a ação do óxido nítrico. O NO é sintetizado pela óxido nítrico sintetase (NOS), a qual é expressada pelas fibras do músculo esquelético (Reid, 2001). A atividade da NOS variam nos diferentes tipos de músculos, sendo que nos músculos de contração rápida, verifica-se maior ação desta do que nos músculos de contração lenta (Reid, 2001).

Assim, o efeito observado nos diferentes cortes, provavelmente ocorreu em virtude da predominância de fibras brancas ou *Fast Glycolytic (FG)* no peito. Em contrapartida, os músculos da coxa, sobrecoxa e da asa possuem predominância de fibras vermelhas ou *Slow Oxidative (SO)* que são de contração lenta (Sartori & Gonzáles, 2002) e pouco afetada pela ação da NOS.

O teor de gordura abdominal presente na carcaça de frangos é um dos melhores indicativos de qualidade da carcaça. Quando os frangos foram suplementados com níveis de Arg, verificou-se efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) para essa característica, em que o menor teor de gordura abdominal foi obtido com 1,672% de Arg dig. (Figura 6). A queda observada até esse nível pode ser explicada pela ação do GH via IGF-I que induz a síntese de proteínas por estimular a captação de aminoácidos e a transcrição e a tradução do mRNA em vários tecidos-alvo. Diminui o catabolismo de proteínas, por atuar diretamente na liberação de ácidos graxos do tecido adiposo, aumentando a sua conversão em acetil-CoA, fonte de energia para os tecidos periféricos. A partir desse ponto, onde verifica-se o menor acúmulo de gordura, ocorre novamente o aumento na deposição de gordura abdominal. Isso provavelmente se deve ao excesso de aminoácido na dieta. A degradação desse excesso leva a excreção de nitrogênio na urina, na forma de amônia, e a produção de moléculas com esqueleto carbônico, que são usadas na gliconeogênese e na lipogênese.

Segundo Shutte & Pack (1995) e Leclerq (1998), a suplementação e o balanceamento dos aminoácidos das dietas podem promover aumento no ganho de carcaça, principalmente em relação ao peito (Pophal et al. 2004) e redução de gordura abdominal (Vieira et al. 2004).

Mendes et al. (1997) verificaram que o aumento da relação Arg:Lys melhorou o rendimento de carcaça e reduziu a gordura abdominal em frangos de corte. Costa et al. (2001) observaram que à medida em que se aumentou a relação Arg:Lys, houve efeito linear crescente para o rendimento de perna e decrescente para a gordura abdominal. Já Fernandes et al. (2009) não observaram efeito da suplementação de Arg nas variáveis de rendimento de carcaça analisadas, o que provavelmente ocorreu porque, diferentemente do presente trabalho, a suplementação de Arg foi realizada apenas na fase inicial de criação (1 a 21 dias de idade).



**Figura 6** - Parâmetros de rendimento de carcaça da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Outra possibilidade é que essas características de rendimento de carcaça foram influenciadas pelos níveis dietéticos de Arg que estão acima da exigência das aves. Resultado contrário foi obtido por Atencio et al. (2004), que trabalhando com níveis crescentes de Arg, não verificaram efeito no rendimento de carcaça e de cortes avaliados e estes concluíram que os níveis estudados estavam dentro da exigência das aves.

Na análise conjunta do rendimento de carcaça dos experimentos da progênie, que recebeu dieta suplementada ou não com Arg (Tabela 10), demonstrou-se que a presença de Arg na dieta promove maior deposição muscular na coxa e menor acúmulo de gordura abdominal na carcaça.

**Tabela 10** – Médias de percentagem de carcaça (CARC), percentagem de peito (PEITO), percentagem de coxa (COXA), percentagem de asa (ASA), percentagem de gordura abdominal (GORDURA) das progênie suplementadas ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

	CARC	PEITO	COXA	ASA	GORDURA
Progênie (s/suplementação)	69,51±0,16	36,05±0,17	30,23±0,14 <sup>b</sup>	11,21±0,07	3,07±0,07 <sup>a</sup>
Progênie (suplementada)	70,88±0,17	36,40±0,20	30,66±0,17 <sup>a</sup>	11,11±0,08	2,85±0,07 <sup>b</sup>
CV (%)	0,14	0,17	0,15	0,07	0,06

<sup>a,b</sup>Letras diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste de F.

Com relação aos parâmetros ósseos dos frangos de corte que receberam dietas sem suplementação de Arg (Tabela 11), apenas o diâmetro de tíbia, aos sete dias de idade, foi afetado de forma quadrática ( $P < 0,05$ ), pela suplementação das matrizes a partir do nível 1,196% de Arg (Figura 7), demonstrando assim que inclusões de Arg acima da exigência promove a melhora dessa característica. Segundo Wu & Morris (1998), a suplementação de Arg, em níveis elevados, promove aumento na atividade da arginase renal, eleva os níveis de ornitina, que participa da biossíntese das poliaminas envolvidas no processo de multiplicação celular melhorando desta forma o suporte ósseo. Alba-Roth et al. (1988) estudando o papel da arginina sobre a secreção do hormônio do crescimento, em indivíduos normais, verificaram aumento na concentração plasmática de GH quando esse aminoácido foi administrado. Uma vez secretado pela hipófise anterior para a circulação, o GH age diretamente no seu próprio receptor e, indiretamente, via IGF-I e II, nos tecidos periféricos. Um dos efeitos mais conhecidos do GH ocorre no disco epifisário, em que atua estimulando a síntese de IGF-I, o qual atua paracrinamente, induzindo mitogênese, o que resulta no crescimento dos ossos longos (Isaksson et al., 1987).

Para os parâmetros morfológicos dos ossos dos frangos que receberam dietas contendo suplementação de Arg, verifica-se efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) dos níveis de arginina para o comprimento e diâmetro do fêmur e da tíbia. O mesmo comportamento foi observado para o índice de Seedor, medida indireta da densidade óssea, para ambos os ossos, aos 7 dias de idade (Figura 8).

**Tabela 11** – Parâmetros morfológicos do fêmur e da tíbia da progênie não suplementada provenientes de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

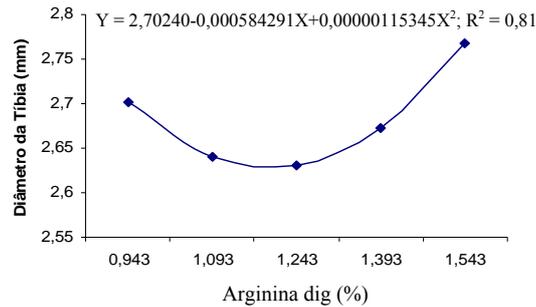
Arg na dieta materna (%)	Fêmur			Tíbia		
	Comprimento, mm	Diâmetro, mm	Índice de Seedor	Comprimento, mm	Diâmetro, mm	Índice de Seedor
	7 dias					
0,943	29,30±0,34	2,86±0,08	28,03±0,27	41,54±0,47	2,71±0,05	29,25±0,78
1,093	29,29±0,42	2,93±0,08	29,90±1,23	41,62±0,62	2,65±0,05	29,45±0,96
1,243	29,11±0,31	2,83±0,08	26,03±0,78	41,75±0,42	2,58±0,04	27,33±0,63
1,393	29,12±0,46	2,95±0,08	29,20±0,86	41,72±0,62	2,73±0,03	30,08±1,17
1,543	29,83±0,31	2,93±0,09	28,77±0,68	42,69±0,39	2,75±0,02	28,97±0,38
CV %	3,13	6,90	7,12	3,06	3,77	7,01
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>Ns</i>	Quadrático <sup>1</sup>	<i>ns</i>
R <sup>2</sup>	-----	-----	-----	-----	0,81	-----
	21 dias					
0,943	50,01±0,56	5,94±0,19	101,98±2,94	71,28±1,41	5,26±0,12	96,21±2,02
1,093	50,64±0,36	6,32±0,15	109,28±1,75	71,97±0,86	5,76±0,08	107,20±1,82
1,243	49,37±0,65	5,74±0,13	99,56±3,96	69,11±0,94	5,14±0,23	98,99±3,57
1,393	50,02±0,62	5,69±0,11	98,22±3,46	69,12±1,23	5,12±0,09	95,37±3,41
1,543	50,35±0,26	6,13±0,20	112,88±3,37	70,05±1,35	5,35±0,11	109,28±3,39
CV %	2,52	6,57	7,47	4,11	6,35	7,11
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>Ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
R <sup>2</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----

*ns* = não significativo (P>0,05); 1.  $Y = 2,70240 - 0,000584291X + 0,00000115345X^2$ ,  $R^2 = 0,81$

**Tabela 12** – Parâmetros morfológicos do fêmur e da tíbia da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

	Parâmetros ósseos					
	Fêmur			Tíbia		
	Comprimento, mm	Diâmetro, mm	Índice de Seedor	Comprimento, mm	Diâmetro, mm	Índice de Seedor
Arginina (%)	7 dias					
1,300	30,07±0,42	3,09±0,11	31,94±1,02	42,60±0,41	2,85±0,12	31,64±1,22
1,450	30,22±0,36	3,13±0,07	33,33±0,98	43,11±0,55	2,93±0,08	32,02±0,87
1,600	30,74±0,23	3,21±0,07	34,35±1,02	43,52±0,24	2,92±0,04	34,05±1,01
1,750	30,98±0,11	3,22±0,07	33,48±0,89	43,24±0,44	2,93±0,03	33,15±1,14
1,900	30,58±0,15	3,22±0,12	35,40±1,40	43,50±0,19	3,05±0,05	35,03±1,08
CV %	2,25	7,12	7,81	2,20	6,08	7,89
Regressão	Linear <sup>1</sup>	<i>ns</i>	Linear <sup>2</sup>	<i>Ns</i>	Linear <sup>3</sup>	Linear <sup>4</sup>
R <sup>2</sup>	0,23	-----	0,20	-----	0,30	0,45
	21 dias					
1,300	1,300	1,450	1,600	1,750	5,53±0,16	99,74±4,08
1,450	50,32±0,31	5,95±0,15	99,73±3,43	71,22±0,58	5,33±0,19	96,75±3,13
1,600	50,62±0,68	6,14±0,09	106,23±3,06	71,02±0,41	5,66±0,15	104,53±2,86
1,750	51,34±0,43	5,97±0,13	100,24±2,26	73,41±1,80	5,48±0,07	95,77±1,68
1,900	51,11±0,44	6,15±0,13	109,42±1,85	71,45±0,64	5,62±0,08	107,51±3,33
CV %	2,31	5,67	7,32	3,33	6,19	7,57
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>	Linear <sup>5</sup>	<i>Ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
R <sup>2</sup>	-----	-----	0,30	-----	----	-----

