

# Influência da restrição alimentar sobre alguns constituintes plasmáticos e qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais

Otto Mack Junqueira<sup>1\*</sup>, Marcelo de Oliveira Andreotti<sup>1</sup>, Eliana Aparecida Rodrigues<sup>1</sup>, Douglas Emygdio de Faria<sup>2</sup> e Elenice Maria Casartelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, FCAVJ, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. v.a. Prof. Dr. Paulo Donato Castellane, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, FZEA, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil. \*Autor para correspondência. e-mail: ottomack@fcav.unesp.br

**RESUMO.** Foi realizado um experimento com o objetivo de verificar as alterações nos níveis de fósforo e de cálcio plasmático, bem como a qualidade externa dos ovos de poedeiras Hyline W-36 submetidas à restrição total de alimento. A retirada de sangue foi realizada no dia 24, 48, 72 e 96h na oviposição e 21h após. No grupo controle, foi observado um aumento no fósforo plasmático da oviposição até 21 horas após. No dia 2 foi verificado um aumento nos níveis de fósforo plasmático, quando a retirada de sangue foi realizada 21 horas após a oviposição, nas aves submetidas à restrição de alimento. A partir do dia 2, todos os valores de fósforo plasmático das aves submetidas à restrição de alimento foram inferiores, tanto na oviposição quanto 21 horas após. Não foi observada flutuação do cálcio plasmático durante o processo de formação do ovo, nas aves alimentadas à vontade. Foi observado um declínio do cálcio plasmático, desde o dia 2 até o dia 4, quando as aves foram privadas de alimento. A gravidade específica dos ovos e o peso de suas cascas diminuíram em relação ao tempo em que as aves permaneceram em restrição de alimento.

**Palavras-chave:** cálcio plasmático, fósforo plasmático, galinhas poedeiras, restrição alimentar.

**ABSTRACT.** The influence of feed withdrawal on laying hens' calcium, phosphorus plasma and egg shell quality. One experiment was conducted with Hyline W-36 laying hens to determine the influence of feed withdrawal on calcium and phosphorus plasma and eggshell quality. Blood was collected on days 24, 48, 72 and 96h at oviposition and 21h post-oviposition. On the control group, plasma phosphorus was significantly increased from oviposition to 21h post-oviposition. On day two, the group in feed restriction showed higher phosphorus levels 21h post-oviposition. On day 3 and 4, all the values from plasma phosphorus were lower at oviposition and 21h post-oviposition when hens were in feed withdraw. Plasma calcium was not affected during the egg formation in the hens receiving feed "ad libitum". However, plasma calcium was declined from day 2 to 4 when hens were in feed withdraw. The egg specific gravity and eggshell weight were significantly decreased for hens receiving no feed after day 2.

**Key words:** plasma calcium, plasma phosphorus, laying hens, feed withdrawal.

## Introdução

Feinberg *et al.* (1937) foram um dos primeiros a registrar uma ligeira flutuação no cálcio e uma marcante flutuação do fósforo sérico durante a formação do ovo. Da mesma forma, Miller *et al.* (1977a) também observaram uma variação cíclica do fósforo sanguíneo na galinha poedeira, sendo o mais baixo nível de fósforo aproximadamente duas horas antes da oviposição, permanecendo constante até 4 horas após a oviposição. Neste momento, a média dos valores foi de 5,29 mg/dL e em seguida, passou a aumentar, alcançando um pico 21 a 22 horas após a

oviposição, correspondendo com o período de ativa formação da casca do ovo e a desmineralização dos ossos. Taylor e Stringer (1965) sugeriram que o período onde o nível de fósforo plasmático é mínimo representa a parada do processo de formação da casca do ovo, o retorno do fósforo ao osso e a filtração renal do elemento.

Choi *et al.* (1979) concluíram que a galinha poedeira mantém um nível de fósforo plasmático proporcional ao conteúdo de fósforo na dieta até certos limites. No entanto, o fósforo plasmático decresce drasticamente quando níveis subótimos de fósforo dietéticos são administrados.

A casca do ovo contém pequena quantidade de fósforo ( $\pm 22$  mg), quantidade que não está homogeneamente distribuída, pois se concentra mais nas camadas externas. O fósforo é depositado no período final de formação do ovo (Mateos, 1991). Ao contrário do cálcio, o mecanismo de regulação do nível de fósforo no plasma sanguíneo não é tão eficiente, e varia muito com o nível de fósforo oferecido na dieta (Calderon, 1994).

