

SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS E MINERAIS ORGÂNICOS NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE FRANGOS DE CORTE EM ESTRESSE POR CALOR ¹

CHRISTINE LAGANÁ², ANDRÉA MACHADO LEAL RIBEIRO³, FELIX HILÁRIO DIAZ GONZALEZ⁴, LUCIANA DE ALMEIDA LACERDA⁴, SILVIA RESENDE TERRA⁴, PATRÍCIA RICK BARBOSA⁴

¹Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Recebido para publicação em 07/01/05. Aceito para publicação em 01/06/05.

²Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Leste Paulista. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Caixa postal 01, CEP 13910-000, Monte Alegre do Sul, SP. E-mail: christine@aptaregional.sp.gov.br

³Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa postal 776, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS.

⁴Departamento de Patologia Clínica Veterinária, LACVet, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS.

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dietas suplementadas com vitaminas C e E e minerais orgânicos Zn e Se sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de frangos de corte sob estresse cíclico por calor (EPC) (25 a 32°C) ou ambiente termoneutro (ATN) (21 a 25°C), ambos com 70% de umidade relativa. Utilizou-se um delineamento fatorial 4x2, com quatro níveis de suplementação vitamínico-mineral (T1-dieta controle: 60/30 UI vit E na ração inicial e crescimento, respectivamente; sem vit C, 80 ppm de Zn inorgânico e 0,3 ppm de Se inorgânico; T2 -dieta controle + 100 UI vit E e 300 ppm vit C kg⁻¹; T3- dieta controle + 40 ppm de Zn orgânico e 0,3 ppm de Se orgânico kg⁻¹; T4 -dieta controle + suplementação dos níveis de T2 e T3) e dois ambientes: Estresse Cíclico por Calor e Ambiente Termoneutro, a partir do 14º dia de idade. O período experimental foi de 1 a 35 dias de idade das aves. No abate, aos 35 dias, 10mL de sangue de seis aves de cada tratamento foram coletados da jugular e encaminhados para análise de proteínas totais, glicose, fructosamina, albumina, globulinas, hematócrito, hemoglobina, contagem total e diferencial de leucócitos e relação heterófilos/linfócitos (H/ L). Os órgãos linfóides bursa e baço das mesmas aves foram extraídos e pesados e a relação peso vivo/peso órgãos linfóides foi calculada. O estresse provocou redução do peso absoluto e relativo de bursa e de baço, redução na concentração de hemoglobina e aumento da contagem de heterófilos e da relação H/ L das aves. Já os tipos de suplementação vitamínico e/ou mineral não afetaram os parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos dos frangos em estresse cíclico por calor.

Palavras-chave: ácido ascórbico, dl-alfa-tocoferol, estresse por calor, selênio, zinco

VITAMINIC AND ORGANIC MINERALS SUPPLEMENTATION ON BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN HEAT STRESSED BROILERS

ABSTRACT- The objective of this study was to evaluate the effect of diets supplemented with vitamins C and E and organic minerals Zn and Se on hematological and serum biochemical parameters in broilers under cyclic heat stress (HS) (25 to 35°C or termoneutral environment (TN) (21 to 25°C), both with 70% humidity. A 4x2 factorial design was used with four levels of vitamin-mineral supplementation (T1-control diet: 60/30 UI vitamin E in starter and grower diets, respectively; no vitamin C, 80 ppm of inorganic Zn e 0.3 ppm of inorganic Se); T2- control diet + 100 UI vit E and 300 ppm vit C/kg; T3- control diet + 40 ppm of organic Zn and 0.3 ppm of organic Se/kg and T4- control diet + supplementation levels of T2 and T3) and two environments: cyclic

heat stress and termoneutral, from the 14^o day of age. The experimental period was from 1 to 35 days of age. By the slaughtering, at 35 days of age, 10mL of blood from six birds per treatment were collected from jugular and sent to analysis of total proteins, glucose, fructosamine, albumin, glubulin, hematocrit, hemoglobin, total and differential leukocyte counting and heterophils/lymphocytes (H/L). The lymphoid organs bursa and spleen were weighted and the weight of lymphoid organs/ body weight ratio was established. The cyclic heat stress caused a reduction in the absolute and relative weight of bursa and spleen), reduction in the hemoglobin concentration and an increase in heterophils counting and H/L ratio. In the other hand, types of vitamin and/ or mineral supplementation did not affect hematological and serum biochemical parameters of broilers under cyclic heat stress.