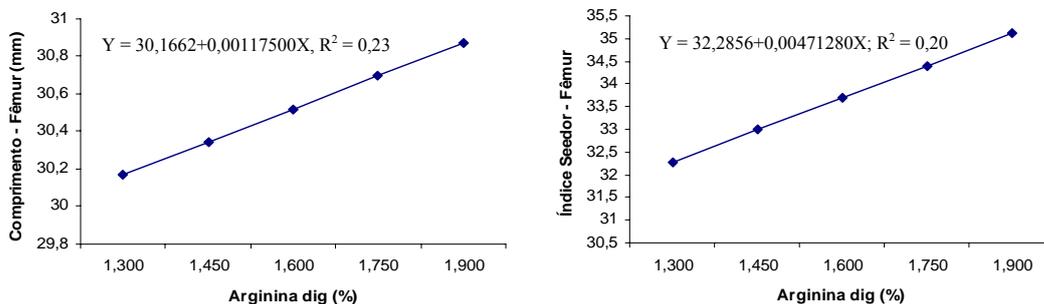
NS = não significativo; 1.  $Y = 30,1662 + 0,00117500X$ ; 2.  $Y = 32,2856 + 0,00471280X$ ; 3.  $Y = 2,85333 + 0,000799183X$ ; 4.  $Y = 31,5921 + 0,00526700X$ ; 5.  $Y = 98,3310 + 0,0149518X$

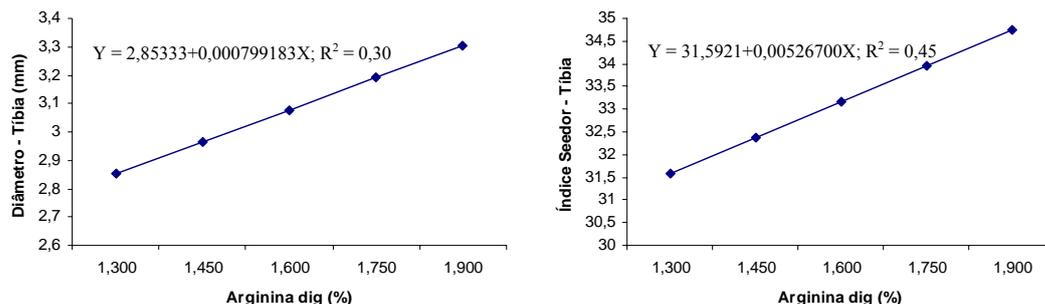


**Figura 7** - Diâmetro de tíbia da progênie não suplementada provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Os resultados encontrados para essa idade estão de acordo com os encontrados por Fernandes (2007), que encontrou efeito linear crescente para o índice de Seedor quando as aves foram alimentadas com Arg na dieta. Aos 21 dias de idade, apenas o índice de Seedor foi afetado de forma linear ( $P < 0,05$ ) crescente, com o aumento dos níveis de Arg (Figura 9). O comportamento positivo da suplementação de arginina sobre a morfologia do fêmur e da tíbia pressupõe melhor densidade desses ossos. Segundo Sekine et al. (1994), os aminoácidos no o crescimento transversal do osso e essa ação facilita a formação da matriz e a calcificação óssea.

Além da ação da Arg sobre os ossos indiretamente via IGF-I, esta também é conhecida como precursor do óxido nítrico, mecanismo pelo qual ela poderia exercer os seus efeitos biológicos no crescimento ósseo. Hukkanem et al. (1999) sugerem que o NO pode participar da regulação do *turnover* de condrócitos da placa de crescimento.





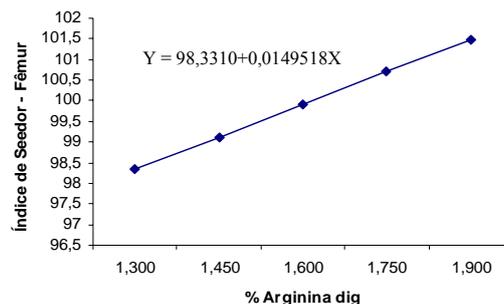
**Figura 8** - Comprimento, diâmetro e índice de Seedor de fêmur e tibia da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg, aos 7 dias de idade.

Os parâmetros ósseos da progênie suplementada ou não com Arg avaliados em conjunto mostraram que a suplementação dietética de Arg, melhorou o comprimento do fêmur e a espessura da tibia. Este resultado pode contribuir para melhorar a qualidade dos ossos dos frangos, uma vez que esse é um dos maiores problemas enfrentados na atualidade na avicultura comercial.

**Tabela 13** – Médias de comprimento do fêmur (FC), espessura do fêmur (FE), índice de seedor do fêmur (FSEE), comprimento da tibia (TC), espessura da tibia (TE), índice de seedor da tibia (TSEE) dos experimentos realizados com progênie suplementada ou não com dietas com níveis crescentes de Arg aos 7 e 21 dias de idade.

	FC (mm)	FE (mm)	FSEE	TC (mm)	TE (mm)	TSEE
7 dias						
Progênie (s/suplementação)	29,33±0,1 6	2,90±0,03	28,38±0,4 2	41,86±0,23	2,68±0,02	29,02±0,3 8
Progênie (suplementada)	30,52±0,1 3	3,17±0,04	33,69±0,4 9	43,19±0,17	2,93±0,03	33,17±0,5 0
CV (%)	0,14	0,04	0,42	0,21	0,026	0,43
21 dias						
Progênie (s/suplementação)	50,08±0,2 3 <sup>b</sup>	5,96±0,08	104,38±1,70	70,31±0,53	5,33±0,07 <sup>b</sup>	101,41±1,62
Progênie (suplementada)	50,79±0,2 1 <sup>a</sup>	6,07±0,06	102,82±1,50	71,57±0,44	5,52±0,06 <sup>a</sup>	100,86±1,54
CV (%)	0,16	0,07	1,40	0,48	0,06	1,36

<sup>a,b</sup>Letras diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste de F.



**Figura 9** - Índice de Seedor do fêmur da progênie suplementada com dietas contendo níveis crescentes de Arg, aos 21 dias de idade.

### **Conclusão**

De acordo com os resultados observados conclui-se que, os níveis dietéticos de Arg, na dieta das matrizes de corte, foram suficientes para melhorar o desempenho da progênie, somente na fase inicial de crescimento (1-21 dias de idade). Quando a dieta da progênie também foi suplementada com Arg, os parâmetros de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade óssea são melhorados em ambas as fases de criação (1-21 dias e 22 a 42 dias de idade), com melhorias imprescindíveis para a qualidade de carne, como a redução da gordura abdominal.

### **Referências**

- ALBA-ROTH, J.; MÜLLER, O.A; SCHOPOHHL, J; et al. Arginine stimulates growth hormone secretion by suppressing endogenous somatostatin secretion. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.67, p.1186-1189, 1988.
- ALMEIDA-PAZ I.C.L, BRUNO L.D.G. Bone mineral density: review. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.8,n.2, p.69-73, 2006.
- ALLEN, N.K., BAKER, D.H. Effects of excess lysine on the utilization and requirement for arginine by the chick. **Poultry Science**. v.51, p.902-906, 1972.
- AL-MURRANI, W.K. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v. 23, p. 171-174, 1982.
- AMIN A.R., ABRAMSON S.B. The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis. **Current Opinion in Rheumatology**, v.10, p.:263-268, 1998.

- ATENCIO A.; ALBINO L.F.T.; ROSTAGNO H.S.; et al. Exigência de arginina digestível para frangos de corte machos em diferentes fases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.6, p. 1456-1466, 2004.
- BALL, R.O. ; URSCHEL, K.L. ; PENCHARZ, P.B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. **Journal of Nutritional**, v.137 ; p. 1626S-1641S, 2007.
- BAYLINK, D.J, FINKELMAN R.D, MOHAN S. Growth factors to stimulate bone formation. **Journal Bone Mineral Research**, v.8, p.565-572, 1993.
- BRAKE J, BALNAVE D, DIBNER J.J, Optimum dietary arginine:lysine ratio for broiler chickens is altered during heat stress in association with changes in intestinal uptake and dietary sodium chloride. **British Poultry Science**, v.39, n.2, p.639-647, 1998.
- BAIAO, N.C.; LUCIO, C.G. Nutrição de matrizes pesadas, In: MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de matrizes de corte**, Campinas: Facta, p. 179-198, 2005.
- BOLEA S, PERTUSA J.A.G, MARTÍN F, et al. Regulation of pancreaticâ-cell electrical activity and insulin release by physiological amino acid concentrations. **European Journal of Physiology**, v.433, p.699-704, 1997.
- BUTTERY, P. J; D.MELLO, J.P.F. **Amino Acid Metabolism in Farm Animals: An Overview**. In: D'mello JPF, editor. *Amino Acids in Farm Animal Nutrition*. Wallingford (UK): CABInternational;p. 1-10, 1994.
- COLEMAN, M. E., DEMAYO, F.; YIN, K. C.; et al. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, p. 12109-12116, 1995.
- CONCONI, M.T., TOMMASINI, M., MURATORI, E., et al. Essential amino acids increase the growth and alkaline phosphatase activity in osteoblasts cultured in vitro. **IL Fármaco**, v.56, p.755-761, 2001.
- CORR S.A, GENTLE M.J, MCCORQUODALE C.C, et al. The effect of morphology on the muscle skeletal system of the modern broiler. **Animal Welfare** v.12, n.1,p.142-157, 2003.
- CORZO, A., E. T. MORAN, JR., AND D. HOEHLER. Arginine need of heavy broiler males: Applying the ideal protein concept. **Poultry Science**, v.82, p.402-407, 2003.
- CORZO, A. Importância de la valina y la isoleucina em la formulacion del alimento para pollo de engorda. **Amino News**, v.9, n.3, p.1-8, 2007.
- COSTA, F.G.P, ROSTAGNO, H.S, TOLEDO,R.S, et al. Efeito da relação arginina:lisina sobre o desempenho e qualidade de carcaça de frangos de corte de 3 a 6 semanas de idade, em condições de alta temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 ,p.2021-2025, 2001.

