ESTUDO DOS EFEITOS DE BIOESTIMULANTES NA REPRODUÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DA PROGÊNIE DE AVES TIPO CORTE

MOACIR OMENA DE OLIVEIRA

Orientador: Roberto Dias de Moraes e Silva

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universi-
dade de São Paulo, para obtenção do Título
de Mestre em Nutrição Animal e Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto 1977

D E D I C O

A Maria José, minha mãe, semi-analfabeta e pobre, que, inexplicavelmente, soube, com tenacidade me conduzir à pós-graduação.

A Vera Lúcia Benevides, minha esposa, sem cuja ajuda, não teria alcançado, nessa travessia, o fim colimado.

Aos Meus filhos, Gustavo e Júnior, bioestimulantes da minha jornada terrena.

Aos manos, Luiz, José, Reinaldo Iraci e Ivanildo, pelo incentivo e confiança depositadas em mim.

A G R A D E C I M E N T O S

Agradeço as seguintes pessoas e instituições:

Prof. Dr. Roberto Dias de Moraes e Silva;
Prof. Dr. Roberto Thomaz Losito de Carvalho;
Prof. MS. Joelito de Oliveira Rezende;
Prof. Dr. Celso Lemaire de Moraes;
Eng^o-Agr^o Edimilson Machado de Almeida;
Eng^o-Agr^o Carlos Osvaldo Cardoso Pulici;
Eng^o-Agr^o MS Ranulfo Correa Caldas;
Eng^o-Agr^o João de Souza Ávila;
Méd. Vet. MS Luiz Gonzaga da Paz;
Sr. Mário Sperandio;
Sr. José Pedro Dias Maia;
Enfermeira Maria Angélica de Benevides;
Eng^o-Agr^o Jocelyn Santiago Brandão.
Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq);
Granja ITO - Sumaré, SP.;
Laboratórios Vitamínicos Valinhos Ltda.;
Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz";
Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Tecno
lógicas - Departamento de Zootecnia - Areia,
Paraíba.

Í N D I C E

	Página
1 - RESUMO	1
2 - INTRODUÇÃO	4
3 - REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1 - Teoria dos bioestimulantes de FILATOV	8
3.2 - Técnica utilizada na preparação dos extratos	10
3.3 - Emprego dos bioestimulantes	15
3.3.1 - Aves	15
3.3.2 - Mecanismos de ação dos bioestimulan tes	26
4 - METODOLOGIA	30
4.1 - Delineamento experimental	32
4.2 - Preparação do bioestimulante	32
4.3 - Material utilizado	33
4.4 - Armazenamento	34
4.5 - Preparo do material para pesquisa	34
4.6 - Esterilização e acondicionamento	34
4.7 - Dados observados	35
4.7.1 - Peso das aves	35
4.7.2 - Consumo de ração	35
4.7.3 - Produção de ovos	35
4.7.4 - Ovescopia	36

	Página
4.7.5 - Nascimento	36
4.7.6 - Mortalidade	37
4.7.7 - Análises estatísticas	37
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 - Considerações gerais	38
5.2 - Produção de ovos	39
5.3 - Peso médio dos ovos	41
5.4 - Incubabilidade total	43
5.5 - Incubabilidade dos ovos férteis	46
5.6 - Fertilidade	48
5.7 - Médias de peso dos galos em intervalos de 28 dias	51
5.8 - Médias de peso das matrizes em intervalos de 28 dias	53
5.9 - Médias de peso da progênie aos 28 dias de idade	55
6 - CONCLUSÕES	58
7 - SUMMARY	60
8 - LITERATURA CITADA	62

ÍNDICE DAS TABELAS

	Página
TABELA 1 - Média de produção de ovos por tratamentos e períodos	39
TABELA 2 - Médias de peso dos ovos por tratamentos e períodos	42
TABELA 3 - Médias da incubabilidade total por meses e tratamentos	44
TABELA 4 - Médias da incubabilidade dos ovos férteis por tratamentos e períodos	47
TABELA 5 - Médias de fertilidade de ovos férteis por tratamento e período	50
TABELA 6 - Médias de peso dos galos em intervalos de 28 dias	52
TABELA 7 - Médias de peso das matrizes em intervalos de 28 dias	54
TABELA 8 - Médias de peso da progênie aos 28 dias de idade	56

1 - RESUMO

O presente trabalho visou estudar o efeito de bioestimulante (preparado de FILATOV) na reprodução de aves matrizes comerciais, tipo pesado e no crescimento inicial da progênie. Os experimentos foram realizados na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil. A fase pré-experimental durou duas semanas e a experimental, dezoito, ambas executadas de 28 de agosto de 1975 a 23 de janeiro de 1976.

Foram utilizadas 200 matrizes e 20 galos da linhagem Hubbard. Os pintos nascidos de cada quarta incubação dos ovos das reprodutoras foram utilizados nos experimentos de crescimento. As matrizes receberam 150 g por cabeça por dia e os galos 200 g de ração de reprodução. Os pintos recebe

beram ração inicial "ad libitum". O experimento foi realizado em parcela subdividida partindo do delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, quatro repetições e dez matrizes e um galo por parcela. O tratamento 1, atuou como testemunha e nada recebeu. O tratamento 2, recebia três vezes por semana, vitaminas e aminoácidos solúveis (Aminosol) sendo dosado 10 ml do produto por litro de água, por parcela. Os tratamentos 3, 4 e 5 receberam separadamente 1 ml de bioestimulante injetado no peito da ave, a cada 7, 14 e 21 dias de intervalo, respectivamente. No início do experimento e a cada 28 dias, as aves eram pesadas. O bioestimulante foi preparado com hipófises, suprarrenais e testículos bovinos conforme método desenvolvido por FILATOV. Os ovos produzidos eram colhidos quatro vezes por dia, por parcela, pesados e fumigados. Ao 18º dia era feita a ovoscopia e ao 21º dia os pintos nascidos eram pesados por parcelas sendo anotados também ovos picados, pintos mortos e refugos.

