

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 04/09/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO ESTRESSE TERMICO E SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COM
ARGININA E VITAMINA C NO DESEMPENHO E IMUNIDADE DE FRANGOS DE
CORTE**

ÉRICA SANTOS MELLO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Botucatu
Agosto – 2020

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

**EFEITO DO ESTRESSE TERMICO E SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COM
ARGININA E VITAMINA C NO DESEMPENHO E IMUNIDADE DE FRANGOS DE
CORTE**

ÉRICA SANTOS MELLO

Orientador: Dr. José Roberto Sartori

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de Doutor
em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Agosto – 2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO TÉCNICA DE
BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Mello, Érica Santos.

Efeito do estresse termico e suplementação da dieta com arginina e vitamina C no desempenho e imunidade de frangos de corte / Érica Santos Mello. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Roberto Sartori Capes:
50403001

1. Frango de corte. 2. Imunidade. 3. Antioxidantes.
4. Expressão gênica. 5. Arginina. 6. Vitamina C.

BIOGRAFIA DO AUTOR

ÉRICA SANTOS MELLO – Nasceu no dia 29 de Dezembro de 1990, em São Sebastião do Paraíso – MG. Em 2010 ingressou no curso de Zootecnia da faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp, Campus de Ilha Solteira concluindo o Curso em Dezembro de 2014 como melhor aluna da VIII turma de Zootecnia. Sob orientação da Prof.^a Dr^a Rosangela da Silva de Laurentiz em 2012 foi bolsista Fapesp de iniciação científica com duração de 24 meses. Iniciou em 2015 mestrado em Ciência e Tecnologia Animal na mesma instituição sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz, bolsista CAPES e Fapesp de mestrado, concluindo em 2017. Ingressou no Doutorado em 2017 em Zootecnia no programada da pós graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp, Campus de Botucatu.

Dedico

Aos meus pais Maria Luiza e Paulo Roberto e ao meu irmão Victor pelo qual eu agradeço a Deus todos os dias. Família maravilhosa cheia de amor e carinho que sempre me apoiam para que eu conquiste meus objetivos, que me deram valores, ensinamentos e me fizeram ser quem eu sou hoje.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. José Roberto Sartori, muito obrigada pela confiança depositada em mim e principalmente pela oportunidade para realização desta tese.

Ao Dr. Samir Moura Kadri, pela amizade, ensinamentos e por disponibilizar seu tempo para me ajudar nas análises no laboratório que foram muito importantes para realização dessa tese.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi, por sempre me ajudar e tirar minhas dúvidas.

Ao Thiago pelas conversas, amizade e ajuda durante o experimento.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Aves (Lab Aves), pois, sem vocês não teria sido possível realizar o experimento para concretização dessa tese e por todo aprendizado que tive com vocês.

Aos meus amigos Evaristo Geraldelli Junior, Natalia da Paz, Pedro Pereira, Julianna Batistioli, Giovana Alves, Thais Zarili, Karina Barbosa, Leonarto Ito Perilo e a todos meus amigos do Rotaract de Botucatu Bons Ares por todos os momentos que tivemos de alegrias e dificuldades durante essa longa fase.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp de Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso.

Aos demais professores da FMVZ que passaram por minha vida durante a pós-Graduação pelo trabalho e por todo ensinamento passado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