Key Words: ascorbic acid, dl-alpha-tocopherol, heat stress, selenium, zinc

INTRODUÇÃO

O estresse é uma síndrome na qual se registram profundas modificações metabólicas e bioquímicas. THAXTON e SIEGEL (1982) e MILLER e QUERSHI (1991) demonstraram que aves expostas a estresse ambiental de várias naturezas apresentavam depressão do sistema imunológico. Quando galinhas foram expostas a temperaturas variando de 32,2 a 43°C, por períodos curtos de temperaturas elevadas intermitentes, ou ciclos de altas temperaturas constantes, a resposta imune foi reduzida significativamente (MILLER e QUERSHI, 1991).

O número de leucócitos no sangue dos frangos varia entre 12000 até 30000 mL⁻¹. No entanto, esse número pode variar em função do sexo, da idade, das condições de estresse e de doenças. A contagem diferencial de células no sangue tem mostrado que do total de leucócitos, 60% a 65% são linfócitos, 25 a 30% heterófilos, 2% eosinófilos, 1,7% basófilos e 10% monócitos. Os achados de contagem diferencial mostram que a proporção normal de heterófilos: linfócitos (H/L) está ao redor de 1:2. Entretanto, quando os frangos são submetidos a condições de estresse essa relação aumenta, tendo em vista que situações estressoras aumentam a quantidade de heterófilos na circulação (MACARI e LUQUETTI, 2002).

Em geral, os quadros de estresse se manifestam com diferentes graus de involução do sistema linforreticular. A liberação de corticosterona pode ocasionar a involução do tecido linfóide (timo, bursa de Fabrício e baço) e a supressão da imunidade humoral e daquela medida por células (ROSALES *et al.*, 1989). O peso proporcional dos órgãos linfóides primários e sua histologia são freqüentemente adotados para avaliar a resposta de casos de estresse (REVIDATTI *et al.*, 2002).

Pesquisas têm demonstrado que aves estressadas necessitam de maior aporte de vitaminas e minerais (COELHO e MCNAUGHTON, 1995). Isto se deve às alterações no metabolismo nestas condições. Além disso, nas épocas quentes do ano o consumo voluntário de ração diminui e a estabilidade das vitaminas nos suplementos tende a diminuir no verão. No entanto, isto não quer dizer que a suplementação vitamínica resolva, por si, problemas de EPC (RIBEIRO e LAGANÁ, 2002). Ainda assim, poucos experimentos têm sido conduzidos para determinar exigências e disponibilidade destes nutrientes no calor.

A vitamina C e a vitamina E interagem metabolicamente: a vitamina C melhora a atividade antioxidante da vitamina E ao reduzir os radicais de tocoferoxila para a forma ativa da vitamina E (JACOB, 1995) ou ao poupar a vitamina E disponível (RETSKY e FREI, 1995). A suplementação com ácido ascórbico melhora a resposta imunológica e a resistência a doenças em aves (PARDUE *et al.*, 1985). PARDUE e THAXTON (1986) e PARDUE *et al.* (1985) observaram que o desempenho e a função imunológica de aves submetidas a estresse térmico melhorou significativamente ao aumentar os níveis de vitamina C e vitamina E (EL-BOUSHY, 1988). TENERDY (1989) sugeriu que a suplementação de vitamina E é muito efetiva nos casos de estresse por calor, porque ela pode reduzir os efeitos negativos dos corticosteróis liberados no estresse. A vitamina E protege, conseqüentemente, células e tecidos dos danos oxidativos induzidos pelos radicais livres. SAHIN e KUCUK (2001) observaram que a digestibilidade dos nutrientes aumentou quando dietas de codornas japonesas estressadas pelo calor (34°C) foram suplementadas com vitamina C (125 e 250 mg kg⁻¹ de dieta) e selênio (0,1 ou 0,2 mg kg⁻¹ de dieta).

A utilização de minerais orgânicos vem sendo

bastante pesquisada, pois estes apresentam uma maior biodisponibilidade, são transportados mais facilmente e armazenados por mais tempo que os correspondentes inorgânicos (MAIORKA e MACARI, 2002). BONNET *et al.* (1997) e Summers (1994) sugeriram que os benefícios específicos com a suplementação mineral existem, independente dos seus efeitos no consumo de água. Dentre esses, o selênio (Se) apresenta importantes funções, atuando como antioxidante, como componente enzimático (enzima glutationa peroxidase) e também aumentando a resposta imune através de uma maior leucocitose de patógenos e maior resposta humoral e celular. Além disso, este mineral é requerido para funções normais do pâncreas (MACPHERSON, 1994), inclusive na secreção de enzimas digestivas, melhorando com isso a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho.