Leeson e Summers (2001) verificaram que níveis plasmáticos de cálcio e fósforo são reduzidos quando há uma deficiência de fósforo ou quando há um desequilíbrio na relação Ca:P da dieta, pois o excesso de cada um desses elementos causa precipitação do outro elemento no intestino.

Mongin e Sauveur (1979) confirmaram a natureza cíclica do fósforo plasmático, relatando que o declínio do fósforo de poedeiras, 10 horas após a oviposição, se deve unicamente à formação da casca do ovo é independente do programa de luz que lhes é imposto ou mesmo da quantidade de ração ingerida. Os valores de fósforo sanguíneo encontrado pelos autores foram mínimos durante a oviposição, prosseguindo até 10 horas após a oviposição. Em seguida, foi observado um aumento, alcançando um pico 18 a 20 horas após a oviposição e retornando aos níveis normais antes da próxima oviposição. Em seus ensaios, as galinhas que receberam 28 g de cálcio e 4 g de fósforo disponível por quilograma de dieta, exibiram um aumento de 68% no fósforo plasmático, 14 a 22 horas após a oviposição, em relação ao nível sanguíneo normal. Por outro lado, quando as galinhas receberam uma dieta com apenas 15 g de cálcio e 5 g de fósforo disponível por quilograma de ração, porém, com farinha de ostras à vontade, o nível de fósforo sanguíneo encontrado foi apenas 11% superior, 14 a 18 horas após a oviposição. Nesse estudo, a hiperfosfemia, resultante da mobilização do fósforo ósseo, ocorreu em resposta à uma ação do paratormônio e não somente ao conteúdo de cálcio no trato digestivo.

Miles *et al.* (1984) conduziram dois experimentos na tentativa de estudar o comportamento do fósforo plasmático ao longo do processo de formação do ovo, quando as aves tiveram suas oviposições nos períodos da manhã e da tarde. No experimento 1, o conteúdo médio de fósforo plasmático, no momento da oviposição, para as aves que puseram seus ovos pela manhã ou à tarde, foi de 3,95 e 4,10 mg/dL, respectivamente. 6 horas após a oviposição, os valores observados foram bem menores (3,22 e 3,15 mg/dL respectivamente). Por outro lado, após 21 horas, o conteúdo em fósforo plasmático foi

significativamente aumentado e uma maior diferença ainda foi obtida por parte daquelas aves que puseram seus ovos pela manhã ou à tarde, tendo os resultados sido de 5,90 e 5,49 mg/dL, respectivamente. No segundo experimento, o conteúdo em fósforo no plasma das aves na oviposição e 6 horas após, quando puseram seus ovos pela manhã ou à tarde, foram bastante semelhantes, porém uma diferença ainda mais acentuada foi observada no fósforo plasmático, quando o sangue foi colhido 21 horas após a oviposição.

O objetivo do presente estudo foi o de verificar a flutuação do fósforo e do cálcio no plasma, bem como a qualidade da casca dos ovos de galinhas leves submetidas à restrição total de alimento.

### Material e métodos

Um experimento foi conduzido utilizando-se 560 galinhas poedeiras Hy-line W-36, com 60 semanas de idade, alojadas em gaiolas individuais. As aves estavam recebendo uma ração (Tabela 1), à base de milho e de farelo de soja, a qual foi calculada de acordo com as recomendações de Harms (1979), segundo o qual o consumo esperado de fósforo deve ser de 500 mg/ave/dia.

**Tabela 1.** Composição da ração fornecida ao grupo controle

Ingredientes	%
Milho moído	63,50
Farelo de soja (48,5%)	24,24
Calcário calcítico	9,80
Fosfato bicálcico	1,15
Microingredientes *	0,60
Sal comum	0,53
D.L. metionina	0,18
Análise calculada	
Proteína bruta (%)	17,47
Energia metabolizável (kcal/kg)	2750
Metionina+cistina (%)	0,58
Lisina (%)	0,85
Cálcio (%)	4,08
Fósforo disponível (%)	0,32
Fósforo total (%)	0,54

\*Suprido por kg da ração: vitamina A 6000 U.I./ vitamina D<sub>3</sub> 2200 U.I./ bissulfato de menadiona 2,2 mg/ riboflavina 4,4 mg/ ácido pantotênico 13,2 mg/ niacina 39,6 mg/ colina 499 mg/ vitamina B<sub>12</sub> 22 mcg/ etoquin 125 mg/ manganês 50 mg/ ferro 50 mg/ cobre 6 mg/ cobalto 0,198 mg/ iodo 1,1 mg/ zinco 35 mg

A ração foi retirada de um grupo de 400 aves às 9h do dia 1, sendo que as outras 160 aves, as quais serviram como controle, continuaram a receber a mesma ração.