- DENBOW, D.M. Food intake regulation in birds. **Journal of Experimental Zoology**, v.283, p.333-338, 1999.
- DIBNER, J. Nutritional requirements of young poultry. In: Meeting of Arkansas Nutrition Conference, **Proceedings....Arkansas Poultry Federation**, p. 15-27, 1996.
- DUCLOS, M.J. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) mRNA levels and chicken muscle growth. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, p.25-35, 2005.
- EDWARDS JR HM. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1018-1023, 2000.
- ESTRADA C, MURILLO-CARRETERO M. Nitric oxide and adult neurogenesis in health and disease. **Neuroscientist**, v.11, p.294-307, 2005.
- GHIGO E.; CEDA G.P.; VALCAVI R.; et al. Low doses of either intravenously or orally administered arginine are able to enhance growth hormone response to growth hormone releasing hormone in elderly subjects. **Journal of Endocrinological Investigation**, n.17, p.113-122, 1994.
- FERNANDES, J.I.M.; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E.; SAKAMOTO, M.I. et al. Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein:deoxyribonucleic acid rate of its skeletal myofibers in broilers. **Poultry Science**, v. 88, p.1399-1406, 2009.
- FLORINI J.R., EWTON D.Z., COOLICAN S.A. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. **Endocrinology Review**, v.17, p.481-517, 1996.
- FOYE, O.; FERKET, P.; UNI, Z. The effect of *in ovo* feeding of protein and beta-methyl-beta hydroxybutyrate (HMB) on nutrient digestion and absorption in neonatal turkey poult. In: Internacional Poultry Scientific Forum, 2005, Atlanta, Abstracts...Atlanta: Poultry Science Association, 2005. p.5.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e Metabolismo Muscular. **Fisiologia Aviaria Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.279-297, 2002.
- GREGORY NG, WILKINS LJ. Skeletal damage and bone defects during catching and processing. In: Whitehead CC, editor. **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. Abingdon: Carfax Publishing Company, p.313-328, 1992.
- HARVEY,S.; JOHNSON, C.D.M.; SANDERS, E.J. Growth hormone in neural tissue of the chick embryo. **Journal of Endocrinology**, v.169, n.3, p. 487-496, 2001.
- HUKKANEN, M.V.J., PLATTS, L.A.M., MARTICORENA, I.F.; et al. Developmental regulation of nitric oxide synthase expression in rat skeletal bone. **Journal Bone Mineral Research**, v.14, p.868-877, 1999.

- ISAKSSON, O.G., LINDAHL, A., NILSON, A., et al.. Mechanism of stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone. **Endocrinology Review**, v.8, p.426-438, 1987.
- KESTIN S.C, GORDON S, SU G, et al. Relationship in broiler chickens between lameness, liveweight, growth rate and age. **Veterinary Record**, v.148, p.195-197, 2001.
- LECLERQ, B. Specific effects of lysine on broiler production: comparasion with threonine and valine. **Poultry Science**, v.77, p.118-123, 1998.
- LE ROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR, S.; et al. The somatomedin hypothesis: 2001, **Endocrinology Reviews**, v.22, p.53-74, 2001.
- McLEOD, M. Effect of amino acid balance and energy:protein ratio on energy and nitrogen metabolism in male broiler chicken. **British Poultry Science**, v. 38, p. 405-411, 1997.
- MENDES, A.A., WATKINS, S.E., ENGLAND, J.A. Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age. **Poultry Science**, v.76, n.3, p.472-481, 1997.
- MENDONÇA J.R. Enfermidades do sistema locomotor. In: Berchieri Jr A, Macari M, editors. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA; p.449-464, 2000.
- MERIMEE J.T, RABINOWITZ D, FINEBERG S.E. Arginine-initiated release of human growth hormone. Factores modifying the response in normal man. **New England Journal Medicine**, v.280, p.:1434-1438, 1969.
- NEWBERNE, P.M., SAVAGE, J.E., O.DELL, B.L. Pathology of arginine deficiency in the chick. **Journal of Nutrition**, v.729, n.4, p.347-352, 1960.
- OVIEDO E.O, FERKET P.R. Nutritional factors that affect leg problems in meat poultry: A Review. In: Ferket PR, editor. Proceedings of the 32nd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference; 2005; North Carolina: Carolina Feed Industry Association in Cooperation with NC State University; p.58, 2005.
- OHTA, Y., TSUSHIMA, N., KOIDE, K. et al. Effects of amino acid injection in broiler breeder eggs. **Poultry Science**, v.78, p. 1493-1498, 1999.
- OHTA, Y., YOSHIDA, T., TSUSHIMA, N. Comparasion between broilers anda layers for growth and protein use by embryos. **Poultry Science**, v. 83, p. 783-787, 2004.
- PRABHAKAR, S.S.G., ZEBALLOS, A., MONTOYA-ZAVALA, M., et al. Urea inhibits inducible nitric oxide synthase in macrophage cell line. **American Journal of Physiological**, v.273, p. 1882-1888, 1997.
- PRAUL CA, FORD BC, GAY CV, PINES M, et al.. Gene expression and tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1009-1013, 2000.

- PELLETIER J.P., JOVANOVIC D., FERNANDES. J.C, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. **Arthritis and Rheumatism**, v.41, p.1275-1286, 1998.
- POPHAL, S.; MOZDZIAK, P.E.; VIEIRA, S.L.; et al. Sattellite cell mitotic activity of broilers fed differing levels of lysine. **International Journal of Poultry Science** , v.3, n.2, p. 758-763, 2004.
- QUINN, P.R.O.; KNABE, D.A.; WU, G. Arginine catabolism in lactating porcine mammary tissue. **Journal of Animal Science**, v.80, n.2, p.467-474, 2002.
- RATH NC, HUFF WE, BAYARI GR, et al. Cell death in avian tibial dyschondroplasia. **Avian Diseases**, v.42, p.72-79,1998.
- REID, M.B. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. **Journal Applied Physiology**, v. 90, p. 724-731, 2001.
- ROITH D.L, BONDY C, YAKAR S, et al. The somatomedin Hypothesis. **Endocrine Reviews**, v.22, p.53-74, 2001.
- 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. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2ed. 185p. 2005.
- SARTORI, J.R.; GONZALES, E. Crescimento e metabolismo muscular. In:**Fisiologia Aviária – Aplicação a Frangos de Corte**, 2ed. FUNEP:FCAV/UNESP, 375p. 2008.
- SEEDOR, J.G. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.4, p.265-270, 1993.
- SEKINE T, WATANABE E, ISHIBASHI T. Influence of dietary amino acids and calcium available phosphorus on bone development of female broiler chicks. **Animal Science and Technology**, v.65, p.999-1007, 1994.
- SHUTTE, J.B.; PACK, M. Sulfur amino acid requirement of broiler chicks from fourteen to thirty-eight days of age.1. Performance and carcass yield. **Poultry Science**, v.74, p. 480-487, 1995.
- SKLAN, D., NOY, Y. Catabolism and deposition of amino acids in growing chicks: effect of dietary supply. **Poultry Science**, v. 83, p.952-961, 2004.
- SMITH, M.O. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. **Poultry Science**, v.72, p. 1146-1150, 1993.

- STUTZ, M.W., SAVAGE, J.E., O.DELL, B.L. Relation of dietary cations to arginine:lysine antagonism and free amino acid pattern in chicks. **Journal of Nutrition**, v.101,p.377-384, 1971.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **SAEG**; sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário. Versão 7.1. Viçosa, 150p. 1997.
- VAN'T HOF, R.J., RALSTON, S.H. Nitric oxide and bone. **Immunology**, v.103, p.255-261, 2001.
- VIEIRA, S.L., POPHAL, S. Nutrição pós-eclosão de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.2, n.3, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>, Consultado em: 02/02/2010).
- VIEIRA, S.L. Nutrição do embrião: primeiro passo em programas de nutrição do frango de corte. 2007. Disponível em: <<http://www.aveword.com.br>>, Consultado em: 02/02/2009).
- VIEIRA, S.L.; LEMME, A.; GOLDENBERG, D.B.; et al. Responses of growing broilers to diets with increased sulfur amino acids to lysine ratios at two dietary protein levels. **Poultry Science**, v.83, p. 1307-1313, 2004.
- WILLIAMS BS, SOLOMON D, WADDINGTON B, et al. Skeletal development in the meat-type chicken. **British Poultry Science**, v.41, p.141-149, 2000.
- WU, G.; MORRIS, S.M.JR. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, v.336, p.1-17, 1998.