As médias de produção de ovos não foram afetadas pela utilização de bioestimulantes, ou aminosol, mas houve significância estatística, ao nível de 5% de probabilidade, das médias entre períodos.

As médias de pesos dos ovos não foram influenciados nem por tratamentos, nem por períodos.

As médias de incubabilidade total não tiveram respostas estatisticamente significativas quanto a tratamentos. Apresentaram, porém, efeitos entre períodos ($P \geq 0,05$).

As médias de fertilidade não apresentaram significância estatística quanto a tratamentos, sendo, não obstante, significativas estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, entre períodos.

As médias de pesos dos galos e matrizes, em intervalos de 28 dias e as médias dos pesos iniciais da progênie, aos 28 dias de idade, não apresentaram significância estatística nos tratamentos, mas apresentaram entre períodos ($P \geq 0,05$).

2 - INTRODUÇÃO

Alimentar a humanidade, é, no momento um dos grandes desafios do mundo moderno, desde que não são alentadoras as perspectivas futuras nesse campo.

A proteína é escassa, notadamente a de origem animal, sendo que para produzi-la economicamente se torna imperioso reduzir-se o seu custo de produção. Daí se tem dado atenção, desde há alguns anos, ao aumento de produtividade em bovinos e outras espécies animais, dando-se ênfase especial ao incremento ponderal. Para tanto, a Zootecnia tem procurado utilizar, dentre outros recursos o uso de aditivos e dentre esses, os estimulantes de crescimento.

A avicultura como produtora de proteína animal, tanto quantitativa como qualitativa, em termos de menor tempo e espaço é um setor zootécnico decisivo para minimizar a carência protéica ora existente.

Existem centenas de aditivos usados na pecuária, especialmente antibióticos.

Muitos destes produtos, a maioria sintética, a par de trazer benefícios tem encarecido a produção, e, o que é pior trazido problemas de toxicidade residual para os consumido - res, FAO (1969) e GUILLAUME e CALET (1972).

Tentando diminuir ou mesmo extinguir tais proble - mas, cientistas de diversos países e especialmente do Leste eu - ropeu, notadamente os soviéticos, vem desenvolvendo há décadas, pesquisas para a utilização de extratos de tecidos de animais para usos veterinários e humanos, na terapia, profilaxia e espe cialmente no campo da nutrição animal.

Por volta de 1930, o Professor WLADEMIR FILATOV, medico oculista russo, iniciou uma série de pesquisas nas quais fazia enxertos em olhos de pacientes de pedaços de córneas reti radas de cadáveres. Encorajados pelos primeiros resultados, FILATOV supôs que fragmentos de tecidos de diversas naturezas pudessem ter a mesma finalidade. Assim, testou tecidos carti laginosos, musculares, glandulares e epiteliais em seus pacien tes. Depois de alguns anos de sucessos nas suas pesquisas, FI LATOV procurando explicação para esses benéficos efeitos, criou sua teoria denominada "TEORIA BIOGÊNICA DE FILATOV". De acor do com essa teoria, as células dos tecidos animais, quando sepa radas dos tecidos originários e submetidas às condições desfavo ráveis de sobrevivência (baixa temperatura e obscuridade), que tornam difíceis os processos metabólicos vitais, sofrem um pro-

cesso de transformação bioquímica, dando como consequência, compostos não identificados, os quais estimulariam os processos vitais e por isso mesmo denominados "estimulinas biogênicas".

Segundo IOPA e MANOV (1958), pela explicação de FI-LATOV, qualquer tecido de organismo vivo, separado deste e guardado em condições adversas, porêm não mortais, na luta pela sua sobrevivência, modifica-se bioquimicamente, produzindo substâncias específicas, tais como estimulinas biogênicas, que mantêm relações vivas nestes tecidos isolados, protegendo-os contra morte rápida. Segundo o mesmo autor, FILATOV definiu muito bem os bio-estimulantes com a seguinte frase: "Em todo lugar onde se aproxima a morte, surgem os estimulantes, último recurso da vida que foge".

Sendo introduzidas no organismo, estas substâncias estimulariam diversas funções, aumentariam a resistência contra fatores negativos do meio e estabeleceriam o retorno rápido das condições normais dos órgãos ou sistemas enfermos.

Na formulação da sua teoria, FILATOV deu em outra parte, ampla ênfase à técnica de preparação do material empregado para as intervenções cirúrgicas que seriam por ele feitas.

Imediatamente após a publicação da teoria biogênica os implantes de diversos tecidos foram utilizados de maneira crescente na medicina humana.

Muitos anos depois, os resultados encontrados por FILATOV e seus colaboradores, quando comparados com resultados de pesquisadores europeus mostraram algumas contradições.

Estas contradições eram provavelmente devido à falta de conhecimento sobre as técnicas de preparação, bem como, o desconhecimento da natureza dos estimulantes biogênicos (BOSCHI e GASPARI, 1959). O próprio FILATOV, no início, acreditava que estes compostos eram semelhantes aos ácidos aromáticos e nucleicos.

Por muitos anos nenhum investigador conseguiu identificar estes compostos. As estimulinas biogênicas, referidas por FILATOV, são denominadas prostaglandinas.