No dia 1 foram coletadas amostras de sangue, no momento da oviposição, de 15 aves do grupo controle. Em seguida, foi processada a coleta de sangue nos dias 2, 3 e 4, nos grupos controle e em restrição, no momento da oviposição e 21 horas após

a oviposição, somente naquelas aves que haviam produzido em ovo no dia anterior.

As amostras heparinizadas de sangue foram centrifugadas e 1mL de plasma foi desproteínizado com 4mL de uma solução de ácido tricloroacético a 10%. O fósforo inorgânico plasmático foi determinado utilizando-se o espectrofotômetro Perkin-Elmer UV-vis, modelo 139, de acordo com os procedimentos descritos por Harris e Popat (1954). O cálcio plasmático foi determinado de acordo com o método de Slavin (1964), utilizando o espectrofotômetro de absorção atômica Perkin-Elmer, modelo 306.

Após determinar a gravidade específica de todos os ovos produzidos desde o dia 1 até o dia 3, os mesmos foram quebrados e suas cascas foram lavadas, mantendo as membranas interna e externa, e deixadas ao ar livre durante 1 semana, dentro de uma sala com temperatura aproximada de 13° C, procedendo em seguida as pesagens.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, e em caso de significância estatística foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade, como teste de comparação de médias.

### Resultados e discussão

Os resultados obtidos para fósforo e cálcio no plasma das poedeiras nos diferentes dias, são apresentados na Tabela 2. No grupo controle, cujas aves não foram submetidas à restrição alimentar e estavam recebendo 500 mg de fósforo total diário, foi observada uma variação significativa do fósforo plasmático, quando as amostras foram coletadas no momento da oviposição e 21 horas depois dela, tendo obtido valores extremos de 4,31 e 6,81 mg/dL, respectivamente. Essa variação no fósforo plasmático durante a formação do ovo já foi descrita por outros autores, como Feinberg *et al.* (1937); Taylor e Stringer (1965); Choi *et al.* (1979); Mongin e Sauveur (1979) e ainda Miles *et al.* (1984), que conduziram dois sugestivos experimentos, tendo observado que o conteúdo médio de fósforo plasmático, no momento da oviposição, para as aves que puseram seus ovos pela manhã ou à tarde, foi 3,95 e 4,10 mg/dL, respectivamente. Por outro lado, valores mais elevados, variando de 4,91 a 5,90 mg/dL, foram obtidos no plasma das aves cujo sangue foi colhido 21 horas após a oviposição.

No presente experimento, os valores obtidos foram ligeiramente superiores aos de Miles *et al.* (1984), quando foi comparado o fósforo plasmático apenas no momento da oviposição. 21 horas após a oviposição, porém, os resultados desse experimento são bem superiores aos obtidos por Miles *et al.*

(1984) e mesmo por Mongin e Sauveur (1979). Esse aumento pode ter sido devido ao consumo de fósforo diário pelas aves, já que Junqueira *et al.* (1984) afirmaram que a galinha poedeira é bastante sensível ao fósforo plasmático quando a mesma é submetida a diferentes níveis de fósforo dietético. Por outro lado, Choi *et al.* (1979) relataram que a poedeira mantém um nível de fósforo plasmático proporcional ao conteúdo em fósforo na dieta, até certos limites. No entanto, o fósforo plasmático decresce drasticamente quando níveis subótimos de fósforo dietético são administrados.

O aumento do nível de fósforo plasmático 21 horas após a oviposição se deve à mobilização do cálcio dos ossos durante o processo de síntese da casca do ovo e, juntamente com o cálcio, é mobilizado também o fósforo, porém não utilizado, elevando-se portanto o seu conteúdo no sangue da ave (Paul e Snetsinger, 1969; Taylor e Stringer, 1965; Miller *et al.* 1978; Miller *et al.* 1977b; Mongin e Sauveur, 1979; Miles, 1980).

No dia 2, uma significativa diferença foi observada nos resultados obtidos para fósforo inorgânico plasmático, quando a coleta de sangue foi realizada 21 horas, após a oviposição, naquelas aves do grupo controle, as quais foram submetidas à restrição total de alimento desde o dia anterior. Assim, as médias foram, respectivamente, 6,28 e 8,72 mg/dL.