## **V - Efeito da suplementação de arginina em matrizes de corte sobre a resposta imune humoral e celular da progênie**

**Resumo** – O experimento foi conduzido para determinar o efeito da suplementação de Arginina (Arg), na dieta de matrizes de corte sobre a resposta imune celular e humoral da progênie suplementada ou não com dietas contendo níveis crescentes de Arg. A progênie foi alojada de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco níveis de L-Arg incluídos na dieta da matriz de 0 a 600% de Arg digestível acima da exigência e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. A resposta imune humoral foi avaliada pela titulação de anticorpos vacinais contra Doença de Newcastle. No 7º dia de idade, antes da vacinação, e no 14º, 21º, 28º e no 35º após a vacinação foram coletadas amostras de sangue de duas aves por repetição e o soro foi avaliado através de kit comercial *ELISA* (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). A resposta imune celular foi medida pela injeção de fitohemaglutinina (PHA) aos 35 dias de idade. O peso relativo dos órgãos linfoides (bolsa cloacal, baço e timo) foram calculados como porcentagem do peso corporal vivo. A suplementação das matrizes de corte não influenciou ( $P>0,05$ ) o desenvolvimento dos órgãos linfoides da progênie suplementada ou não. A resposta imune celular foi afetada de forma quadrática ( $P<0,05$ ) pelos níveis de Arg. Esta resposta foi observada somente 12 horas após a inoculação com maior espessamento do espaço interdigital no nível de 1,574% de Arg na progênie suplementada. O título de anticorpos vacinais contra Doença de Newcastle na progênie não suplementada não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pela dieta da matriz. A progênie alimentada com dietas suplementadas mostrou uma diminuição linear no título de anticorpos ( $P<0,05$ ) aos sete dias de idade, e um efeito quadrático ( $P<0,05$ ) aos 28 dias de idade, com 1,674% o melhor nível de suplementação. Este estudo concluiu que a suplementação de arginina na dieta das matrizes não é suficiente para melhorar a resposta imune humoral e celular, sendo necessário suplementar com Arg a dieta da progênie.

**Palavra-chave:** arginina, ELISA, fitohemaglutinina, sistema imune

## **V - Effect of arginine supplementation in broiler breeder hens diet on humoral and cellular immunity response of the progeny**

**Abstract** – An experiment was carried out to determine the effects of arginine supplementation in broiler breeder hen's diet on humoral and cellular immune responses in progeny fed with or without an Arg supplemented diet. The progeny was housed according to the hen's treatments. A complete randomized design used five levels of digestible L-Arg from 0 to 600% above of the required levels and was performed in six replicates, totaling 30 experimental units. Humoral immune response was measured as antibody titers for the *Newcastle Disease* vaccine. On the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days of age, before the vaccination, and on the 21<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup> and 35<sup>th</sup> days of age after vaccination, samples of blood and serum from two birds per pen were evaluated using a commercial ELISA kit (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Cell-mediated immune response was assessed by the cutaneous basophil phytohemagglutinin (PHA) hypersensitivity test at 35 days of age. The percentage ratio of lymphoid organs (bursa of Fabricius, spleen and thymus) was calculated as percentage of live body weight. The Arg supplemented diet did not influence ( $P>0.05$ ) in the relative weight of the progeny lymphoid organs. The cellular immune response was quadratically affected ( $P<0.05$ ) by the Arg supplementation. This response was only observed 12 hours after the phytohemagglutinin-P injection, with a higher inter-digital thickness observed with the 1.574% level of Arg supplementation. The antibody titers for the *Newcastle Disease* vaccine in the non-supplemented progeny were not influenced by diet. The progeny fed with the arginine-supplemented diet showed a linear decrease ( $P<0.05$ ) in the antibody titers at 7 days old and a quadratic effect ( $P<0.05$ ) at 28 days old, with the 1.674% level being considered the best for this parameter. This study concluded that the arginine supplementation in the broiler breeder hen's diet is not sufficient to improve humoral and cellular immune responses.

**Key words:** arginine, ELISA, phytohemagglutinin, immune system

## Introdução

A nutrição da matriz afeta o desempenho dos pintos (Uni & Ferket 2004). Muitos desafios de agentes patogênicos e vacinais acontecem nos primeiros dias de vida, portanto, a necessidade da matriz em nutrientes específicos com função imunomoduladora assume importante papel na transferência de imunidade materna e na resposta imune dos pintos. O sistema imune das aves difere dos mamíferos em algumas características, particularmente nos aspectos de estrutura e de diferenciação dos órgãos linfoides (Jeurissen et al., 1994), cujo desenvolvimento se inicia durante a vida embrionária e se prolonga após a eclosão ou nascimento.

As últimas horas de incubação e os primeiros dias de vida pós-eclosão são fundamentais para que este desenvolvimento se complete. Somente após a segunda semana de vida a ave será capaz de produzir suas próprias imunoglobulinas. Até lá, a imunidade herdada da mãe pela absorção das imunoglobulinas presentes no ovo é o único mecanismo de defesa do neonato contra as agressões do meio externo após a eclosão (Maiorka et al., 2006).

Os aminoácidos, além de serem biomoléculas constituintes de proteínas e peptídeos em todos os organismos vivos, são precursores de muitos compostos nitrogenados que possuem importantes funções fisiológicas. A arginina (Arg) é considerada um aminoácido essencial para aves, sobretudo na fase inicial, por que o ciclo bioquímico da ureia não é funcional em aves. Assim, estas não podem sintetizar Arg e são, portanto, dependentes do fornecimento deste aminoácido nas dietas. Dentre as espécies animais estudadas, as aves têm a mais alta exigência de Arg (Ball et al., 2007), que se deve, também à alta taxa de deposição proteica pelo rápido crescimento das atuais linhagens de corte e o antagonismo com a Lys.

A Arg é necessária para síntese de várias compostos, tais como ornitina, poliaminas, prolina, creatina, de proteínas, óxido nítrico (NO) e citrulina, além de

glutamato e agmatina em mamíferos. A Arg é também considerada um potente secretagogo, aumentando a liberação na corrente sanguínea da insulina, hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) (Newsholme et al., 2005). Esta ação é em consequência da rápida despolarização da membrana plasmática ligada ao transporte de aminoácidos com a cadeia lateral positiva.

De acordo com Le Floch et al. (2004) os animais estimulados imunologicamente podem ter suas necessidades de Arg aumentadas. Duas rotas do metabolismo da Arg são identificadas e conhecidas por ter efeitos imunomodulatórios diretos. A primeira, na qual a Arg é convertida a ornitina gerando poliaminas, que têm papel chave na divisão celular, síntese de DNA e regulação do ciclo celular. A segunda corresponde à síntese do NO, induzida por vários de estímulos inflamatórios como as endotoxinas bacterianas e as citocinas. Essa rota é essencial para a atividade citotóxica de macrófagos. O NO também estimula a vasodilatação local e favorece ainda a reparação tecidual (Bredt & Snyder, 1994).

Com este trabalho objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de Arginina na dieta das matrizes de corte sobre a resposta imune celular e humoral da progênie, suplementadas ou não.

### ***Material e Métodos***

Foram realizados três experimentos, um utilizando dietas suplementadas com L-Arginina para as matrizes para obtenção da progênie e dois com a suplementação ou não da dieta da progênie.

Para obtenção da progênie, durante a 31ª semana foram armazenados todos os ovos postos para a incubação. Foram obtidos cerca de 265 ovos por tratamento, totalizando 1325 ovos, os quais foram transportados até um incubatório comercial onde foram incubados. Após o nascimento, os pintinhos foram selecionados e transportados para a Fazenda Experimental de Iguatemi na Universidade Estadual de Maringá.

### ***Experimento 1 – Progênie sem suplementação de Arginina na dieta***

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

Foram utilizados 1050 pintos de um dia de idade, machos, da linhagem Ross<sup>®</sup>, com peso médio inicial de 41,22 g, provenientes de matrizes de corte alimentadas com

dietas suplementadas com níveis crescentes de L-Arginina. As aves foram alojadas em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, dividido em boxes de 6,3 m<sup>2</sup> com cobertura de telha de barro, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 0,30 cm de altura, completadas com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo palha de arroz sobre o piso.

Os pintos foram alojados de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes, em um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco níveis de L-Arginina incluídos na dieta materna (0, 150, 300, 450 e 600 mg/kg da dieta materna) que equivaleram aos níveis de 0, 943%;1,093%; 1,243%,1,393 e 1, 543% de Arg digestível com seis repetições com 35 aves cada, totalizando 30 unidades experimentais.

Na fase inicial, foram utilizados comedouros e bebedouros infantis até o quinto dia de idade, sendo estes substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada boxe foram utilizados um círculo de proteção e uma campânula como fonte de aquecimento para os pintos. Foi adotado um programa de luz contínuo durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. A ração e a água foram fornecidas “*ad libitum*” durante todo o período experimental.

A mortalidade foi registrada, e as aves e as sobras de ração do boxe foram pesadas ao mesmo tempo para ajustar o consumo de ração e a conversão alimentar.

O programa nutricional utilizado foi dividido em duas fases, uma inicial (1 a 21 dias de idade) e outra de crescimento e final (22 a 42 dias de idade) (Tabela 1). As dietas experimentais, à base de milho e farelo de soja, foram formuladas de acordo com os valores de composição química dos alimentos e recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2005). As aves receberam uma única ração, sem suplementação de arginina, para verificar apenas o efeito da suplementação da matriz sobre o desempenho da progênie.

**Tabela 2** - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie não suplementada proveniente de matrizes de corte suplementadas com dietas contendo níveis de Arg.