No setor pecuário nacional, a criação de aves, nos últimos lustros experimentou notável avanço tecnológico em relação à bovinocultura, suinocultura e outras espécies de animais domésticos.

As granjas de matrizes são responsáveis pelo fornecimento de aproximadamente 35 milhões de pintos de corte por mês. As granjas avoadeiras, fornecem, anualmente, mais de seis milhões de matrizes de corte.

Há grande desperdício de glândulas e outros órgãos nos abatedouros, além de embriões de animais, sangue, placentas dos nascimentos das grandes criações industriais, confinadas ou semiconfinadas de suínos e bovinos. Destes materiais são confeccionados os preparados de FILATOV, constituindo-se, assim, em fonte de matéria prima barata.

Este trabalho visou estudar o efeito de bioestimulante (preparado de FILATOV) na reprodução de matrizes comerciais, tipo pesado e no crescimento inicial da progênie.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - Teoria dos Bioestimulantes de FILATOV

BERGSTROM e SAMUELSON (1965) informaram que em 1933/1934 GOLBLAT e VON EULER, independentemente, demonstraram que extratos de plasma seminal humano e da glândula vesicular de carneiro produziam uma queda da pressão sanguínea e estimulavam uma variedade de músculos lisos e órgãos. O material ativo foi chamado prostagandina, por VON EULER pensando tratar-se de substância exclusiva da próstata que foi demonstrado pelo cientista, ser um lipídeo solúvel, com propriedades ácidas.

Hoje se conhecem cerca de 14 espécies de prostaglandinas e que são secretadas pela maioria das células do corpo. Estas substâncias são identificadas por letras: PGA, PGB, etc., até H, com subtipos como PG₂-alfa. Seus efei-

tos são muitas vezes opostos.

PETRUSKIN e DAHKILJGOVA (1961), realizaram inúmeros experimentos nos anos de 1959/1960 nos quais forneceram preparados de tecidos animais a diversas espécies incluindo aves, para fins terapêuticos e profiláticos, tentando ainda promover ganho de peso e postura.

WOOD e WORDEN (1963), informaram que só em 1963 , mais de 100 mil toneladas de alimentos para vacas leiteiras foram suplementados com Hormonexa, produto feito de tecido glandular composto de fígado seco de bovino, baço, feto, estômago e placenta misturados à base vegetal e mineral.

De acordo com CARVALHO (1971), com a precípua finalidade de encontrar compostos que apresentassem efeito bioestimulante e cujo custo de produção fosse suficientemente econômico, estudiosos iniciaram pesquisas sobre extrato de tecido animal, tendo sido FILATOV o primeiro a criar uma técnica de preparação e a produzir um extrato hepático de bovino que apresentava ação bioestimulante.

IOPA e MANOV (1958), realizaram diversos experimentos com o bioestimulante de FILATOV informando que era fácil o seu preparo, baixo o seu custo e apresentavam resultados satisfatórios.

Com base nos trabalhos de FILATOV vários pesquisadores europeus prosseguiram os estudos sobre a teoria bioegênica do autor russo, destacando-se ZABOLOTNYS (1958) , TOROSIAN (1959) , KALASNIK (1960) e SHALATOV (1964).

PHARRIS e SHAW (1974), fizeram comunicação sobre a ocorrência de prostaglandinas, distribuição nos tecidos, biossíntese, metabolismo, fisiologia e farmacologia, indicando ainda uma vasta lista de trabalhos até agora publicados sobre o assunto.

3.2 - Técnica Utilizada na Preparação dos Extratos

MARY e GUSTAVSON (1930), utilizaram preparado de placenta humana para estudar resposta na produção de caracteres subsidiários da genitália de aves fêmeas e plumagem. A placenta humana, após remoção de membranas e tendões foi triturada num moedor de carne. Colocou-se 1,5 litro de álcool etílico para cada quilo do material. Todo material era totalmente misturado, ficando em repouso durante uma semana e depois filtrado em algodão. O filtrado foi evaporado sob baixa pressão ficando uma solução aquosa turva com volume de 25 cc. A parte turva foi retirada com benzeno e as camadas separadas. O efeito do preparado placentário humano sobre o oviduto de frangas foi estudado em três diferentes tipos de experimentos. Em dois deles, foram obtidos resultados positivos: os ovidutos das frangas testadas mostraram uma aumento dez vezes maior nos ductos, em relação aos das testemunhas. Notou-se ainda, aparecimento de glândulas tubulares e tecido musculoso, estruturas estas ausentes nos animais testemunhas.

JAAP (1935), utilizou extratos de pituitária de pato e de galinha para estudar a potência estimuladora gonadal de pituitárias individualmente, em pintos, patos e ratas jovens. Todas as pituitárias foram colocadas em acetona imediatamente a p^os serem removidas da cabeça das aves doadoras. Quando estavam inteiramente dissecadas, foram pulverizadas e colocadas em solução, usada para injeção.

O método original proposto por FILATOV descrito por IOPA e MANOV (1958) foi o seguinte: o fígado de um bovino recém abatido era mantido por 4 a 5 dias até uma temperatura de 0°C a 5°C , sendo finalmente picado e homogeneizado em solução salina fisiológica, na proporção de 1:2 . Em seguida era es-
caldado a 80°C durante uma hora e meia. O material era res-
friado e depois filtrado. O filtrado era colocado em autoclave por uma hora, a 100°C - 120°C .