A partir do dia 2, todos os valores de fósforo plasmático das aves submetidas à restrição total de alimento foram inferiores, tanto na oviposição quanto 21 horas após a mesma. O aumento abrupto do nível de fósforo plasmático das aves submetidas à restrição de alimento no dia 2 pode ser explicado pelo fato de que a casca dos ovos dessas aves foram sintetizadas somente às custas dos elementos minerais mobilizados dos ossos para a corrente circulatória, elevando-se o seu nível.

No dia 3, quando as aves já se encontravam 2 dias em restrição total de alimento, foi observada, ainda, uma ligeira elevação no nível de fósforo plasmático, porém não tão significativa quanto aquela observada nas aves do grupo-controle. Já no dia 4, a diferença do nível de fósforo plasmático na oviposição e 21 horas após a mesma foi menor ainda, tendo-se obtido, respectivamente, 2,87 e 3,08 mg/dL, cuja diferença não foi significativa.

A drástica diminuição dos níveis de fósforo plasmático na oviposição nos dias 2 e 3 e 21 horas após a oviposição dos dias 3 e 4 pode ser relacionada com a queda da qualidade externa dos ovos, medida em termos de gravidade específica e peso de casca e com a produção de ovos, que se reduziu a zero no

dia 4, quando as aves foram submetidas à restrição total de alimento.

Com relação ao cálcio plasmático, foi observado que não houve uma flutuação do mesmo, ao longo do processo de formação do ovo, quando as aves receberam alimento *ad libitum*. Por outro lado, foi verificado que com o passar do tempo, houve um declínio do cálcio plasmático, quando as aves foram submetidas a restrição total de alimento, com médias que variaram de 27,11 até 16,92 mg/dL. Um ligeiro aumento foi verificado 21 horas após a oviposição, no dia posterior à retirada do alimento, cuja média foi de 27,11 mg/dL, em comparação com 25,48 mg/dL, que foi a média obtida no início do experimento. Essa diferença, embora não significativa, pode ser explicada pelo fato de haver uma menor eliminação de cálcio por meio das vias renais, ou pelo aumento da mobilização dos ossos, na tentativa de manter níveis normais para a galinha poedeira.

**Tabela 2.** Variações no conteúdo em fósforo e cálcio no plasma de poedeiras submetidas à restrição de alimento

Parâmetros	Grupos de aves	
	Controle	Em restrição
Fósforo plasmático (mg/dL)		
Dia 1 (oviposição)	4,31 ± 0,22*d	
Dia 2 (21 h pós-oviposição)	6,28 ± 0,25 b	8,72 ± 0,37 a
(oviposição)	4,95 ± 0,32 c	2,91 ± 0,18 cd
Dia 3 (21 h pós-oviposição)	6,81 ± 0,19a	3,46 ± 0,17 b
(oviposição)		2,87 ± 0,17 d
Dia 4 (21 h pós-oviposição)		3,08 ± 0,46 bc
Cálcio plasmático (mg/dL)		
Dia 1 (oviposição)	25,48 ± 1,03 a	
Dia 2 (21 h pós-oviposição)	25,83 ± 1,72 a	27,11 ± 1,88 a
(oviposição)	24,77 ± 0,98 a	20,45 ± 2,14 b
Dia 3 (21 h pós-oviposição)	25,01 ± 1,19 a	22,16 ± 1,19 b
(oviposição)		18,73 ± 2,01 bc
Dia 4 (21 h pós-oviposição)		16,92 ± 1,75 c
CV = 6,26%		

\* Média ± Erro padrão da média; Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem estatisticamente entre si (P<0,05)

Na Tabela 3 são mostradas as médias obtidas para a gravidade específica e peso da casca dos ovos.

**Tabela 3.** Gravidade específica e peso da casca dos ovos de poedeiras submetidas à restrição de alimento

Parâmetro	Grupo de aves	
	Controle	Em Restrição
Gravidade específica		
Dia 1	1,0793 ± 0,0026* aA	
Dia 2	1,0800 ± 0,0018 a	1,0660 ± 0,0019 aB
Dia 3	1,0806 ± 0,0014 a	1,0605 ± 0,0010 bB
Peso de casca		
Dia 1	5,48 ± 0,09 aA	
Dia 2	5,56 ± 0,08 a	4,33 ± 0,07 aB
Dia 3	5,57 ± 0,09 a	3,81 ± 0,10 bB
CV = 5,32%		

\* Média ± Erro padrão da média; Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna e letras maiúsculas na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05)

O grupo das aves considerado controle, o qual não foi privado de alimento, revelou uma média homogênea para gravidade específica dos ovos com variações não-significativas ao longo dos dias, sendo essas entre 1,0793 e 1,0806. Por outro lado, foi registrada uma drástica diminuição na gravidade específica dos ovos das aves que sofreram a restrição de alimento, com diferenças significativas de 0,0133 e 0,0188, quando foi comparada a média obtida no dia 1 com aquelas dos dias 2 e 3, respectivamente. Da mesma forma, o peso da casca dos ovos também diminuiu a cada dia em que as aves foram privadas de ração.