O zinco (Zn) é um mineral muito importante devido seu papel no funcionamento do sistema imune, devido sua função associativa com enzimas críticas para a integridade das células envolvidas na resposta imune (DARDENNE *et al.*, 1985). É co-fator de muitas enzimas essenciais, como a lactato desidrogenase, fosfatase alcalina e anidrase carbônica (MAIORKA e MACARI, 2002). É possível que a exigência de zinco seja aumentada durante a exposição às condições de EPC.

Com a finalidade de apresentar alternativas para reduzir o estresse por calor em aves, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de dietas suplementadas com vitamina C, vitamina E, zinco e selênio orgânicos nos parâmetros morfológicos, bioquímicos e hematológicos das aves de 35 dias, submetidas a estresse por calor.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ensino Zootécnico (LEZO) da UFRGS e foram utilizados 468 pintos de corte machos, da linhagem Ross 308, de 1 dia de idade. O peso inicial foi de 44 g, e as aves foram criadas até os 14 dias em 78 gaiolas metálicas, em sala climatizada, com temperatura inicial de 31°C ±1, decrescendo gradativamente até atingir aproximadamente 24°C ±1 aos 14 dias. As aves no período inicial foram distribuídas aleatoriamente (seis em cada gaiola) e divididas em quatro tratamentos que diferiram entre si apenas na suplementação de vitaminas e/ou minerais. Os tra-

tamentos foram assim distribuídos: T1 - dieta controle (80 ppm de Zn inorgânico; 0,3 ppm Se inorgânico; 60 UI kg⁻¹ de vit E, contidos no suplemento vitamínico-mineral); T2 -suplementação vitamínica de 100 UI vit E e 300 ppm vit C kg⁻¹ de ração; T3 -suplementação mineral de 40 ppm Zn e 0,3 ppm Se kg⁻¹ de ração; T4 - suplementação vitamínico-mineral nos níveis de T2 + T3.

A vitamina E foi suplementada na forma de acetato dl- μ tocoferol (ROCHE, Brasil) e a vitamina C na forma de ácido ascórbico (ROCHE, Brasil). O zinco e o selênio foram suplementados na forma orgânica (ZINPRO, Brasil).

Aos 14 dias, 244 aves (quatro aves por gaiola) foram distribuídas em dois ambientes, num esquema fatorial 4 X 2, isto é, quatro tipos de suplementação vitamínico-mineral e dois ambientes, com oito repetições/tipo de suplementação no estresse cíclico por calor (EPC) e nove repetições/tipo de suplementação no ambiente termoneutro (ATN).

Foi considerado EPC, 12 horas de temperatura a 25°C, três horas de 25 a 32°C, seis horas 32°C e três horas de 32 a 25°C diariamente e por ATN, temperaturas diárias na faixa de 21 a 25°C. A umidade relativa do ar ficou em torno de 70% nos dois ambientes. O monitoramento da temperatura e da umidade relativa do ar de cada ambiente foi feito por termômetro de bulbo seco e bulbo úmido e de máxima e mínima, colocados a altura intermediária das gaiolas. O programa de luz adotado durante o experimento foi contínuo (24 horas de luz artificial dia-1). As aves receberam ração à vontade e mesmo manejo durante todo o período experimental.

As aves receberam uma dieta inicial de 1 a 21 dias e de crescimento de 22 a 35 dias (Quadro 1). A única diferença na suplementação das dietas nas duas fases foi a quantidade de vitamina E que foi de 60 UI e de 30 UI kg⁻¹ de ração para ração inicial e de crescimento, respectivamente. As suplementações mantiveram-se as mesmas nas duas fases.crescimento para frangos de corte no período experimental O abate dos animais foi realizado aos 35 dias para todos os tratamentos. A seqüência das práticas de abate foi a seguinte para cada repetição: pesagem das aves, morte por deslocamento cervical, sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e resfriamento em *chiller* por 40 minutos. O sangue de 12 aves com peso médio de cada tratamento foi

Quadro 1. Composição em ingredientes e nutricional das dietas controle¹ inicial e de crescimento para frangos de corte no período experimental

Ingrediente	Dieta Inicial (1-21 dias)	Crescimento (22-35 dias)
Milho	56,88	60,61
Farelo de soja (46%)	36,08	31,61
Óleo de soja	2,78	3,67
Calcário	1,43	1,39
Fosfato bicálcico	1,80	1,68
Sal	0,47	0,47
Suplemento vitamínico	0,05	0,05
Suplemento mineral ³	0,10	0,10
Hydroxy analog (88%) ⁴	0,23	0,25
Colina	0,03	0,03
Anticoccidiano	0,025	0,05
Nível nutricional		
EM (kcal kg ⁻¹)	3000	3100
PB (%)	21,5	19,50
Ca	1,0	0,95
P disp	0,45	0,42
Lis	1,25	1,14
Met + Cis	0,90	0,83
Zn (ppm)	80	80
Se (ppm)	0,3	0,3
Vit E (mg kg ⁻¹)	60	30

¹ níveis calculados baseados em Rostagno *et al.* (2000).