ZAMBOLOTNYS (1958), constatou que a mistura de tecⁱdos de bovinos possui efeito estimulante análogo ao do fígado e que a homogeneização, em solução fisiológica, podia ser feita na proporção de 1:3 .

O mesmo autor preparou extratos de tecidos conser-
vando as peças durante uma semana, a uma temperatura de 2°C a 4°C . Fez homogeneização do material na proporção de 1:3 com solução salina, depois guardou por uma hora numa estufa e em seguida aqueceu durante uma hora. Estocou em ampolas e autoclavou. Os tecidos utilizados foram fígado e baço bovinos.

TOROSJAN (1959) preparou um estimulante biogênico denominado Antiseptik Dorogava (ASD FR-2) utilizando tecidos a nimais, vegetais e microbianos. O extrato daí resultante foi usado em diluição de 1:20 para aplicação intravenosa em ani- mais.

KOROL'KOV e PETRISIN (1960), em experimento realizado com o fim de confrontar os efeitos do bioestimulante obtido de tecido de testículo e de extrato de fígado, verificou a melhor eficácia do extrato hepático.

DOROSKOV (1962), utilizou amostras de tecidos pla- centários, obtidas de vacas, ovelhas e porcas no parto. Utilizou os mesmos tecidos, após o abate de êguas, vacas, ovelhas e porcas, em diferentes estágios de prenhez. A atividade biológica dos extratos usando o método de FILATOV foi testada para observar efeitos estimulantes sobre o crescimento de le- veduras. Os extratos preparados em água comum ou solução fisiológica salina foram melhores do que os feitos com água des- tilada. Para todas as espécies os melhores períodos de arma- zenamento dos tecidos entre 2°C e 4°C durante a preparação foi de cinco para seis dias. Nas espécies estudadas, a placenta foi mais ativa do que as membranas. Os tecidos nos quais se encontraram mais alta atividade, foram placentas de vaca e ove- lha, sendo que, esta atividade aumentou ainda mais, quando os extratos foram autoclavados a 120°C por uma hora.

MARAKOV e SOLOVEN (1962), procederam a uma modificação no método de preparação de tecidos de FILATOV. Colheram tecido fresco de baço guardando-o por quatro ou cinco dias a uma temperatura entre 29°C e 49°C. O tecido foi então picado e misturado com duas vezes o seu volume em solução fisiológica salina, fervido por duas horas, coado, filtrado e misturado com agar-agar. O preparado foi engarrafado e esterilizado. Os autores informaram ainda que boas preparações possuíam 3 a 3,5% de matéria seca, e 1,8 a 2% de proteína. O preparado foi injetado em suínos numa dose de 0,2 ml por kg de peso vivo. O extrato feito com agar-agar mostrou-se mais efetivo em bovinos e suínos do que os extratos convencionais de FILATOV.

MARGARET (1967) visando estudar a estimulação do ovário em galinhas hipofisectomizadas, utilizou extrato seco de pituitária, assim preparado: glândulas pituitárias do lóbulu anterior foram coletadas de frangos de ambos os sexos com 8 a 12 semanas de idade, secadas em acetona e moídas. A média de produção do material seco por glândula foi 1,2 mg. O pó em várias concentrações foi suspenso em solução salina isotônica, e a dose injetada em aves foi de 1 ml. Concluiu a autora, pelos resultados do experimento, que em galinhas hipofisectomizadas, com regressão do ovário, o desenvolvimento foliular e secreção de hormônio podem ser restaurados através de tratamento com extrato de glândula pituitária de aves.

GONDOS *et alii* (1968) utilizaram experimentalmente seis bioestimulantes nativos em função do substrato, nos quais estão englobadas as substâncias ativas. Os substratos utilizados foram: levedura forrageira, farelo de trigo, calcário, farinha de alfafa, "maize draff" e farelo de milho. Após seis meses, a máxima conservação das vitaminas A, E, B₁, B₂ e niacina foi registrada com os substratos de levedura, farelo de trigo e calcário. O mínimo foi com o substrato de farelo de milho, sendo os mais econômicos, levedura e farelo de trigo.

Os mesmos autores com o fim de estabelecerem a eficiência de diferentes substratos para fabricação de bioestimulantes rumenos em comparação aos bioestimulantes importados, efetuaram dois experimentos com aves. Constataram que o máximo de conservação das vitaminas A, E, B₁, B₂ e niacina durante seis meses para os estimulantes nacionais ocorreram com levedura, calcário e farelo de trigo. Com os preparados estrangeiros, o conteúdo de vitamina A, após seis meses de conservação estava íntegro e, de acordo com a bula (fórmula). A economicidade foi maior com substratos de levedura e farelo de trigo.

KIYOSHI (1973) verificando efeitos de preparados de pituitárias de mamíferos e aves sobre o desenvolvimento folicular em galinhas tratadas com metalibure e em regime de restrição alimentar total, utilizou o seguinte método para obter

os preparados glandulares: pituitárias da glândula anterior de aves (CAP) foram coletadas de frangos de ambos os sexos, armazenadas por curto espaço de tempo a -20°C . A CAP foi homogeneizada em solução salina fria e colocada num recipiente contendo gelo antes de ser injetada. Parte deste preparado foi armazenado durante duas semanas em acetona fria substituindo com acetona fresca, cada três dias, e depois secada e colocada em um dissecador. A CAP seca foi então homogeneizada em solução salina fria antes de ser utilizada injetável.