<i>Ingredientes</i>	<i>1 – 21 dias</i>	<i>22 – 42 dias</i>
Milho, grão	64,56	65,67
Farelo de soja, 45%	30,07	26,95
Fosfato bicálcico	1,85	1,49
Calcário	0,77	0,77
Bicarbonato de Sódio	0,41	0,00
Inerte (caulin)	0,70	0,70
Óleo de soja	0,19	3,20
Sal comum	0,30	0,30
DL-Metionina, 98%	0,35	0,28
L-Lisina HCl, 78%	0,45	0,37
L-Treonina 98%	0,18	0,12
L-Triptofano 98%	0,02	0,00
L-Arginina 99%	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05
Supl. Vitamínico <sup>2,3</sup>	0,10	0,10
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Valores calculados</b>		
PB (%)	20,00	18,500
EMA (kcal/kg)	2947	3170
Met + Cis, dig (%)	0,890	0,790
Lisina, dig (%)	1,240	1,100
Triptofano, dig (%)	0,230	0,193
Treonina, dig (%)	0,810	0,710
Arginina, dig (%)	1,30	1,150
Cálcio (%)	0,870	0,770
Fósforo disponível(%)	0,450	0,380
Sódio (%)	0,270	0,157
Cloro (%)	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg; Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg; Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

<sup>3</sup> Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

***Experimento 2 – Progenie com suplementação de Arginina na dieta:***

Foram utilizados 960 pintos de um dia de idade, machos, da linhagem Ross<sup>®</sup>, com peso médio inicial de 41,52 g, provenientes de matrizes de corte alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes de L- Arginina. Os pintos foram alojados de acordo com os tratamentos recebidos pelas matrizes, através de um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco níveis de L-Arginina incluídos na dieta materna de 0 a 600 mg/kg da dieta de Arg digestível acima da recomendação dos frangos de corte e seis repetições com 32 aves cada, totalizando 30 unidades experimentais.

O manejo realizado nesse experimento foi conduzido conforme descrito no experimento anterior, com diferença com relação ao tipo de dieta utilizada.

Para obtenção dos níveis crescentes de arginina suplementar, foi adicionado L-Arginina de 0 a 600 mg/kg da dieta acima da exigência dos frangos de corte à ração basal inicial em substituição ao inerte. Os níveis dietéticos na fase inicial corresponderam a 1,300; 1,450; 1,600; 1,750 e 1,900% de arginina digestível (Tabela 2). A partir dos 22 dias de idade, os níveis dietéticos corresponderam a 1,150; 1,300; 1,450; 1,600 e 1,750% de Arg digestível (Tabela 3).

**Tabela 3** - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg (1-21 dias).

<i>Ingredientes</i>	<i>Níveis de Arginina Digestível (%)</i>				
	<b>1,300</b>	<b>1,450</b>	<b>1,600</b>	<b>1,750</b>	<b>1,900</b>
Milho, grão	64,56	64,56	64,56	64,56	64,57
Farelo de soja, 45%	30,07	30,07	30,07	30,07	30,07
Fosfato bicálcico	1,85	1,85	1,85	1,85	1,85
Calcário	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Bicarbonato de Sódio	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Óleo de soja	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Inerte (caulin)	0,70	0,55	0,40	0,25	0,10
DL-Metionina, 98%	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L-Lisina HCl, 78%	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
L-Treonina 98%	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
L-Triptofano 98%	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-Arginina 99%	0,00	0,15	0,30	0,45	0,60
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
<b>Total</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b><i>Valores calculados</i></b>					
PB (%)	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg)	2947	2947	2947	2947	2947
Met + Cis, dig (%)	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890
Lisina, dig (%)	1,240	1,240	1,240	1,240	1,240
Triptofano, dig (%)	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
Treonina, dig (%)	0,810	0,810	0,810	0,810	0,810
Arginina, dig (%)	1,30	1,45	1,60	1,75	1,90
Cálcio (%)	0,870	0,870	0,870	0,870	0,870
Fósforo disponível(%)	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Sódio (%)	0,270	0,270	0,270	0,270	0,270
Cloro (%)	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg; Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg; Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

**Tabela 4** - Composição percentual e calculada das rações experimentais da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg (22-42 dias).

<i>Ingredientes</i>	<i>Níveis de Arginina Digestível (%)</i>				
	<b>1,150</b>	<b>1,300</b>	<b>1,450</b>	<b>1,600</b>	<b>1,750</b>
Milho, grão	65,67	65,67	65,67	65,67	65,67
Farelo de soja, 45%	26,95	26,95	26,95	26,95	26,95
Fosfato bicálcico	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
Calcário	0,77	0,77	0,77	0,77	0,75
Óleo de soja	3,20	3,20	3,20	3,20	3,20
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Inerte (caulin)	0,70	0,55	0,40	0,25	0,10
DL-Metionina, 98%	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
L-Lisina HCl, 78%	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
L-Treonina 98%	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
L-Arginina 99%	0,00	0,15	0,30	0,45	0,60
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
<b>Total</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
<b><i>Valores calculados</i></b>					
PB (%)	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50
EMA (kcal/kg)	3170	3170	3170	3170	3170
Met + Cis, dig (%)	0,790	0,790	0,790	0,790	0,790
Lisina, dig (%)	1,100	1,100	1,100	1,100	1,100
Triptofano, dig (%)	0,193	0,193	0,193	0,193	0,193
Treonina, dig (%)	0,710	0,710	0,710	0,710	0,710
Arginina, dig (%)	0,150	1,300	1,450	1,600	1,750
Cálcio (%)	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770
Fósforo disponível(%)	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Sódio (%)	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157
Cloro (%)	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214

<sup>1</sup> Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

<sup>2</sup> Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

### ***Colheita de Sangue e Análise de Títulos vacinais***

No 7º dia de vida, antes da vacinação, e no 14º, 21º, 28º e no 35º foram coletadas amostras de sangue de duas aves por repetição. As aves foram vacinadas contra a doença de *New Castle* (Fort-Dodge®), via ocular na dose de 0,03 mL por ave, aos sete e 21 dias de idade. A venopunção foi realizada mediante contenção física manual dos

animais, preferencialmente na veia jugular direita com seringa de 3 mL e agulha 13x4,5 e uma quantidade de sangue coletada em torno de 1% do peso corporal dos animais. O sangue foi acondicionado em tubos de vidro identificados, sem anticoagulante para obtenção de soro sanguíneo. No soro, foi avaliada a titulação de anticorpos vacinais contra o vírus de Doença Newcastle pelo teste imunoenzimático (ELISA-teste). As análises foram processadas em kit comercial ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) do Laboratório Idexx® e os dados obtidos foram expressos em absorbância. Os dados de titulação de anticorpos avaliados por ELISA foram transformados em  $\log_{10}$ .

### ***Análise Histomorfométrica***

No 7º e 21º dia de idade, o timo, a bolsa cloacal, o baço e o fígado de duas aves por repetição foram coletados, totalizando doze aves por tratamento. Para a realização dessa coleta, as aves foram submetidas ao atordoamento por choque e posterior sangria. Após o sacrifício, as aves foram pesadas individualmente e as carcaças dessecadas para remoção dos órgãos linfoides (Timo, Baço e Bolsa de Fabricius). O peso dos órgãos linfoides foi obtido, imediatamente, após a dessecação e remoção dos tecidos exógenos. Os órgãos coletados foram pesados em balança de precisão e o peso da ave foi devidamente anotado.

O peso relativo de cada órgão foi obtido pela fórmula:

$$\text{Peso relativo} = (\text{peso órgão/peso vivo}) \times 100$$

Para a medida histomorfométrica dos folículos linfoides, as bolsas cloacais e o fígado foram acondicionadas em frascos contendo solução de formol tamponado a 10% (De Tolosa et al., 2003), com finalidade de manter a integridade dos tecidos após a morte preservando a arquitetura celular. As peças foram incluídas em parafina e levadas ao micrótomo rotativo para a realização dos cortes transversais no centro do órgão com sete micrômetros de espessura e corados pelo método da hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram escaneadas, usando-se um “scanner HP ScanJet II v.2.5.”, sendo o “software” utilizado para o tratamento das imagens, o “Paint Shop Pro v.5.0”. A imagem foi digitalizada, brilho (variável entre 125 e 145), contraste 185 e escala de 800%. As imagens foram gravadas com extensão \*.jpg e levadas ao analisador de imagens. Para a leitura das imagens, foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 5.2, da Mídia Cibertecnicos. Foi mensurada a altura de três dobras do tecido linfóide de cada repetição (12 aves por tratamento) e destes valores foi obtida a média.

Nas amostras de fígado, foi analisada a presença de aglomerados linfóides. As lâminas com porções do fígado foram analisadas em toda sua extensão e os aglomerados linfóides foram quantificados através de microscopia de luz com aumento de 10X (Olympus BH2 Olympus America INC., NY, USA).

### ***Fitohemaglutinina (PHA)***

Aos 35 dias de idade, duas aves por repetição, totalizando 12 aves por tratamento, foram marcadas com anilhas numeradas, e utilizadas para avaliar a imunidade mediada por células *in vivo* (Corrier & DeLoach, 1990). Cada ave foi inoculada intradermicamente, no espaço interdigital entre o 3º e 4º dedo da pata direita com 0,1 mL de uma solução fitohemaglutinina PHA-M® (1057601 - Invitrogen). Como controle negativo, 0,1 mL de soro fisiológico estéril foi inoculado entre o 3º e 4º dedo da pata esquerda. O espessamento da pele, de ambas as patas, foi aferido em milímetros utilizando-se um paquímetro digital antes da inoculação e após três, seis, 12 e 24 horas após a inoculação. O cálculo (Corrier & DeLoach, 1990) apresentou-se da seguinte forma: Reação = resposta a fitohemaglutinina – resposta do controle, na qual a resposta a fitohemaglutinina é medida pela espessura da pele após o tempo de inoculação menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação). A resposta do controle é medida pela espessura da pele após o tempo de inoculação (Soro) menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação).