² Suplemento vitamínico (Conteúdo por kg/ração). Vit.A. 10.000 UI; Vit D3 3.000 UI; Vit E 60 mg; Vit K3 3 mg; Vit B1 3 mg; Vit. B2 8 mg; Vit B6 4 mg; Vit B12 0,014 mg; Ácido Pantotênico 20 mg; Niacina 50 mg; Ácido Fólico 2 mg; Biotina 0,15 mg.

³ Suplemento mineral (Conteúdo por kg/ração) : Fe 40 mg; Zn 80 mg; Mn 80 mg; Cu 10 mg; I 0,7 mg; Se 0,3 mg.

⁴Bioequivalência utilizada.

coletado da jugular, na ocasião da sangria e encaminhado para análises bioquímicas/ hematológicas no laboratório de análises clínicas da faculdade de veterinária da UFRGS. Ao todo 48 aves foram analisadas (seis aves por tratamento). Foram retirados, por ave, 10mL de sangue: 5 mL em tubo a vácuo com anticoagulante EDTA a 10% para as análises hematológicas e 5 mL em tubo a vácuo sem anticoagulante para as análises bioquímicas.

Os parâmetros sanguíneos estudados foram: hematócrito, concentração de hemoglobina, conta-

gem total e diferencial de leucócitos (heterófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos), avaliação da morfologia celular e relação heterófilos/linfócitos (H/L). Do perfil bioquímico sérico foram analisadas: proteínas totais, glicose, fructosamina, albumina e globulinas.

O hematócrito foi realizado através de microcentrifugação. A contagem total e diferencial dos leucócitos e a avaliação da morfologia celular foram realizadas através da análise dos esfregaços sanguíneos corados, utilizando o corante de "Wright". A determinação das proteínas totais, glicose, fructosamina, albumina e hemoglobina foram feitas por técnicas fotolorimétricas utilizando kits reagentes da marca Labtest (Labtest Diagnóstica, Brasil).

Os órgãos linfóides (baço e bursa) das mesmas 48 aves usadas para a coleta de sangue foram retirados, secos em papel toalha e pesados em balança de precisão para determinação do peso relativo dos órgãos linfóides.

As análises de variância foram realizadas por meio do procedimento GLM (General Linear Models) do SAS (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento de órgãos linfóides

O ambiente influenciou os pesos absolutos (P=0,005) e relativos (P=0,03) de bursa e baço (P=0,006 e P=0,02, para peso absoluto e relativo, respectivamente). (Quadro 2). Aves em EPC tiveram redução tanto absoluta quanto relativa destes órgãos linfóides, da mesma forma que ROSALES *et al.* (1989). REVIDATTI *et al.* (2002) encontraram valores para peso relativo da bursa de 0,169 para frangos Ross, aos 45 dias, submetidos a estresse por manejo e 0,223 para aves controle. DONKER e BEUVING (1989) comprovaram que a infusão de corticosterona em frangos diminui o peso relativo do timo em 71%, da bursa em 57% e do baço em 35% e PUVADOLPIROD e THAXTON (2000) observaram peso relativo de timo reduzido em 65%, do baço em 27% e da bursa em 43% uma semana após injetarem doses de ACTH em frangos de corte de cinco semanas. Apesar das condições de EPC terem sido aplicadas às aves por apenas três

Quadro 2. Efeitos do ambiente (ATN e EPC) e do tipo de suplementação (vitamínico e/ou mineral) nos pesos absolutos e relativos* (%) de bursa (RBO) e baço (RBA) de frangos de corte aos 35 dias de idade

Fator Principal	Peso Absoluto Bursa (g)	Peso Absoluto Baço (g)	Peso Relativo Bursa (%)	Peso Relativo Baço (%)
Ambiente				
EPC (HS)	3,22 b	1,64 b	0,156 b	0,001 b
ATN (TN)	4,34 a	2,43 a	0,196 a	0,011 a
P	0,005	0,006	0,03	0,02
Tipo de suplementação				
T1 (controle)	3,42	1,92	0,163	0,0009
T2 (controle + vit)	4,08	2,17	0,185	0,0009
T3 (controle + min)	4,25	1,83	0,196	0,0009
T4 (control+vit+min)	3,37	2,23	0,158	0,0010
P	0,21	0,66	0,35	0,85
CV(%)	31,7	42,5	32,56	40,4

* Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo Teste F ($P < 0,05$)

semanas, a involução no sistema linfático foi observada, mesmo em ambiente de EPC cíclico. Os dados concordam com DONKER e BEUVING (1989), que afirmaram que o estresse causa involução nos órgãos linfóides primários e que os índices morfométricos bursais são bons indicativos de estresse.