3.3 - Emprego dos Bioestimulantes

3.3.1 - Aves

BEGALINBSKI, citado por IOPA e MANOV (1958), aplicou em 257 patos doentes, um bioestimulante na dose de 1 ml, quatro vezes, com intervalo de cinco dias, obtendo após a primeira aplicação, melhora de apetite, atitude ativa e no final do tratamento as aves melhoraram totalmente o empenamento e cessou completamente a mortalidade.

PETRUSKIN e DAHKILJGOVA (1961) forneceram 1 ml por ave de bioestimulante, diariamente, durante quatro dias a 1.000 poedeiras, divididas em 500 tratadas e 500 não tratadas. O tratamento foi repetido quatro vezes com intervalos de sete dias. As aves tratadas superaram em 11,3% a produção de o-

vos das testemunhas e no período experimental a mortalidade das aves tratadas foi de 5,8% contra 9,2% das que não receberam bioestimulantes. Os mesmos autores repetiram o experimento, utilizando 14.000 galinhas não confinadas, fornecendo 1 ml de bioestimulante por ave. As aves, no início do experimento, tinham em média, 32% de postura e empenamento deficiente. Após três períodos de aplicação do preparado a postura aumentou em 30 a 40 dias, 70 a 80% , notando-se a melhoria do empenamento e aumento do apetite das aves. Em seguida os autores conduziram experimento com 5.500 marrecos de postura que receberam bioestimulante, conseguindo no fim do ensaio 30 a 80% no aumento de postura e maior atividade sexual dos machos.

JULENKO (1958), citado por BOCAROVA (1966) aplicou preparado "SB" (soro sanguíneo de proteína desnaturada) em aves reprodutoras. O soro foi injetado por via intramuscular em dose de 4 ml por ave, três vezes, em dias alternados. Os resultados obtidos demonstraram ter havido estímulo da função sexual, aumento da postura em 14,2% , no mês seguinte à aplicação. Houve também melhora em 10% da incubabilidade. Doses maiores tiveram efeitos adversos.

BOCAROVA (1966) efetuou experimento utilizando reprodutores que receberam preparado "SB" (soro sanguíneo). O ensaio efetuado envolveu 38 reprodutoras da raça moscovita branca, com um ano de idade. As aves foram divididas em quatro grupos, após dois meses de pré-experimento, de acordo com postu

ra e peso de ovo, sendo três grupos experimentais que recebiam, respectivamente, 2 , 4 e 6 ml por ave do bioestimulante e o quarto grupo testemunha, nada recebendo. A aplicação do "SB" a galos e galinhas era intramuscular, três vezes em dias alternados. Baseando-se nos resultados dos experimentos o autor concluiu que doses adequadas do bioestimulante em reproduto - ras aumentaram postura, incubabilidade e qualidade da progênie. A dose ideal foi 2 ml por ave aplicada três vezes promovendo um aumento de 11,6% , em média de postura, em três vezes e a eclo - dibilidade em 10,3%. Doses de 6 ml inibiram a postura e ferti - lidade dos ovos, o que está de acordo com pesquisas anteriores de JULENKO (1958), citado por BOCHROVA (1966).

GRANAT *et alii* (1964) testando velocidade de crie - cimento em frango de corte, num período de 110 dias, não encon - traram diferença significativa, quando aplicaram nas aves dose de 0,5 ml , em intervalo de 10 dias, com extrato de baço ou de testículo.

Contudo, OE *et alii* (1966) forneceram a pintos, doses de 0,5 a 1,0 ml de preparado de tiróide (I. C. E.) e a conversão das aves tratadas foi superior em 82 a 93% às teste - munhas, aos 50 e 60 dias. Aos 47 e 61 dias o ganho de peso e - ra de 14,02 e 13,11 g para as aves que receberam doses de 0,5 e 1,0 ml do preparado.

VORONEDOV e NEFEDOV (1966) utilizaram 100 frangos, durante 23 dias fornecendo, a cada ave, 2 ml de preparado de

baço de bovino, cinco vezes, com intervalo de três dias e, em seguida, forneceram a outras 100 aves, 4 ml do mesmo preparado, conseguindo um ganho de peso de, respectivamente, 265 e 253 g.

Prosseguindo os estudos acerca do emprego do preparado "SB" em avicultura, BOCAROVA (1967) estudou a ação deste bioestimulante sobre os embriões, pintinhos e galinhas adultas, bem como a técnica exata da sua aplicação e dosagem. Os estudos revelaram que:

- a - A injeção do preparado heteroproteico "SB" no ovo não estimula o desenvolvimento embrionário e por outro lado esta prática é inviável na moderna incubação;
- b - A injeção subcutânea em pintinhos de dez dias na dose de 0,008 mg/g de peso vivo, influiu no seu crescimento e desenvolvimento.
- c - A injeção de "SB" no músculo peitoral das reprodutoras na dose de 1 ml/kg de peso vivo estimulou os processos de troca, aumentando a postura, incubabilidade e quali-dade dos pintinhos;
- d - A ação do preparado "SB" sobre o organismo da ave é de curta duração.