A produção avícola no Brasil enfrenta um grande desafio que é o estresse por calor, ele pode afetar negativamente o sistema imunológico reduzindo o desempenho produtivo. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da suplementação da arginina e da vitamina C sobre o desempenho e resposta imune de frangos de corte em ambiente de termoneutralidade e estresse cíclico pelo calor. Foram utilizados 384 frangos de corte machos no período de 1 a 35 dias de idade. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 3x2x2: 3 níveis de inclusão de arginina digestível (100, 130 e 160% da exigência da arginina), dois níveis de inclusão de vitamina C (0 e 200 ppm) e 2 temperaturas (termoneutralidade e estresse cíclico por calor) totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 4 aves cada. Foram avaliados índices zootécnicos, hemograma completo, perfil bioquímico sorológico, peso relativo dos órgãos imunes, histomorfometria Bursa de Fabricius e expressão relativa dos genes *HSP 70* e *GPx* utilizando-se o gene actina como controle interno. O estresse cíclico por calor teve impactos negativos nos frangos de corte, reduzindo o consumo de ração e, por consequência, o ganho de peso aos 21 e 35 dias. Aos 21 e 35 dias de idade a suplementação de 200 ppm de vitamina C na dieta dos frangos de corte melhorou o consumo de ração e o ganho de peso dos frangos, entretanto, não influenciou o peso dos órgãos imunes e as concentrações séricas de glicose, colesterol e creatina quinase. Aos 35 dias de idade, a suplementação da arginina não influenciou o desempenho dos frangos, o peso dos órgãos, a concentração de glicose e de creatina quinase, mas influenciou a concentração sérica de colesterol. A vitamina C e a Arginina aumentaram a percentagem da área do córtex da Bursa. E a inclusão de arginina e vitamina C aumentou a expressão genica *HSP 70* e do *GPx*. Conclui-se os frangos de corte quando recebem vitamina C sofrem uma resposta ao estresse menos severa após exposição a altas temperaturas e a suplementação de Arginina e vitamina C aumentou a expressão genica do *HSP 70* dando maior resistência as aves durante períodos de calor e a expressão de *GPx* que indicando um aumento na atividade antioxidante de frangos de corte.

Palavras-chave: ácido ascórbico, aminoácido funcional, antioxidante, expressão gênica

ABSTRACT

Brazilian poultry production faces a major challenge that is heat stress, it affects negatively the immune system, reducing productive performance. The aim of this study was to evaluate supplementation of arginine and vitamin C effects on performance and immune response of broilers in thermoneutrality and cyclic heat stress environments. A total of 384 male broilers from 1 to 35 days of age were allotted in a 3x2x2 completely randomized factorial scheme: 3 digestible arginine levels (100, 130 and 160% of the requirement), two vitamin C levels (0 and 200 ppm) and 2 temperatures (thermoneutrality and cyclic heat stress), totaling 12 treatments with 8 repetitions of 4 birds each. Zootechnical indexes, complete blood count, serological biochemical profile, relative weight of immune organs, Bursa of Fabricius histomorphometry and relative expression of HSP 70 and GPx genes, using the actin gene as an internal control, were evaluated. Cyclic heat stress had negative impacts on broilers, reducing feed intake and, consequently, weight gain at 21 and 35 days. At 21 and 35 days of age, supplementation of 200 ppm of vitamin C improved feed intake and weight gain, however, did not influence immune organs weight and serum glucose concentrations, cholesterol and creatine kinase. At 35 days of age, arginine supplementation did not influence the performance of the chickens, the organs weight, concentration of glucose and creatine kinase, but it did influence the serum concentration of cholesterol. Vitamin C and Arginine increased the Bursa cortex percentage. The inclusion of arginine and vitamin C increased HSP 70 and GPx gene expression. In conclusion, broilers when receiving vitamin C undergo a less severe stress response after exposure to high temperatures, and supplementation of arginine and vitamin C increased the genetic expression of HSP 70 promoting greater resistance during periods of heat. The expression of GPx indicates an increase in antioxidant activity of broilers.

Keywords: ascorbic acid, functional amino acid, antioxidante, gene expression

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1. As três principais barreiras que protegem um animal contra a invasão microbiana. Cada barreira forma uma defesa mais eficaz do que a anterior (fonte: tizard, 2014).	7
Figura 2. Estrutura molecular da l-arginina.....	13
Figura 3. Mecanismo ilustrativo da ausência da biossíntese de l-arginina nas aves.	14
Figura 4. Estrutura molecular do ácido ascórbico (forma natural), ácido semidehidroascórbico (forma intermediária) e ácido dehidroascorbico (forma natural).	17