O tipo de suplementação não influenciou o peso absoluto da bursa e do baço ($P=0,21$ e $P=0,35$ respectivamente), bem como não influenciou seus rendimentos ($P=0,66$ e $P=0,85$ respectivamente).

A suplementação vitamínico e/ou mineral que apresentou vantagens em termos de desempenho (LAGANÁ, 2005), não interferiu nas aves em EPC no sentido de reverter a atrofia dos órgãos linfóides. Bartlett e Smith (2003) também não observaram influência de dietas suplementadas com níveis diferentes de zinco (32, 40 e 100ppm) no peso relativo de órgãos linfóides de frangos sob condições de EPC cíclico.

Parâmetros Sangüíneos

No Quadro 3 pode ser observado que o ambiente não influenciou os valores do hematócrito ($P=0,56$), mas influenciou significativamente a hemoglobina ($P=0,001$). YAHAV *et al.* (1997) também observaram uma queda da concentração de

hemoglobina de 10,34 para 9,77g dL⁻¹ em frangos submetidos a estresse agudo por calor. Porém, ao contrário deste trabalho, os autores também observaram aumento de hematócrito. Mudanças no hematócrito e na concentração de hemoglobina sugerem mudanças não somente no volume celular mas também no número de eritrócitos. Uma diminuição no hematócrito em altas temperaturas estaria associada com a necessidade de reduzir a viscosidade do sangue durante a vasodilatação. Por outro lado, ALTAN *et al.* (2000) expuseram frangos de 42 dias a um estresse agudo de 39°C por 2 horas e não observaram efeitos significativos nos valores de hematócrito, apesar deste valor ter tido um decréscimo de 34,1 para 32,7 %.

A contagem de leucócitos totais não foi influenciada pelo ambiente ($P=0,23$). O EPC causou um aumento nos leucócitos totais, mas não o suficiente para se diferenciar estatisticamente da contagem nas aves do ATN. Diferentemente, COLES (1986), RUCKEBUSH *et al.* (1994) e CUNNINGHAM (1995) encontraram um aumento no número de leucócitos totais ou, até mesmo, leucocitose em aves com quadro de estresse.

Já a contagem de heterófilos foi influenciada pelo ambiente ($P=0,009$). As aves alojadas em EPC tiveram aumento de 29,5% no número de heterófilos, concordando com SCOPE *et al.* (2002), trabalhando

Quadro 3. Efeitos do ambiente (ATN e EPC) e do tipo de suplementação (vitamínico e/ou mineral) sobre parâmetros hematológicos de frangos de corte (35 dias de idade)

Fator Principal ¹	Ht	Hb	LT	HET	EOS	BASOF	MONO	LINF	H/ L
	%	G L ⁻¹	μL	μL	μL	μL	μL	μL	
Ambiente ²									
EPC	32,1	6,2b	32565	13474b	784	2069	727	15511	0,906a
HS									
ATN	32,5	6,8a	29604	9499a	1005	1665	950	16484	0,589b
TN									
P	0,56	0,001	0,23	0,009	0,28	0,16	0,12	0,48	0,001
Tipo de Suplementação									
T1 (controle)	32,3	6,4	30943	12459	853	2034	986	14611	0,878
T2 (controle + vit)	31,7	6,6	31588	10868	1080	1936	647	17057	0,676
T3 (controle + min)	33,5	6,4	32184	11740	922	2002	1031	16515	0,728
T4 (control+vit+min)	31,4	6,5	29623	10907	722	1496	691	15807	0,709
P	0,18	0,71	0,9	0,83	0,63	0,51	0,14	0,58	0,39
CV(%)	7	8,9	25,8	41,6	74,4	50,1	55,7	27,7	40,8

¹ Ht= hematócrito, Hb= hemoglobina, LT= leucócitos totais, HET= heterófilos, EOS= eosinófilos, BASOF= basófilos,

MONO= monócitos, LINF= linfócitos, H/L= relação heterófilo: linfócito

ATN= ambiente termoneuro; EPC= estresse cíclico por calor.