ROGOZIN e RADKEVIC (1967) estudaram a influência do hormônio anabólico fenil-propionato-dl-19-nor-D-homo-testosterona e preparado de tecidos embrionários secos, sobre o crescimento de frangos de corte, provenientes de cruzamento de Sussex x Vermelha de Rabo Branco. Os pintinhos experimenten

tais foram selecionados aos 13 dias e divididos em um grupo testemunha, um grupo que recebia hormônio injetável por via intramuscular e a um terceiro grupo o qual foi fornecido o preparado de embriões misturado à ração. O hormônio era diluído em óleo de pêssego e aplicado aos pintinhos na dose de 1,2 mg/kg de peso vivo, sendo 0,2 ml aos 13 dias de idade, 0,4 ml aos 42 dias e 0,5 ml aos 73 dias. O preparado de tecidos era fornecido diariamente com a ração na dose de 0,2 g/kg de peso vivo durante todo o período experimental. O peso vivo médio das aves tratadas (com exceção do grupo 2, aos 30 dias de idade) foi superior ao testemunha durante todo o período do experimento e no 90º dia, a diferença por ave foi de 79,7 g, no grupo 2, e 46,5 g, no grupo três. Os aumentos dos pesos médios desde o início do experimento até o 90º dia foram superiores às testemunhas em 4,2 e 2,4%. Os autores, pelos resultados conseguidos chamam a atenção para o detalhe de que os acrêscimos de peso dos pintinhos do terceiro grupo, até o 50º dia de idade foram superiores aos do segundo grupo. Posteriormente os acrêscimos de peso dos pintinhos do segundo grupo, superaram quase em duas vezes os dos pintinhos do terceiro grupo. Para os autores, a dinâmica dos acrêscimos de pesos médios nos grupos testes indica que períodos de crescimento intenso se alternam com períodos de crescimento mais lento.

GORLOVA (1971), testou em grupos de 240 aves por tratamento, com 20 a 60 dias de idade, um extrato de tecido.

As aves tratadas compreendiam cinco tratamentos e a testemunha, era o sexto tratamento. As doses empregadas foram 0,05, 0,1 e 0,2 g de tecido por kg de peso vivo misturadas à dieta e para dois grupos foram fornecidas injeções simples de 2 e 4 mg de testosterona por kg de peso vivo. Comparados com os controles, houve maior aumento com 2 mg de testosterona (19%). O maior aumento ocorrido com preparado de tecido (6%) ocorreu com a dose de 0,2 mg.

PALAMARU *et alii* (1968) experimentaram diferentes preparados de bioestimulantes rumenos e importados, em pintos de corte e poedeiras a fim de estabelecer as suas eficácias sobre a produção (aumento de crescimento nos primeiros e quantidade de ovos nos segundos), bem como, a velocidade de perda de diferentes vitaminas que entram na sua composição, particularmente as lipossolúveis. No experimento que durou 75 dias os pintos tratados apresentaram-se com 15,1 e 19,5% de peso corporal médio superior à testemunha. A economia de alimento por kg de peso vivo ganho foi de 17,4 e 22,9%. O preço de alimento consumido pelos lotes experimentais por kg de aumento de peso vivo foi de 3,3% a 16,9% menores que o do lote testemunha. Entre as poedeiras tratadas o aumento de ovos foi 11,8 a 13,3% superior às não tratadas. O consumo de ração para obter dez ovos foi 3,8 a 7,9% mais reduzido do que para a testemunha. Por outro lado, a taxa de eclosão e o conteúdo em vitamina dos ovos foram mais elevados nos animais que receberam bioestimulante.

SOKOLOVA (1971) forneceu a 250 aves um preparado de tecidos s $\bar{o}$, preparado de tecidos mais suplemento da dieta e a testemunha (sem preparado e suplemento). As aves que receberam s $\bar{o}$ o preparado, ap $\bar{o}$ s 60 dias, tiveram um ganho de peso de 14,3% superior $\bar{a}$ s testemunhas. Estes resultados foram confirmados por uma etapa de um ensaio similar quando SULJUMOVA (1971) em experimento envolvendo 1.200 pintos e 4.992 poedeiras, encontrou que o peso vivo das aves que receberam s $\bar{o}$ bioestimulante excedeu ao da testemunha em 21,5 e 23,3% , nos primeiros trinta dias de vida e em 10,8 e 11,1% nos trinta dias seguintes. Nos tr $\bar{e}$ s experimentos com poedeiras, as aves recebendo 1 g de bioestimulante diariamente, tiveram um aumento de 13,9 e 19,3% na postura, em rela $\tilde{c}$ ao $\bar{a}$ testemunha. O peso dos ovos das aves que receberam o bioestimulante foi de 57,5 , 51,2 e 53,0 g , versus 55,5 , 48,3 e 52,0 g das testemunhas.

A efic $\acute{a}$ cia do bioestimulante com inclus $\tilde{a}$ o de outros aditivos $\bar{a}$ ra $\tilde{c}$ ao foi reafirmada por KOVBASSENKO (1968) que conduziu uma s $\acute{e}$ rie de tr $\bar{e}$ s experimentos visando verificar o efeito de alguns preparados de tecido seco, vitamina B₁₂ concentrada e sua combina $\tilde{c}$ ao com antibi $\bar{o}$ ticos sobre a qualidade de ovos de poedeiras comerciais e reprodutoras. O fornecimento de 1 g di $\bar{a}$ rio de preparado de tecido seco aumentou o peso do ovo de 2,0 a 5,8% comparado aos controles que n $\bar{a}$ o receberam tratamento. A eclodibilidade dos ovos postos por reprodutoras que receberam um suplemento de vitamina B₁₂ foi de 82,2%

versus, 76,1% para os ovos das aves sem suplemento.