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Tratamentos experimentais.	28
Tabela 2. Temperaturas (°C) preconizadas para as câmaras termoneutra e de estresse cíclico.	28
Tabela 3. Composição percentual e nutricionais das rações basais.	30
Tabela 4. Oligonucleotídeos iniciadores de genes da actina, do HSP70 e do GPX.	33
Tabela 5. Desempenho dos frangos de corte alimentados com arginina digestível e vitamina c aos 7, 21 e 35 dias de idade.	34
Tabela 6. desdobramento da interação nível arginina e vitamina C para ganho de peso (GP) ganho de peso diário (GPD) e consumo de ração (CR) aos 7 e 21 dias de idade.	35
Tabela 7. Peso relativo de órgão do sistema imune e percentual do córtex da bursa de frangos de corte alimentados com arginina digestível e vitamina C criados em termoneutralidade e estresse por calor.	36
Tabela 8. Desdobramento da interação nível arginina, vitamina C e temperatura para o percentual do córtex da bursa.	37
Tabela 9. Dados séricos bioquímicos suplementados com arginina e vitamina C criados em termoneutralidade e estresse por calor.	38
Tabela 10. valores hematológicos de frangos de corte alimentados com arginina digestível e vitamina C aos 10 dias de idade.	39
Tabela 11. Desdobramento da interação nível arginina e temperatura para hematócrito, leucócitos e hemoglobina aos 10 dias.	40
Tabela 12. Desdobramento da interação nível arginina, vitamina C e temperatura para heterofilos aos 10 dias de idade.	40
Tabela 13. Valores hematológicos de frangos de corte alimentados com arginina digestível e vitamina C aos 35 dias de idade.	42
Tabela 14. Desdobramento da interação nível arginina, vitamina C e temperatura para hemácias de frangos de corte aos 35 dias.	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ARG	Arginina
CA	Conversão alimentar
CR	Consumo de ração
CV	Coeficiente de variação
dl	Decilitro
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GDP	Ganho diário de peso
GP	Ganho de peso
GPx	Glutathione peroxidase
HSP70	Heat shock proteins (Proteína de choque térmico)
L	Litro
Mg	Miligrama
UI	Unidade Internacional
Vit C	Vitamina C

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	3
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	4
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1. Imunologia aviaria	6
2.2. Nutrição na avicultura.....	8
2.3. Aminoácidos	10
2.4. Arginina	12
2.4.1. Absorção, metabolismo e funções da arginina.....	14
2.5. Vitaminas utilizadas na avicultura de corte	16
2.6. Vitamina C.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 2	23
1. INTRODUÇÃO	26
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1. Animais, instalações e delineamento experimental.....	27
2.2. Rações experimentais	28
2.3. Parâmetros avaliados	29
2.3.1. Desempenho zootécnico.....	29
2.3.2. Perfil bioquímico sorológico	31
2.3.3. Peso relativo de órgãos do sistema imune	31
2.3.4. Hemograma completo	31
2.3.5. Histomorfometria da Bursa de Fabrício.....	32
2.3.6. Expressão gênica da <i>HSP70</i> e <i>GPx</i>	32
3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	33
4. RESULTADOS	33
4.1. Desempenho zootécnico	33
4.2. Peso relativo de órgãos e histomorfometria de bursa de Fabrício.....	36
4.3. Perfil bioquímico	37

4.4. Hemograma completo, contagem diferencial de leucócitos.	38
4.5. Expressão genica da <i>HSP 70</i> e <i>GPx</i>	43
5. DISCUSSÃO.....	46
6. CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
1. Implicações.....	54

CAPÍTULO 1

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A avicultura brasileira evoluiu muito com o passar do tempo e tem se mostrado capaz de atender as grandes demandas de carne de frango do mercado nacional e mundial. Essa evolução foi consequência de um trabalho intenso de todos os envolvidos da cadeia produtiva através do aperfeiçoamento de técnicas de manejo e sanidade, do melhoramento genético e da nutrição que resultaram em um produto com qualidade, sanidade, sustentabilidade e que, aliados a preços competitivos, levaram o frango brasileiro a estar presente em mais de 150 países, sendo que, desde 2004, o Brasil é o maior exportador mundial (ABPA, 2020).

Em 2016, o Brasil consolidou-se como 2º maior produtor de carne de frango ultrapassando a China e ficando atrás somente dos Estados Unidos. Entretanto, em 2019 a China ultrapassou o Brasil que tornou-se o 3º maior produtor de carne de frango produzindo em 2019 um total de 13,245 milhões de toneladas de carne de frango; desta produção, 68% foram destinados ao mercado interno e 32% destinado às exportações (ABPA, 2020).

O Brasil é um país de clima tropical possuindo elevadas temperaturas durante o ano influenciando negativamente a produção avícola. As aves são animais homeotérmicos que mantêm a temperatura corpórea dentro de uma faixa constante independente das variações térmicas ambientais (NAVAS et al., 2016) mas, sua capacidade de retenção de calor é mais eficiente do que a capacidade de dissipação deste, tornando-as suscetíveis ao estresse pelo calor, sendo, atualmente, um dos fatores responsáveis pelo sucesso ou fracasso dos empreendimentos avícolas (NASCIMENTO; SILVA, 2008).