*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo Teste F (P<0,05)

com pombos e com ALTAN *et al.* (2000) que observaram que o EPC agudo de 39°C, por duas horas, em frangos de 42 dias, provocou um aumento de 34% nos heterófilos das aves.

O ambiente não influenciou a contagem de eosinófilos, basófilos e monócitos (P=0,28; P= 0,16 e P=0,12 respectivamente). ALTAN *et al.* (2000) também não encontraram diferenças na contagem de eosinófilos, mas observaram aumento nos basófilos de frangos expostos a EPC, por duas horas e SCOPE *et al.* (2002) não observaram diferenças na quantidade de basófilos e eosinófilos de pombos estressados. Segundo MAXWELL *et al.* (1992), a basofilia é resultado de situações de estresse agudo, onde há situações de risco de vida. No trabalho de SCOPE *et al.* (2002) os monócitos não foram susceptíveis a mudanças ocasionadas por transporte e estresse por manejo durante três horas.

Da mesma forma, os linfócitos não foram influenciados pelo ambiente (P=0,48). Apesar disso, foi observada uma pequena redução nos linfócitos das aves alojadas em EPC, concordando com MACARI e LUQUETTI (2002) que comentaram que situações de

estresse, nas quais ocorre liberação de hormônio corticotrófico (ACTH) determinam a redução da quantidade de linfócitos circulantes, colaborando para um aumento da relação heterófilo: linfócito.

Já a relação H/L foi influenciada pelo ambiente (P<0,0001). As aves nas condições de EPC tiveram aumento de 35% na relação H/L, que foi de 0,589 nas aves alojadas sob ATN e 0,906 nas aves alojadas sob EPC. Segundo CAMPBELL (1994), a relação heterófilo/linfócito é alterada como consequência do aumento de heterófilo e redução de linfócito. Os frangos de corte de mais de oito semanas mostram uma relação de 0,45 (Gross e SIEGEL, 1983), números muito próximos dos observados nas aves alojadas sob ATN do presente experimento. MITCHELL *et al.* (1992) relataram que têm sido observadas relações H/L superiores a 0,62 em frangos expostos a altas temperaturas e durante o transporte em caminhão por mais de três horas. Scope *et al.* (2002) também verificaram que a relação H/L de pombos estressados também aumentou em função do aumento na porcentagem de heterófilos e diminuição nos linfócitos. Os resultados também concordam com os obtidos por Laganá (2005) em outro experimento submetendo frangos ao EPC.

O tipo de suplementação na dieta não interferiu nos resultados de hematócrito ($P=0,18$), de hemoglobina ($P=0,71$), de leucócitos totais ($P=0,90$), de heterófilos ($P=0,83$), de eosinófilos ($P=0,63$), de basófilos ($P=0,51$), de monócitos ($P=0,14$), de linfócitos ($P=0,58$) e de H/L ($P=0,39$). Contrariamente, CAMPO e DÁVILA (2000) observaram que galinhas estressadas pelo calor e alimentadas com dietas suplementadas com 1000 ppm de vitamina C, 250 ppm de vitamina E, 0,5% de triptofano e 250 ppm niacina tiveram significativa linfopenia. PUTHPONGSIRIPORN *et al.* (2001) concluíram que a suplementação de 65 UI de vitamina E kg^{-1} na dieta durante o estresse por calor elevou a proliferação de linfócitos. Apesar de não significativo, no presente experimento houve aumento de linfócitos nos tratamentos suplementados, mas sem interação sig-

nificativa entre ambiente e tipo de suplementação.

Quanto aos parâmetros bioquímicos (Quadro 4), a glicose não foi influenciada pelo ambiente ($P=0,23$). Esta observação concorda com REVIDATTI *et al.* (2002), que não encontraram diferenças significativas para a glicose de frangos submetidos a estresse por manejo. Contrariamente, PUVADOLPIROD e THAXTON (2000) encontraram valores diferentes na glicose de frangos injetados com hormônio ACTH. Segundo estes mesmos autores, a hiperglicemia se relaciona com quadros de estresses agudos, nos quais o estressor atua de forma súbita e o comportamento da hipoglicemia é menos claro, quando se trata de estressores crônicos, os quais influem com o metabolismo lipídico.