### ***Avaliação da Atividade Fagocítica de Macrófagos***

Para avaliação da atividade fagocítica de macrófagos foram utilizadas duas aves por repetição, totalizando quatro aves por tratamento. As aves foram inoculadas no 35º dia de vida, através de injeção intra-abdominal de Sephadex G-50® (Sigma) a 3%, (1,0 mL/100g de peso vivo) (Qureshi et al., 1986; Gore & Qureshi, 1997; Konjufca, 2004).

Utilizaram-se para esse procedimento cateteres intravasculares G-14. Após 42 horas as aves foram submetidas a atordoamento por eletronarcole e sacrificadas através de desligamento cervical. Foram lavadas (detergente neutro) e sanitizadas (álcool 70%). As aves foram transportadas ao laboratório, onde se procedeu a abertura da cavidade abdominal, que foi posteriormente lavada com 20 mL de solução de PBS estéril heparinizada contendo 0,5 UI/L (Liquemine® 25.000 UI/5mL – Roche).

Coletaram-se, aproximadamente 15 mL de líquido abdominal com auxílio de pipetas Pasteur, que foi imediatamente acondicionado em tubos Falcon em banho de

gelo. O material foi centrifugado a 1500 rpm/10 minutos, sendo o “pellet”, ressuspendido em 2 mL de meio RPMI 1640® (Sigma). Adicionou-se 150 µL dessa suspensão a cada *well* da placa de cultura (24 poços), contendo lamínula de 13 mm de diâmetro. Incubou-se a temperatura ambiente, por uma hora. Lavou-se a placa com PBS estéril gelado para remover as células não aderentes. Em seguida adicionou-se 150 µL de suspensão a 3% de eritrócitos de carneiros em meio RPMI 1640® (Sigma), incubando-se em temperatura ambiente, em concentração de 5% de gás carbônico, por uma hora. Lavou-se com PBS estéril gelado para remover os eritrócitos que não aderiram. Em seguida, realizou-se a coloração, utilizando-se kit comercial (Panótico Rápido LB® - Laborclin).

Após 24 horas, as lâminas foram montadas utilizando-se Permount®. Foram contados, em cada lamínula, 300 macrófagos, e verificado o número destas células que continham hemáceas fagocitadas. A atividade fagocítica foi calculada considerando-se o número de macrófagos contendo hemáceas fagocitadas dividido pelo número total de macrófagos contados.

### **Análise estatística**

#### **Experimento 1:**

Os dados obtidos de cada parâmetro foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG®.

Os dados foram analisados, segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1A_i + b_2A_i^2 + b_3A_i^3 + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : observação da variável dependente na unidade experimental j submetida ao nível i de Arg adicionada na dieta materna, i: 1,2,3,4,5 (1= 0,943%; 2= 1,093%; 3= 1,243%; 4= 1,393% e 5= 1,543%);

$b_0$ : constante;

$b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$ : são, respectivamente, coeficientes linear, quadrático e cúbico de regressão da variável dependente em função dos níveis de Arg;

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$

Os coeficientes de determinação foram calculados como percentagem da soma de quadrados do modelo em relação à soma de quadrados total. Os dados de Titulação de anticorpos avaliados por ELISA foram transformados em log10.

### ***Experimento 2:***

Os dados obtidos de cada parâmetro, que apresentaram distribuição normal, foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG<sup>®</sup>.

Os dados foram analisados, segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1A_i + b_2A_i + b_3A_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : observação da variável dependente na unidade experimental j submetida ao nível i de Arg, i: 1,2,3,4,5 (1= 1,300; 2= 1,450; 3= 1,600; 4= 1,750 e 5= 1,900% no período de 1 a 21 dias de idade; 1= 1,150; 2= 1,300; 3= 1,450; 4= 1,600 e 5= 1,750% no período de 1 a 42 dias de idade);

$b_0$ : constante;

$b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$ : são, respectivamente, coeficientes linear, quadrático e cúbico de regressão da variável dependente em função dos níveis de Arg;

$e_{ij}$ : erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$

Os coeficientes de determinação foram calculados como percentagem da soma de quadrados do modelo em relação à soma de quadrados total. Os dados de Titulação de anticorpos avaliados por ELISA foram transformados em log10.

### ***Resultados e Discussão***

Os dados médios dos pesos relativos de órgãos linfoides de frangos de corte alimentados com dietas não suplementadas estão na Tabela 5. A suplementação das matrizes de corte não influenciou o desenvolvimento dos órgãos linfoides da progênie não suplementada com Arg ( $P>0,05$ ). Da mesma maneira, quando houve a suplementação dietética de Arg para a progênie, também não foi verificado ( $P>0,05$ ) efeito sobre o peso relativo dos órgãos linfoides dessas aves (Tabela 6).

**Tabela 5** – Médias e erros padrão dos pesos relativos (%) dos órgãos linfoides da progênie não suplementada provenientes de matrizes alimentadas com níveis crescentes de Arg.

Níveis de Arg das Matrizes (%)	Timo (%)	
	7 dias	21 dias
0,943	0,58±0,03	0,54±0,04
1,093	0,55±0,03	0,56±0,05
1,243	0,56±0,03	0,57±0,03
1,393	0,52±0,04	0,57±0,04
1,543	0,52±0,03	0,51±0,05
CV%	14,10	18,40
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Bolsa Cloacal (%)	
0,943	0,06±0,005	0,11±0,01
1,093	0,08±0,007	0,11±0,01
1,243	0,12±0,036	0,09±0,01
1,393	0,07±0,007	0,10±0,01
1,543	0,09±0,007	0,10±0,01
CV%	49,68	24,63
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Baço(%)	
0,943	0,15±0,01	0,24±0,01
1,093	0,17±0,01	0,22±0,02
1,243	0,16±0,01	0,21±0,01
1,393	0,15±0,01	0,22±0,03
1,543	0,13±0,01	0,21±0,01
CV%	18,85	18,68
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>

*ns* = não significativo ( $P>0,05$ ).

O timo e a bolsa cloacal são órgãos linfoides primários, que representam sítios de maturação de linfócitos T e B, respectivamente. Estes órgãos têm fundamental importância no período pós-eclosão, porém, à medida que as aves se desenvolvem, e se aproximam da maturidade sexual, sofrem involução fisiológica (Morgullis, 2002).

No contexto do desenvolvimento e maturação dos órgãos linfoides, trabalhos desenvolvidos com mamíferos demonstram que as respostas imunes podem ser influenciadas pela Arg dietética (Kennedy et al., 1994; Kobayashi et al., 1998; Lewis & Langkamp-Henken, 2000). Experimentos desenvolvidos com animais jovens demonstraram efeitos timotróficos da suplementação com L-arginina, como o aumento do peso do timo, do número e a reatividade funcional dos linfócitos tímicos. Os efeitos imunoestimulatórios foram ainda mais expressivos em animais estressados ou imunossuprimidos.

**Tabela 6** – Médias e erros padrão dos pesos relativos (%) dos órgãos linfoides da progênie alimentadas com dietas suplementadas com níveis de Arg.

Níveis de Arg (%)	Timo (%)	
	7 dias	21 dias
1,300	0,53±0,05	0,56±0,04
1,450	0,57±0,04	0,57±0,03
1,600	0,59±0,04	0,59±0,03
1,750	0,51±0,03	0,48±0,05
1,900	0,58±0,04	0,53±0,04
CV%	19,10	17,90
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Bolsa Cloacal (%)		
1,300	0,16±0,011	0,25±0,02
1,450	0,15±0,012	0,20±0,01
1,600	0,18±0,007	0,22±0,02
1,750	0,19±0,016	0,26±0,03
1,900	0,15±0,007	0,23±0,01
CV%	16,21	20,21
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Baço (%)		
1,300	0,07±0,009	0,08±0,01
1,450	0,09±0,008	0,10±0,01
1,600	0,08±0,006	0,09±0,01
1,750	0,08±0,005	0,11±0,01
1,900	0,07±0,007	0,10±0,01
CV%	22,27	21,51
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>

*ns* = não significativo ( $P > 0,05$ )

Para Kidd (2004), os efeitos benéficos da suplementação de Arg foram observados quando os níveis empregados foram de 25 a 50% das exigências nutricionais estabelecidas. Níveis próximos ao recomendado, apesar de elevar o nível de Arg plasmática, não melhoraram a resposta imune humoral ou celular (Kidd, 2004).

Ao contrário dos resultados observados nesse experimento, Jahanian (2009) observou que animais na fase inicial com dietas suplementadas com Arg e com baixo nível proteico apresentaram aumento do peso relativo do timo, indicando assim que a Arg é necessária para a resposta ótima da imunidade celular.

Quando se contrastam os dados do peso relativo dos órgãos linfoides (Tabela 7) verificou-se a influencia da suplementação de Arg no peso da bolsa cloacal ( $P < 0,05$ ) no período inicial de criação. Esse aumento é de grande importância uma vez que a bolsa cloacal é o principal sítio de maturação dos linfócitos B, que são essenciais ao sistema imune das aves. Na fase de 1 a 7 dias de idade, esse incremento pode refletir a melhoria

das condições imunitárias, já que nesse período os desafios sanitários podem comprometer todo desempenho dessa ave até o final de sua criação.

**Tabela 7** – Médias e erro padrão do peso relativo dos órgãos linfoides (%), timo, baço e bolsa de cloacal dos experimentos realizados com progênie suplementada ou não com dietas com níveis crescentes de Arg aos 7 e 21 dias de idade.