Na zona de conforto térmico ou de termoneutralidade, a produtividade é máxima e, considerando que todas as variáveis que afetam o desempenho estão em condições ótimas, não há gastos de energia ou atividade metabólica para manter a homeostase. Porém, em condições ambientes onde temperatura efetiva está fora da zona termoneutra, as aves utilizam seus mecanismos fisiológicos e comportamentais para manter a normotermia, gastando energia e alocando nutrientes que seriam destinados a produção, causando drástica queda nos índices zootécnicos.

Além disso, em situações de estresse térmico, o frango reduz o consumo de alimento para diminuir a produção de calor metabólico (BÍCEGO et al., 2017) diminuindo a disponibilidade de nutrientes para o metabolismo, prejudicando a taxa de crescimento, rendimento de carcaça e qualidade de carne e isto, associado ao gasto de energia para dissipar o calor, desfavorece ainda mais o ganho de peso (NAVAS et al., 2016), além de afetar negativamente a digestão e absorção de nutrientes, piorar a conversão alimentar, reduzir a

proporção de músculo do peito e aumentar a proporção de gordura abdominal (GERAERT et al., 1996).

A perda de calor corporal nas aves envolve mecanismos de perda de calor sensível e latente. Em ambientes quentes, quando a perda de calor sensível é reduzida e não é suficiente para manter a normotermia, há aumento da frequência respiratória resultando em perdas excessivas de dióxido de carbono (CO₂) podendo causar desequilíbrio ácido-base denominado de alcalose respiratória, que junto ao aumento da temperatura corporal (hipertermia), pode levar à alta mortalidade das aves (BORGES et al., 2003).

Além disso, o estresse é responsável pela imunossupressão em função de complexos mecanismos que são desencadeados e que podem atuar no sistema imunológico das aves comprometendo suas defesas. Em condições de estresse há aumento da secreção glicocorticoides e da presença de aminas biogênicas na corrente sanguínea. Os glicocorticoides estão associados ao aumento de suscetibilidade às doenças, involução do tecido linfóide, modificações na dinâmica de células imunológicas circulantes, supressão de citocinas, entre outros efeitos indesejáveis. As aminas não atuam somente sobre as respostas imunológicas mas, também, favorecendo o crescimento de microrganismos, sugerindo que as aminas podem ter um efeito direto no metabolismo de microrganismos (SANTIN et al., 2017).

O sistema imunológico afeta diretamente a obtenção de altos níveis zootécnicos de produção, pois é responsável pelos mecanismos que visam proteger o organismo contra patógenos, aos quais os frangos estão expostos em diferentes níveis nos locais de criação. Além disso, afeta todas as funções fisiológicas, que podem ser comprometidas em situação de baixa imunidade associadas à alta incidência de desafios. Deste modo, é de suma importância que o sistema imune esteja atuando de forma eficiente para garantir a saúde das aves e impedir a diminuição do desempenho produtivo (SANTIN et al., 2017).

A nutrição se constitui em um dos principais fatores de sucesso e de retorno econômico na produção de frangos de corte. Há vários anos a nutrição deixou de ser trabalhada apenas como maneira de atender as exigências nutricionais, maximizar o desempenho dos frangos e prevenir deficiências de nutrientes e, atualmente, passou a ser vista como uma atraente forma de modular e promover respostas imunológicas mais eficientes nas aves, mas ainda faltam conhecimentos para o entendimento de como esse tipo de interferência afeta o sistema imune (SANTIN et al., 2017).

Portanto, é importante para a produção avícola que a nutrição caminhe junto com estudos da saúde animal, visto que a nutrição pode modular quantitativa e qualitativamente

precursora de compostos entre eles a glutamina pela via da prolina (Wu, 2013) e de acordo com Zulkifli *et al.* (2016) o fornecimento de glutamina + ácido glutâmico aumentou, em frangos de corte, tolerância ao calor conforme medido pela expressão da proteína de choque térmico (HSP). Sugere-se que o mecanismo pelo qual a suplementação de glutamina + ácido glutâmico aumentou a expressão de *HSP 70* se deva ao metabolismo da glutamina na via biossintética da hexosamina. Esse efeito parece ser mediado via O-glicosilação, translocação nuclear e ativação transcricional de Sp1 e HSF-1 (Hamiel *et al.*, 2009).