Quadro 4. Efeitos do ambiente (ATN e EPC) e do tipo de suplementação (vitamínico e/ou mineral) sobre alguns parâmetros bioquímicos séricos de frangos de corte de 35 dias de idade

Fator Principal	Glicose (mmol dL ⁻¹)	Proteínas totais (g L ⁻¹)	Albumina (g L ⁻¹)	Globulinas (g L ⁻¹)	Fructosamina (mmol L ⁻¹)
Ambiente ¹					
EPC (HS)	12,69	32,56	17,11b	15,65	1,16
ATN (TN)	12,12	32,71	18,26a	14,53	1,13
P	0,23	0,88	0,06	0,20	0,64
Tipo de Suplementação					
T1 (controle)	12,58	31,92	17,94a	13,98	1,12b
T2 (controle+ vit)	12,24	31,85	16,42b	15,51	1,34a
T3 (controle + min)	12,58	34,52	18,45a	16,48	1,00b
T4 (controle+vit+min)	11,22	32,23	17,94a	14,38	1,11b
P	0,91	0,26	0,09	0,20	0,01
CV(%)	12,6	10,3	11,0	18,9	19,2

¹ ATN= ambiente termoneutro; EPC= estresse cíclico por calor

*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si estatisticamente

ATN= ambiente termoneutro; EPC= estresse cíclico por calor.

*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t ($P<0,05$)

Apesar do conhecido efeito que os corticosteróides possuem sobre o metabolismo nitrogenado, também não foram encontradas diferenças nos níveis plasmáticos das proteínas totais das aves, nos diferentes ambientes ($P=0,88$).

A albumina foi influenciada pelo ambiente ($P=0,06$). As aves sob condições de EPC tiveram redução de 6,3% na concentração de albumina, quando comparadas às aves alojadas em ATN. A con-

centração da albumina plasmática pode diminuir em situações como dano hepático crônico, déficit alimentar de fontes protéicas e parasitismos, devido à perda de proteínas pelo intestino (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). Nenhuma dessas possibilidades se aplica ao presente caso.

O ambiente não alterou os valores encontrados de globulinas ($P=0,20$). A fructosamina também não foi influenciada pelo ambiente ($P=0,64$).

O tipo de suplementação também não alterou a concentração de glicose das aves ($P=0,91$) nem de proteínas totais ($P=0,26$). Porém, foi observado que a suplementação vitamínica aumentou os níveis de albumina das aves ($P=0,09$). Os níveis de globulinas não foram influenciados pelo tipo de suplementação na dieta ($P=0,20$), mas aves suplementadas com vitaminas tiveram maiores níveis de fructosamina ($P=0,01$). A fructosamina reflete a concentração de glicose no plasma, em média, três semanas anteriores à dosagem (GONZÁLEZ e SILVA, 2003), mas é difícil encontrar-se uma explicação satisfatória da resposta acima observada.

CONCLUSÕES

O EPC provocou redução nos pesos absoluto e relativo dos órgãos linfóides (bursa e baço), redução na concentração de hemoglobina e aumento na contagem de heterófilos e na relação H/L das aves. Tanto o peso relativo dos órgãos linfóides quanto a relação H/L mostraram-se bons indicadores de estresse. Os tipos de suplementação vitamínica e/ou mineral não influenciaram os parâmetros bioquímicos séricos e hematológicos dos frangos em EPC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTAN, O.; ALTAN, A.; ÇABUC, M. Effects of heat stress on some blood parameters in broilers. **Turk Journal of Animal Science**, v.24, n.2, p.145-148, 2000.
- BARTLETT, J.R.; SMITH, M.O. Effects of different levels of zinc on the performance and Immunocompetence of broilers under heat stress. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.10, p.1580-1588, 2003.
- BONNET, S.; GERAERT, P.A.; LESSIRE, M. Effect of high ambient temperature on feed digestibility in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.6, p.857-863, 1997.
- CAMPBELL, T.W. Hematology. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. **Avian Medicine: Principles and application**. Fort Worth : Wingers Publishing, 1994. p.177-198.
- CAMPO, J.L.; DÁVILA, S.G. Changes in heterophils to lymphocyte ratios of heat-stressed chickens in response to dietary supplementation of several related stress agents. **European Poultry Science**, v.66, n.2, p.80-84, 2002.
- COELHO, M.B.; McNAUGHTON, J.L. Effect of composite vitamin supplementation on broilers **Journal of Applied Poultry Research**, v.4, n.2, p.219-229, 1995.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999. 454 p.
- DARDENNE, M.; SAVINO, W.; BORRIH, S. A zinc-dependent epitope of the molecule of thymulin, a thymic hormone. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 7035, 1985.
- DONKER, R.A.; BEUVING, G. Effect of corticosterone infusion on plasma corticosterone concentration, antibody production, circulating leukocytes and growth in chicken lines selected for humoral immune responsiveness. **British Poultry Science**, Edinburg, v.30, n.3, p.361-369, 1989.
- EL-BOUSHY, A R. Vitamin E affects viability, immune response of poultry. **Feedstuffs**, Minneapolis, v.60, n.4, p.20-26, 1988.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. 220 p.
- GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, College Station, v.27, n.4, p.972-979, 1983.
- JACOB, R. A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, v.15, n.4, p.755-766, 1995.
- LAGANA, C. **Otimização da produção de frango de corte em condições de estresse por calor**. 2005. 159 f. (Tese de doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Fisiologia Cardiovascular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 17-36.
- MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. ed. Jaboticabal: Funep/Unesp, 2002. p. 167-174.
- MAXWELL, M.H.; HOCKING, P.M.; ROBERTSON, G.W. Differential leucocyte responses to various degrees of food restriction in broilers, turkeys and ducks. **British Poultry Science**, Edinburg, v.33, n.2, p.177-187, 1992.
- MACPHERSON, A. Selenium, vitamin E and biological oxidation. In: Cole, D.J.; Garnsworthy, P.J. **Recent**