	7 dias		
	Timo	Bolsa cloacal	Baço
Progênie (não suplementada)	0,54±0,01	0,15±0,005 <sup>b</sup>	0,085±0,008
Progênie (suplementada)	0,56±0,02	0,17±0,006 <sup>a</sup>	0,079±0,003
CV (%)	0,02	0,005	0,006
	21 dias		
	Timo	Bolsa cloacal	Baço
Progênie (não suplementada)	0,55±0,01	0,22±0,007	0,11±0,005
Progênie (suplementada)	0,54±0,02	0,23±0,009	0,09±0,004
CV (%)	0,02	0,08	0,004

<sup>a,b</sup>Letras diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste de F.

A análise histomorfométrica do fígado, não mostrou influência ( $P>0,05$ ) das dietas das matrizes nos aglomerados linfoides da progênie suplementada ou não (Tabela 8). Da mesma maneira, as dobras do tecido linfoide da bolsa cloacal, não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pela suplementação ou não de Arg na dieta (Tabela 8).

Existe relação direta entre o fígado e a bolsa cloacal. Nas aves, os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos envolvidos na resposta imunológica humoral, são produzidos no fígado do embrião, no saco vitelínico e na medula óssea na fase inicial da incubação. Após isso, migram para a bolsa cloacal e sofrem amadurecimento e diferenciação por até dez semanas. Daí partem para colonizar outros órgãos, como o baço, e a glândula de Harder (Butcher & Miles, 2003). A bolsa cloacal é constituída de linfócitos incrustados em tecido epitelial, cujas dobras se estendem no interior do lúmen, onde se espalham os folículos linfoides. Seus folículos contêm mais de 90% de células B (Tizard, 1998).

**Tabela 8** - Aglomerados linfóides e comprimento das dobras do tecido linfóide da bolsa cloacal (mm) da progênie suplementada ou não, provenientes de matrizes alimentadas com dietas com níveis crescentes de Arg.

Níveis de Arg (%)	Aglomerados Linfóides		Comprimento das dobras	
	Progênie não Suplementada		Progênie não Suplementada	
	7 dias	21 dias	7 dias	21 dias
0,943	1,05±0,10	1,96±0,41	14,43±0,97	32,47±1,98
1,093	0,98±0,28	1,37±0,21	13,94±2,25	30,66±2,40
1,243	0,77±0,04	1,78±0,29	15,03±0,60	30,42±1,09
1,393	0,80±0,15	1,70±0,43	14,49±0,68	31,12±1,87
1,543	0,96±0,18	2,32±0,37	14,64±1,49	32,22±1,95
CV(%)	43,98	47,08	5,63	9,15
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Progênie Suplementada		Progênie Suplementada	
	7 dias	21 dias	7 dias	21 dias
	1,300	0,76±0,10	1,68±0,35	19,36±2,06
1,450	0,49±0,15	2,16±0,41	18,65±0,22	40,27±12,44
1,600	0,72±0,24	1,89±0,22	20,35±0,64	33,31±0,36
1,750	0,53±0,05	1,92±0,36	21,95±1,39	44,87±15,40
1,900	0,53±0,12	2,13±0,25	19,05±1,28	25,62±1,11
CV(%)	58,07	41,41	4,73	53,59
Regressão	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Assim, a progênie que recebeu dieta suplementada ou não com Arg não apresentou produção de linfócitos B aumentada, nem a área de desenvolvimento e diferenciação dos linfócitos B prejudicada ou melhorada pela Arg ( $P>0,05$ ).

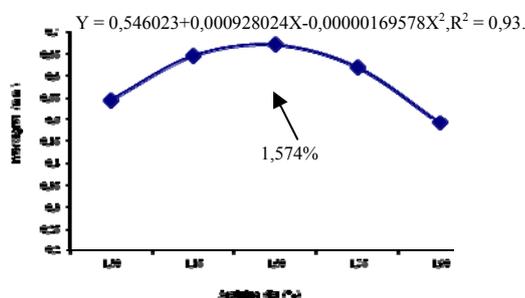
Na Tabela 9, estão às médias obtidas da resposta imune celular da progênie com dieta suplementada, medida pela injeção de fitohemaglutinina (PHA) para estímulo de proliferação celular. Dentro desse contexto observou-se que 12 horas após a injeção de PHA foi possível verificar efeito quadrático com aumento ( $P<0,05$ ) na resposta celular das aves alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de Arg, em que a maior resposta foi obtida com 1,574% de Arg dig. (Figura 1).

Segundo Corrier & DeLoach (1990), a aplicação desse teste permite a rápida avaliação da competência imunológica celular. Os basófilos, células comumente associadas a esses processos, apresentam heparina e proteases na composição de seus grânulos, agindo intensamente nos processos de hipersensibilidade. Além disso, produzem citocinas, cuja participação está ligada aos processos inflamatórios (Abbas et al., 2007).

**Tabela 9** – Média e erro padrão da reação interdigital a fitohemaglutinina (mm) na progênie alimentada com dietas contendo níveis de Arg.

Arginina %	3 horas	6 horas	12 horas	24 horas
1,300	1,010±0,062	0,793±0,041	0,549±0,097	0,506±0,036
1,450	0,853±0,077	0,639±0,065	0,631±0,051	0,450±0,133
1,600	0,918±0,053	0,738±0,040	0,702±0,052	0,543±0,065
1,750	0,797±0,074	0,783±0,058	0,597±0,061	0,552±0,066
1,900	0,933±0,044	0,777±0,038	0,499±0,059	0,453±0,062
CV%	17,15	16,30	27,24	38,75
Regressão	ns	ns	Quadrático <sup>1</sup>	ns
R <sup>2</sup>	-----	-----	0,93	-----

ns = Não significativo; 1.  $Y = 0,546023 + 0,000928024X - 0,00000169578X^2$ ,  $R^2 = 0,93$ .



**Figura 1** - Reação do espaço interdigital após 12 horas da inoculação de fitohemaglutinina da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.

Quando se avaliou a atividade fagocítica dos macrófagos da progênie suplementada e não suplementada, verificou-se que os níveis crescentes de Arg na dieta não afetaram ( $P > 0,05$ ) essa função (Tabela 10). Os macrófagos são células do sistema mononuclear fagocitário (McCorkle, 1998), integrantes da imunidade inata das aves, importantes também para a imunidade adaptativa (Abbas et al., 2008), atuando nos processos de defesa do organismo destruindo agentes estranhos e também secretando citocinas que atuam no processo inflamatório. As principais funções executadas por essa célula são a fagocitose, destruição de bactérias (Qureshi et al., 1986), secreção de prostaglandinas e citocinas e apresentação de antígeno para desenvolvimento da resposta imune celular (Abbas et al., 2008).

Segundo Johaniam (2009), são identificadas duas vias de ação imunomodulatória da Arg *in vivo*. A primeira ocorre através da ação da *arginase*, que converte a Arg em ureia e ornitina. Neste processo, ocorre a produção de poliaminas pela ação da *ornitina decarboxilase*. Esta rota da síntese de poliaminas pode ser o

caminho pelo qual a Arg aumenta a mitogênese dos linfócitos (Klein & Morris, 1978). A segunda via ocorre pela síntese de NO a partir da Arg pela ação do *óxido nítrico sintetase*, resultando na formação de óxido nítrico e citrulina. Essa rota é essencial para atividade citotóxica dos macrófagos.

**Tabela 10** – Médias e erros padrões da atividade fagocítica dos macrófagos dos frangos de corte suplementados e não suplementados com dietas contendo níveis crescentes de Arg.

Macrófagos com eritrócitos/macrófagos contados	
Arginina %	Progênie Suplementada
1,300	15,70±5,29
1,450	20,30±4,80
1,600	16,50±3,59
1,750	21,50±5,00
1,900	18,30±2,50
CV%	5,45
Regressão	<i>ns</i>

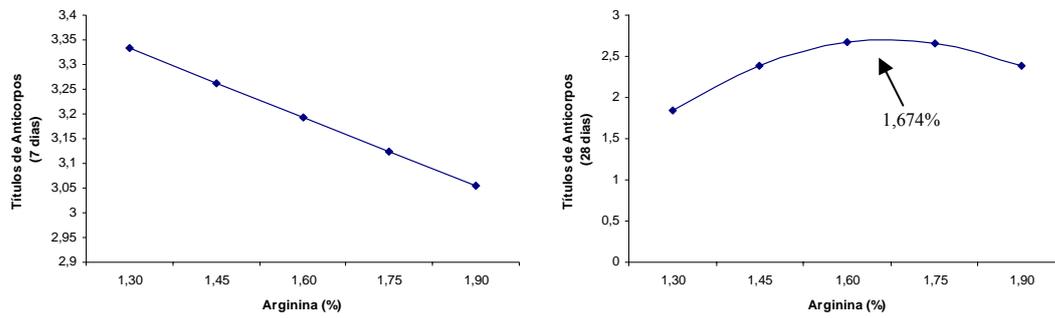
*ns* = Não significativo;

Quando avaliados os títulos de anticorpos da progênie, verificou-se que a alimentação das matrizes com dietas contendo níveis crescentes de Arg não influenciou os títulos de anticorpos ( $P > 0,05$ ) da progênie não suplementada (Tabela 11). Para as aves suplementadas, verifica-se um efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) aos sete dias de idade, e efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) aos 28 dias de idade, em que o nível de 1,674% de Arg dig. proporcionou o maior título de anticorpos (Tabela 12).

Os resultados observados na progênie suplementada mostraram-se compatíveis com as respostas das aves a campo, nas quais inicialmente são observados maiores títulos de anticorpos decorrentes da imunidade materna, seguido de uma queda, que nas condições experimentais é resultado da neutralização desses anticorpos pelos antígenos vacinais, e por fim uma nova elevação dos títulos.