Os resultados observados para a qualidade da casca dos ovos, medidos em termos de gravidade específica dos ovos e peso de suas cascas, para as galinhas submetidas à restrição de alimento, eram aqueles esperados, uma vez que os ovos produzidos nos dias 2 e 3 tiveram suas cascas sintetizadas somente às custas do cálcio mobilizado dos ossos, tendo a postura cessado no dia 4, quando, então, além do cálcio, outros nutrientes encontravam-se envolvidos, à exceção da água, a qual foi fornecida à vontade para os dois grupos de aves.

## Conclusão

A galinha poedeira mantém um equilíbrio de fósforo e cálcio plasmático para a formação dos ovos em *ad libitum*. Entretanto, em restrição alimentar, tenta suprir o déficit de cálcio e fósforo pelo aumento da mobilização destes dos ossos, na tentativa de manter os níveis normais requeridos para a produção da casca dos ovos.

A qualidade da casca dos ovos, por sua vez, é influenciada pelos níveis plasmáticos do cálcio e do fósforo, reduzindo à medida que diminuem os níveis normais de cálcio e de fósforo plasmático.

## Referências

- CALDERON, V.C. Efectos nutricionales sobre la calidad de la cáscara. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, Santos, Anais...Santos, Facta, 1994, p.35-66.
- CHOI, J.H. et al. The response of serum inorganic phosphorus level in laying hens fed low levels of dietary phosphorus. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 58, p. 416 - 418, 1979.
- FEINBERG, J.C. et al. Fluctuations of calcium and inorganic phosphorus in the blood of the laying hen during the cycle of on egg. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 16, p. 132 - 134, 1937.
- HARMS, R.H. Revised specifications for feeding commercial layers based on daily feed intake. *Feedstuffs*, Minnetonka, v. 51, p 27 - 28, 1979.

- HARRIS, W.D.; POPAT, P. Determination of the phosphorus content of lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v. 31, p. 124 - 127, 1954.
- JUNQUEIRA, O.M. *et al.* Interrelationship between phosphorus, sodium, and chloride in the diet of laying hens. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 63, p. 1229 - 1236, 1984.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. *Nutrition of the chicken*. 4. Ed. Canadá: NiH 6N8, 2001.
- MATEOS, G.C. Factores que influyen en la calidad del huevo. In: *Nutrición y alimentación de las gallinas ponedoras*. 9 ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1991, p.227-248.
- MILES, R.D. The role of phosphorus in egg shell quality. In: THE FLORIDA NUTRITION CONFERENCE, 1980, Florida. *Proceedings...* Florida: University of Florida, 1980. p. 95-110.
- MILES, R.D. *et al.* Plasma phosphorus at 0, 6, and 21 hours postoviposition in hens laying in the morning or afternoon. *Poult. Sci.*, Champaign, v.63, p. 354 - 359, 1984.
- MILLER, E.R. *et al.* Cyclic changes in serum phosphorus of laying hens. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 56, p. 586 - 589, 1977a.
- MILLER, E.R. *et al.* Serum calcium and phosphorus levels in hens relative to the time of oviposition. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 56, p. 1501 - 1503, 1977b.
- MILLER, E.R. *et al.* The relationship of production status to serum calcium and phosphorus in hens. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 57, p. 242 - 245, 1978.
- MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Plasma inorganic phosphorus concentration during egg-shell formation. Effect of the physical form of the dietary calcium. *Brit. Poult. Sci.*, Champaign, v. 20, p. 401 - 412, 1979.
- PAUL, H.S.; SNETSINGER, D.C. Dietary calcium and phosphorus and variations in the plasma alkaline phosphatase activity in relationship to physical characteristics of eggshells. *Poult. Sci.*, Champaign, v. 48, p. 241 - 250, 1969.
- SLAVIN, W. Atomic absorption instrumentation and technique: A review. *At. Absorpt. Newsl.*, Norwalk, v. 3, p. 98, 1964.
- TAYLOR, T.G.; STRINGER, D.A. Eggshell formation and skeletal metabolism. In: STURKE, P.D. (Ed.). *Avian physiology*. New York: Cornell University Press, 1965.

Received on May 15, 2002.

Accepted on July 02, 2002.