- Advances in Animal Nutrition.** 1 ed. Oxford: Butterworth and Heinemann's, 1994. p. 3-30.
- MILLER, L.; QURESHI, M.A. Introduction of heat shock proteins and phagocytic function of chicken macrophage following in vitro heat exposure. **Veterinary, Immunology and Immunopathology**, v.37, n.1, p. 34-42, 1991.
- MITCHELL, M.A.; KETTLEWELL, P.J.; MAXWELL, M.H. Indicators of physiological stress in broiler chickens during road transportation. **Animal Welfare**, v.2, n.1, p.91-103, 1992.
- PARDUE, S.L.; THAXTON, J.P. Evidence for amelioration of steroid-mediated immunosuppression by ascorbic acid. **Poultry Science**, Champaign, v.63, n.8, p.1262-1268, 1984.
- PARDUE, S.L.; THAXTON, J.P. Ascorbic acid in poultry: a review. **World's Poultry Science Journal**, v.42, n.2, p.107-123, 1986.
- PARDUE, S.L.; THAXTON, J.P.; BRAKE, J. Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.58, n.9, p.1511-1516, 1985.
- PUTHPONGSIRIPORN, U.; SCHEIDELER, S. E.; SELL, J. L. Effects of vitamin e and c supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1190-1200, 2001.
- PUVADOLPIROD, S.; THAXTON, J.P. Model of Physiological Stress in Chickens 1. Response Parameters. **Poultry Science**, Champaign, v.79, n.4, p.363-369, 2000.
- RETSKY, K.L.; FREI, B. Vitamin C prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. **Biochemica and Biophysica Acta**, v.3, n.1257, p.279-287, 1995.
- REVIDATTI, F.A.; FERNANDEZ, R.J.; TERRAES, J.C. Modificaciones del peso corporal y indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo. **Revista Veterinaria Argentina**, Argentina, v.12, n.1, 2002.
- RIBEIRO, A. M. L.; LAGANÁ, C. Estratégias nutricionais para otimizar a produção de frangos de corte em altas temperaturas. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DOS NEGÓCIOS DA PECUÁRIA, 2002, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: ENIPEC, 2002. CD-ROM.
- ROSALES, A.G.; VILLEGAS, P.; LUKERT, P.D. Isolation, identification and pathogenicity of two field strains of infectious Bursal Virus. **Avian Diseases**, College Station, v.33, n.1, p.35-41, 1989.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos** : composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 2000. 141p.
- RUCKEBUSH, L.P.; PHANEUF, L.P.; DUNLOP, R. F. **Fisiología de pequeñas y grandes especies**, México: Manual Moderno, 1994. 862 p.
- SAHIN, K.; KUCUK, O. Effects of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress (34°C). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.85, n.2, p.342-348, 2001.
- SAS. **SAS User's Guide (8.2)**. Statistical Analysis System Institute. Cary: 2001.
- SCOPE, A. et al. The influence of stress from transport and handling on hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). **Avian Diseases**, College Station, v.46, n.1, p.224-229, 2002.
- SUMMERS, J.D. **Heat Stress**. Ontario: Poultry Industry Center, 1994. 6 p. (Tech-Info 6).
- TENGERDY, R.P. Vitamin E, immune response, and disease resistance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.570, n.2, p.335-344, 1989.
- THAXTON, J. P.; SIEGEL, H.S. Immunodepression in young chickens by high environmental temperature. **Poultry Science**, Champaign, v.42, n.1, p.202-205, 1982.
- YAHAV, S. et al. Blood system response of chickens to changes in environmental temperature. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.4, p.627-633, 1997.