A comprovação da melhor eficiência do bioestimulante seco quando combinado a aditivos suplementares é evidenciado por mais um trabalho de KOVBASSENKO (1969) em que o autor procurou estudar a influência do preparado de tecidos secos, não aproveitados na alimentação, combinados à biomicina, sobre a alteração do aspecto exterior de frangos de corte. Entende o pesquisador que com a idade deve ser aumentada também a dose do aditivo (BKV) , concluindo, ainda que:

- a - Pintos de 10 a 30 dias de idade suplementados com ração contendo bioestimulante e biomicina melhoram o seu crescimento.
- b - Bioestimulante mais biomicina mais ração aumentam os índices externos de pintinhos, a medida que aumenta o seu peso vivo.
- c - No caso de pintos da raça russa branca com 10 a 30 dias de idade o mais indicado foi fornecer 0,5 g de preparado de tecido seco acrescido de dose completa de BKV.

KOVBASSENKO (1970) estudou a alteração dos ovos e carne de poedeiras sob a influência de doses de bioestimulantes de tecidos secos provenientes do resto de abate de animais. Foram utilizadas 4.172 poedeiras da raça russa branca com idades variando entre 8 e 18 meses. O grupo teste recebia 1 g por ave por dia de bioestimulante mais ração e a testemunha, só ração. O experimento revelou que a postura do grupo trata

do foi bem superior ao controle nas três repetições em 20,5% na quantidade de carne e 3,8% no peso de ovos. Em comparação ao grupo controle os carotenóides se elevaram em 8,32 microgramas por ovo e por conseguinte, houve melhora na classificação.

KRASIL'NIKOVA (1970) estudou a influência do bioestimulante seco de tecido embrionário em 1.582 poedeiras. A pesquisa consistia de duas partes: na primeira era determinada a dose mais ativa do estimulante para as aves e, na segunda o efeito do bioestimulante na postura.

Galinhas de ambos os grupos tiveram um aumento de peso em média, de 100 g por cabeça. Com dose de 0,2 g a postura foi igual à testemunha e com 0,3 g de bioestimulante a postura superou à testemunha. O peso das galinhas diminuiu, e a postura foi idêntica às testemunhas. Foi observado um decréscimo de peso nas galinhas equivalentes a 124 g por cabeça em média. A postura foi maior que nas testemunhas.

As galinhas que receberam o estimulante na dose de 0,3 por cabeça apresentaram postura mais elevada. O peso das galinhas diminuiu. Consequentemente o bioestimulante seco na dose de 0,5 g por cabeça não apresentou atividade estimulante sobre as galinhas.

O aumento da dose até 1 g por cabeça, provocou diminuição da quantidade dos elementos básicos do sangue e uma perda de peso ainda maior nas galinhas. Desta forma, o bioestimulante seco, de tecido embrionário na dose de 1 g por cabeça apresenta uma ação inibidora sobre as galinhas. Os resultados das presentes pesquisas coincidem com os trabalhos de outros autores. Assim, XAITOV (1966), estudando a ação de diferentes doses de preparados de tecidos feitos de baço e fígado de gado sobre as coelhas, constataram que o estimulante em doses mais altas não apresentaram influência estimulante substancial e até impediam o crescimento das coelhas. Esse autor chegou à mesma conclusão, durante o estudo da influência do estimulante feito de baço sobre os bezerros. Ele afirmou que o melhor efeito estimulante do preparado de baço foi obtido com dose de 4 ml. Doses de preparado de tecidos, superiores a 4 ml, não acusaram efeito estimulante.

Resultados semelhantes obteve ZINCTHENKO (1966) verificando a influência do estimulante sobre os leitões. Baseando-se no acima citado, o autor pôde concluir que a dose mais ativa para as galinhas do estimulante biogênico seco, feito de tecido embrionário foi 0,3 g por cabeça.

Utilizaram de 3.200 galinhas, estas foram divididas em 1.550 testemunhas e 1.650 experimentais. No período preparatório a alimentação e a manutenção das aves eram idênticas. Na fase pré-experimental foram verificados: peso das aves, quantidade e peso dos ovos, quando, também foram achados

iguais resultados para tratamentos e testemunha. Na fase experimental, que durou três meses as testemunhas receberam estimulante de tecido embrionário na dose de 0,3 g por cabeça por dia, misturado com ração umedecida. Pelos resultados encontrados experimentalmente, o autor concluiu que:

- 1 - O bioestimulante de tecido embrionário seco eleva, em média, 13% a postura das galinhas.
- 2 - O peso médio dos ovos das galinhas tratadas era superior a 3,4% ao peso dos ovos das testemunhas.
- 3 - As galinhas tratadas, não perderam peso durante o período de postura intensa.
- 4 - O bioestimulante de tecido embrionário seco na dose de 0,3 g por cabeça por dia pode ser recomendado para o aumento da postura em galinha.

DENOVSKI e POPHRISTOV (1969) visando verificar o efeito dos estimulantes biogênicos sobre o conteúdo de aminoácidos no soro sanguíneo, músculos, fígado e fração protéica daquele soro em aves, forneceu a pintos de um dia, 0,3 ml por ave uma emulsão de bioestimulante.

Os resultados demonstraram que os aminoácidos totais aumentaram no soro, fígado e músculo, pela ação do bioestimulante. Dentre os aminoácidos encontrados existiam alguns essenciais, como, tirosina, lisina, cistina, e metionina. No soro, as proteínas totais, aumentaram, bem como as gamaglobulinas.

3.3.2 - Mecanismos de ação dos bioestimulantes

As principais pesquisas realizadas com a finalidade de determinar o mecanismo de ação dos bioestimulantes, foram feitas por médicos, utilizando principalmente animais de laboratório, e, em alguns casos, os próprios pacientes.