Entretanto, verificamos que tratamentos em termoneutralidade obtiveram redução da expressão do *HSP 70* quando suplementados com vitamina C que tem efeito contrário ao da arginina. Mahmoud *et al.*, (2004) sugerem que os radicais livres de oxigênio contribuem para a indução de *HSP*, portanto, a vitamina C conhecida por sua atividade antioxidante diminuindo produção de radicais livres, cujo acúmulo tem sido sugerida como início para a indução da ativação do gene *HSP* levando a conclusão que o status antioxidante melhorado pode atenuar bastante a expressão do gene *HSP 70* em frangos alimentadas com vitamina C.

A expressão da glutational peroxidase (*GPx*) foi maior nos frangos que estavam sob estresse cíclico e o tratamento que mais expressou foi o dos frangos que receberam dieta com 160% de arginina e 200ppm. Neste estudo, a suplementação com arginina e vitamina C na dieta aumentou significativamente a atividade de *GPx* no fígado, o que é importante para frango corte pois, o *GPx* catalisa a redução do peróxido de hidrogênio diminuindo os danos causados pelo peróxido de hidrogênio causado pelo estresse oxidativo (Mahmoud *et al.*, 2004).

6. CONCLUSÃO

Frangos de corte quando recebem vitamina C sofrem uma resposta ao estresse menos severa após exposição a altas temperaturas, com menor perda dos índices zootécnicos. A suplementação de arginina e vitamina C aumenta a expressão gênica do *HSP70* dando maior resistência as aves durante períodos de calor e aumenta a expressão de *GPx*, indicando aumento na atividade antioxidante dos frangos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrews F J, Griffiths R.D. Glutamine: Essential for immune nutrition in the critically ill Br. J. Nutr., 2002; 87: 3-8.
- Abdukalykova ST, Ruiz-Feria CA Arginine and vitamin E improve the cellular immune response of broiler chickens. International Journal of Poultry Science 2006; 5(2): 121-127 2006.

Bícego KC, Scarpellini CS, Gargaglinoni LH. Termorregulação. In: MACARI M., MAIORKA A. Fisiologia das aves comerciais. Jaboticabal: Funep- Unesp; 2017. p. 466-491p.

Borges SA, Maiorka A, Silva AVF. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. *Ciência Rural* 2003; 33 (5):975-981.

Campbell T W. Hematology of pittcines. In: WEISS D. J., WARDROP J. K. 6th editor Schalm's veterinary hematology. Iowa: Blackwell; 2010. p .968- 976.

Charles Noriega M L V C. Apuntes de hematología aviar: material didático para curso de hematologia aviária. Departamento de Producción Animal: Aves Universidad Nacional Autónoma de México México. 70 p. 2000.

Chamruspollert, M; Pesti, G M; Bakalli, R I. Chick responses to dietary arginine and methionine levels at different environmental temperatures. *British Poultry Science*, 2004; v.45 (1):93-100, 2004.

Combs Jr, G F. The Vitamins. Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Ithaca New York: 3 ed. ELSEVIER; 2008.

Fernandes J I M, Rosa D D, Ribeiro M V, Lima E T, Fernandes N L M. Avaliação da arginina dietética sobre a resposta imunológica de frangos de corte imunizados contra a Doença de Gumboro. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 2011; 33(2):151-155.

Ferreira D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 2011; 35(6).

Fouad A M, Yang X J, Yao J H Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal* 2013; 7:1239–1245.

Hamiel C R, Pinto S, Hau A, Wischmeyer P E. Glutamine enhances heat shock protein 70 expression via increased hexosamine biosynthetic pathway activity *American Journal of Physiol* 2009, 297:1509-1519.

Han G, Yang H, Wang Y, Zhangr, K Tashiro K, Bung M Furuse Chowdhury V S Effects of in ovo feeding of L-leucine on amino acids metabolism and heat-shock protein-70 and -90 mRNA expression in heat-exposed chicks. *Poultry Science* 2019; 98:1243–1253.

Horobin RW How Romanowsky stains work and why they remain valuable - including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme. *Biotech Histochem Glasgow* 2011; 86 (1): 36-51.