Este resultado concorda com o observado por outros autores. Tayade et al. (2006) demonstraram que a resposta vacinal contra o vírus da doença de Gumboro de frangos suplementados com 2% de Arg foi 20% mais eficiente que a resposta induzida apenas pela vacina. A elevada resposta humoral e a proteção observada no grupo de aves vacinado e com dieta suplementada com Arg, segundo estes autores, pode ser atribuída ao número de funções imunorregulatórias da Arg sobre o sistema imunológico. A Arg é necessária para a diferenciação das células B e também está envolvida na liberação destas células da bolsa ou da medula óssea (De Jonge et al.,

2002). Ainda, segundo Abdukalykova e Ruiz-Feria (2006), níveis adicionais de Arg podem acelerar a produção de anticorpos em frangos de corte.



**Figura 2** - Título de anticorpos da progênie suplementada com dietas contendo níveis de Arg.

**Tabela 11** – Médias e erros padrão dos títulos de anticorpos da progênie não suplementada, em diferentes idades, provenientes de matrizes alimentadas com dietas contendo níveis de Arg.

<i>Idade</i>	<i>Níveis de Arginina na dieta materna (%)</i>					<i>CV(%)</i>	<i>Regressão</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
	<i>0,943</i>	<i>1,093</i>	<i>1,243</i>	<i>1,393</i>	<i>1,543</i>			
07 dias	3,17±0,99	3,23±0,11	3,01±0,08	3,24±0,07	3,16±0,15	8,31	<i>ns</i>	-----
14 dias	2,62±0,09	2,57±0,03	2,42±0,11	2,62±0,11	2,57±0,03	7,92	<i>ns</i>	-----
21 dias	2,32±0,10	2,47±0,05	2,11±0,10	2,28±0,11	2,41±0,07	9,41	<i>ns</i>	-----
28 dias	2,41±0,28	1,86±0,14	2,48±0,22	2,31±0,19	2,14±0,24	23,78	<i>ns</i>	-----
35 dias	2,75±0,17	2,84±0,15	2,71±0,13	2,86±0,20	2,91±0,11	13,61	<i>ns</i>	-----

**Tabela 12** – Médias e erros padrão dos títulos de anticorpos da progênie alimentada com dietas suplementadas com níveis de Arg, em diferentes idades.

<i>Idade</i>	<i>Níveis de Arginina (%)</i>					<i>CV(%)</i>	<i>Regressão</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
	<i>1,300</i>	<i>1,450</i>	<i>1,600</i>	<i>1,750</i>	<i>1,900</i>			
07 dias	3,31±0,12	3,36±0,10	3,01±0,12	3,29±0,09	2,99±0,09	7,98	Linear <sup>1</sup>	0,12
14 dias	2,26±0,08	2,18±0,19	2,19±0,23	2,07±0,14	2,45±0,09	17,15	<i>ns</i>	-----
21 dias	2,32±0,07	2,39±0,06	2,36±0,06	2,46±0,12	2,40±0,09	8,29	<i>ns</i>	-----
<i>Idade</i>	<i>Níveis de Arginina (%)</i>					<i>CV(%)</i>	<i>Regressão</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
	<i>1,150</i>	<i>1,300</i>	<i>1,450</i>	<i>1,600</i>	<i>1,750</i>			
28 dias	1,71±0,35	2,79±0,09	2,98±0,06	2,78±0,19	2,40±0,12	19,61	Quadrática <sup>2</sup>	0,26
35 dias	2,68±0,23	2,99±0,12	2,96±0,18	2,80±0,23	3,13±0,11	15,35	<i>ns</i>	-----

### **Conclusão**

As dietas suplementadas com Arg mostraram-se necessárias para o ótimo desempenho do sistema imune celular e humoral da progênie, não bastando somente à suplementação das matrizes de corte.

### **Referências**

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. 6<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 566p, 2007.
- ABDUKALYKOVA S., RUIZ-FRIA C. Arginine and vitamin E improve the cellular and humoral immune response of broiler chickens. **International Journal Poultry Science**, v. 5, p.121-127, 2006.
- BALL R.O., URSCHER, K.L, PENCHARZ, P.B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. **Journal of Nutrition**, v.137, p.1626-1641, 2007.
- BELLAMY, D.; MOHAMED, K. A comparative study of age involution of the bursa of Fabricius and thymus in birds. **Poultry Science**, v.4, n.2, p.107–114, 1982.
- BRETT, D.S.; SNYDER S.H. Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. **Annual review of biochemistry**, v.63, p.175-195, 1994.
- COLLINS, T. Inflamação aguda e crônica. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins-Patologia estrutural e Funcional**, 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.44-78, 2000.
- CORRIER, D.E.; DeLOACH, J.R. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. **Poultry Science**, v.69, n.3, p.403–408, 1990.
- DE JONGE W.J., KWIKKERS K.L., TE VELDE A.A., VAN DEVENTER S.J.H., et al. Arginine deficiency affects early B cell maturation and lymphoid organ development in transgenic mice. **Journal Clinical Investigation**, v.110, p.1539-1548, 2002..
- DE TOLOSA, E.M.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A.; NETO, A.G.F. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2.ed. Barueri: Manole, 331p., 2003.
- FERREIRA, S. R. **Desempenho e resposta imune de frangos de corte, provenientes de matrizes de diferentes idades, alimentados com rações a base de sorgo, suplementadas com vitamina A ou parede de levedura**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2007. 164p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, 2007.

- JAHANIAN, R. Immunological responses as affected by dietary protein and arginine concentrations in starting broiler chicks. **Poultry Science**, v. 88, p. 1818-1824, 2009.
- JEURISSEN, S.H.M., VERVELDE, L, JANSE, E.M., Structure and function of lymphoid tissues of the chicken. **Poultry Science**, p. 183 -207, 1994.
- KENNEDY J.A, KIRK S.J, MCCRORY D.C, et al.. Modulation of immune function and weight loss by L-arginine in obstructive jaundice in the rat. **British Journal of Surgery**, v. 819, p.1199-1201, 1994.
- KLEIN, D., MORRIS, D.R. Increased arginase activity during lymphocyte mitogenesis. **Biochemistry Physiology Research Communications**, v. 81, p. 199-204, 1978.
- KIDD, M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.650-657, 2004.
- KOBAYASHI T, YAMAMOTO M, HIROI T, et al.. Arginine enhances induction of T helper 1 and T helper 2 cytokine synthesis by Peyer.s patch alpha beta T cells and antigen-specific mucosal immune response. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.62, p.2334-2340, 1998.
- LE FLOCH N, MELCHIOR D, OBLED C. Modification of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. **Livestock Production Science**, v.87, n.(1-2), p. 37-45, 2004.
- LEBIEN, T.W. Arginine: an unusual dietary requirement of pre-B lymphocytes? **The Journal of Clinical Investigation**, v.110, p.1411-1413, 2002.
- LEWIS B, LANGKAMP-HENKEN B. Arginine enhances in vivo immune responses in young, adult and aged mice. **Journal of Nutrition**, v.130, n.7, p.1827-1830, 2000.
- MONTASSIER, H.J. Enfermidades do sistema imune. *In*: JR. BERCHIERI, A.e MACARI, M. (Eds.). **Doenças das aves**. 1.ed., Jaboticabal:FUNEP/UNESP, p.141-150, 2000.
- MORGULIS, M.S. Imunologia Aplicada. *In*: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZÁLES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2.ed. São Paulo: FUNEP, p.231-245, 2002.
- NEWSHOLME P., BRENNAN L., RUBI B., et al. New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes. **Clinical Science**, v.108, p.185.194, 2005.
- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L., et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia,186p,.2005.

SAULE, A.; RUIZ-FERIA, C.A. Arginine and vitamine E improve the cellular and humoral response of broiler chickens. **International Journal Poultry Science**, v.5, n.2, p. 121-127, 2006.

TAYADE C, JAISWAL TN, MISHRA SC, MADHURI K. L-Arginine stimulates immune response in chickens immunized with intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. *Vaccine*, v.24, p.552-560, 2006.

UNI Z. & FERKET R.P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.101-111, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **SAEG**; sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário. Versão 7.1. Viçosa, 150p, 1997.

## VI - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação com Arg, na dieta das aves, mostrou-se crucial para o bom desempenho, tanto para as matrizes, quanto para os frangos de corte.

A utilização de dietas com suplementação de Arg afetou adversamente as matrizes de corte, bem como a sua progênie. Houve uma melhora na produção de ovos das matrizes de corte, provavelmente pelo efeito da Arg sobre o hormônio luteinizante. Da mesma maneira essa suplementação aumenta o tamanho dos ovos em detrimento da sua gravidade específica.

A ação da Arg sobre o desempenho da progênie suplementada foi marcante quando comparada com a progênie não suplementada, principalmente no período inicial de desenvolvimento (1 a 21 dias de idade), em que a exigência dessas aves realmente é maior, mostrando que a suplementação com Arg é necessária para o ótimo desenvolvimento. Esse melhor desenvolvimento reflete na melhora do rendimento de carcaça e cortes com uma carne de qualidade ótima, uma vez que essa suplementação promoveu uma diminuição da deposição de gordura nessa carcaça.

Avaliando os parâmetros morfológicos dos ossos, a suplementação de Arg na dieta da progênie melhora essas características, porém sugerem-se estudos complementares para que se possa entender melhor o mecanismo de ação da Arg nesse tecido.

A suplementação de Arg nas dietas, acima das exigências, melhorou a resposta imune celular e humoral da progênie, principalmente quando essas receberam dietas contendo níveis de Arg, o que pode ser atribuído ao número de funções imunorregulatórias de Arg sobre o sistema imunológico.