Hosseini-Vashan SJ, Safdari-Rostamabad M, Piray AH, Sarir H The growth performance plasma biochemistry indices immune system antioxidant status and intestinal morphology of heat-stressed broiler chickens fed grape (*Vitis vinifera*) pomace. *Animal Feed Science and Technology* 2020; 259: 1-10.

Johnson I R, Ball R O, Baracos V E, Field CJ. Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet *Developmental e Comparative Immunology*, 2006; 30: 1191-1202.

Kidd MT Peebles ED Whitmarsh SK Yeatman JB Wideman Jr RF. Growth and immunity of broiler chicks as affected by dietary arginine. *Poultry Science* 2001; 80:1535-1542.

Lentfer T L, Pendl H, Gebhardt-Henrich S G, Fröhlich E K F, Von Borell E. H/L ratio as a measurement of stress in laying hens – methodology and reliability, 2015; 56 (2):157 – 163.

Oliveira Neto AR, Oliveira WP. Aminoácidos para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* v.38 suplemento especial 2009; 205-208.

Mahmoud K Z, Edens F W, Eisen E J, Havenstein GB. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2004, 137: 35–42.

Mcfarlane J M, Curtis S E, Simon J, Izquierdo O. A. Multiple Concurrent Stressors in Chicks: 2. Effects on Hematologic, Body Composition, and Pathologic Traits. *Poultry Science* 1989; 68 (4):510–521.

Pagliarone AC, Sforcin JMS Estresse: revisão sobre seus efeitos no sistema imunológico. *Biosaúde* 2009; 11(1): 57-90.

Santin E, Moraes M L, Sanches A W D. Imunologia aplicada. In: MACARI M., MAIORKA A. *Fisiologia das aves comerciais*. Jaboticabal: Funep/ Unesp 2017. p. 466-491.

Skrivan M , Marounek M , Englmaierová M , Skrivanová E Influence of dietary vitamin C and selenium alone and in combination on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chemistry* 2012; 130:660-664.

Silva R D M, Menten J F M, Cardoso M K, Ghihardi G G. Suplementação de vitamina C associada à densidade de criação no desempenho de frangos de corte. *Scientia Agricola* 1993; 50 (3) 490 – 497.

Souza M G, Oliveira R F M, Donzele J L, Maia A P A, Balbino E M, Oliveira W P. Utilização das vitaminas C e E em rações para frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia* v. 40 n. 10 p. 2192-2198 2011.

.

Ren W , Chen S , Yin J , Duan J , Li T , Liu G , Feng Z , Tan B , Yin Y , Wu G. Dietary arginine supplementation of mice alters the microbial population and activates intestinal innate immunity. *The Journal of Nutrition* 2014; 144: 988-995.

Rosales A G, Villegas P, Lukert P D, Fletcher O J, Mohamed M A, Brown J. Isolation identification and pathogenicity of two field strains of infectious Bursal Virus. *Avian Disease* 1989; 33: 35-41.

Rostagno H S, Albino L F T, Hannas M I, Donzele J L, Sakomura N K , Perazzo F G , Saraiva A Abreu M L T , Rodrigues P B , Oliveira R F , Barreto S L T , Brito C O. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 4. ed. Viçosa: Editora UFV. 2017.

Sapolsky R M, Romero L M, Munck A U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 2000; 21:55-89.

Wang J P, Yan L, Lee J H, Zhou T X, Kim I H. Effects of dietary delta-aminolevulinic acid and vitamin C on growth performance immune organ weight and ferrum status in broiler chicks. *Livestock Science* 2011, 135: 148-152.

Wu G. *Amino Acid: Biochemistry and Nutrition*. 1 ed. Boca Raton: Taylor and Francis Group LLC, 2013. 458 p.

Zhang J F, Bai K W, Su W P, Wang A A Zhang L L , Huang K H , Wang T. Curcumin attenuates heat-stress-induced oxidant damage by simultaneous activation of GSH-related antioxidant enzymes and Nrf2-mediated phase II detoxifying enzyme systems in broiler chickens. *Poultry Science* 2018; 7:1209–1219.

Zulkifli M, Shakeri A, Soleimani. Dietary supplementation of L-glutamine and L-glutamate in broiler chicks subjected to delayed placement. *Poultry Science* 2016; 95: 2757-2763.