Alguns efeitos observados, foram os seguintes:

- a - Ação vasodilatadora, devido à ação hormonal da hipófise, provocada pelas estimulinas biogênicas.
- b - Determinação de um quadro de eosinopnêia e hipoglicemia, muito semelhante ao que sucede com a terapia com A.C.T.H. ou com cortisona, BOSCHI e GASPARI (1951).
- c - Aumento ponderal do baço e hipertrofia dos linfonóides.
- d - Aumento ponderal do cortex da supra-renal, do glicogênio e consequente hipersecreção do tipo cortisônico. Esta ação sobre o cortex da supra-renal poderia ser direta (presença de A.C.T.H. no preparado) ou indireta, segundo o mecanismo de "stress", PENTINI (1950).
- e - Aumento da quantidade de proteínas, enzimas proteolíticas e lipolíticas no soro hemático, VANCEA *et alii* (1959).
- f - Estimulação do sistema retículo-endotelial, com consequente hiperleucocitose.
- g - Presença de um coenzima não específico, capaz de ativar diversos enzimas específicos que acelerariam inúmeras reações bioquímicas, VOLOSEVIC (1970.a).

Pelos trabalhos de CHULIOMOVA (1956) foi provado que as estimulinas biogênicas produzem inúmeros efeitos no organismo, ou seja, aumentam a reação fisiológica e imuno-biológica no organismo, aumentam a produção das aglutininas, hemólise, antitoxinas, etc. Faz, ainda modificar a composição morfológica do sangue, aumenta o conteúdo de hemoglobina e a quantidade de eritrócitos.

IOPA e MANOV (1958) revisando trabalhos sobre a teoria biogênica de FILATOV citaram que HARCOV, na sua tese de doutoramento, "Terapia Tissular na Cirurgia Veterinária", constatou pelos testes biológicos do trabalho experimental, ação dos preparados de tecidos, no estímulo à hemopoese, verificando-se aumento de hemoglobina em 10 a 16% , aumento da quantidade de eritrócito de 0,8 a 1,5 milhões, leucócitos de 3 a 6 mil, aumento brusco da reação imuno-biológica, aumento em 2 a 2,5 vezes da atividade fagocitária dos neutrófitos e acréscimo de 3 a 3,5 vezes do índice anti-tóxico.

CARVALHO (1971) aplicou extrato de fígado de cavalo em coelhos e suínos encontrando que os seus resultados discordaram dos encontrados na literatura consultada, em relação ao quadro hemático, não se verificando nos coelhos, grandes variações. Já nos suínos foi verificado um leve aumento dos leucócitos.

KRASILNIKOVA (1970) estudando a influência de bioestimulante de tecido seco embrionário sobre a postura de galinhas, analisou a composição morfológica do sangue (quantidade

total de elementos básicos, quantidade de eritrócitos, leucócitos e trombócitos) porcentagem de hemoglobina, a quantidade total de albumina no soro sanguíneo. Verificou que as quantidades de elementos básicos, quantidade de eritrócitos, trombócitos diminuem ligeiramente nas aves testemunhas em comparação com os resultados obtidos antes do fornecimento do bioestimulante seco, embora a porcentagem de hemoglobina, nas mesmas condições, quase não se alterou. Contudo, com o fornecimento diário do estimulante nas doses de 0,2 e 0,3 g por cabeça, a quantidade total dos elementos básicos aumentou em 254.000 e 334.000, respectivamente, aumentando também a quantidade de albumina no soro sanguíneo em 0,76 e 1,15% e o teor de hemoglobina em 7%.

DENOVSKI e POPHRISTOV (1968), estudando o efeito de preparado de FILATOV sobre o conteúdo de aminoácidos do soro sanguíneo, músculo e fígado, e frações protéicas no soro sanguíneo de pintos, encontrou aumento na quantidade de aminoácidos nos três tecidos dos animais que receberam o bioestimulante, inclusive detectou aumento de aminoácidos essenciais, como tirosina, lisina, cistina e metionina. Foi encontrado também, no soro, aumento da proteína total e gamaglobulina.

KIRILIN (1968) utilizou suínos de dois a quatro meses de idade na aplicação de bioestimulante de fígado de bovino, fornecendo uma dose de 0,1 mg por kg de peso vivo, a fim de verificar a composição do sangue dos animais tratados. Não encontrou mudanças significativas de proteína total no conteúdo

do soro sanguíneo dos animais de dois meses. Gamaglobulina aumentou de 19,49 para 28,88% em sete dias e voltou a 21,84% aos quinze dias e albumina decresceu de 40,61 para 34,92%, aos sete dias, subindo novamente, aos quinze dias para 38,34%. As mudanças no soro dos suínos com três meses foram similares. Nos suínos com quatro meses, a proteína total do soro não mudou significativamente. Alfa , Beta e Gama globulina aumentaram respectivamente de 21,53 para 23,68 , de 19,76 para 21,68 e de 20,17 para 25,45% em quinze dias, tendo decrescido a albumina de 38,54 para 29,19% .

MIHAJLOV (1967) utilizando um preparado seco a 45°C , de embriões de um a três meses e outro preparado de tecidos de ovário e útero seco a 70°C encontrou um aumento de glóbulos brancos e vermelhos no sangue, bem como, aumento de teor de hemoglobina e proteína total do soro, além de Beta e Gama globulina.

HAITOV *et alii* (1967) injetaram, em coelhos, extratos de fígado e baço encontrando aumento do índice hemático e maior atividade dos sistemas retículo-endotelial.

VOLOSENVICH (1972) informou que extratos de tecidos tem influência na progênie pelo seu conteúdo de aminoácidos livres e não pela presença de hormônios sexuais.

4 - METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, no Departamento de Zootecnia e na Granja Sumaré, em Sumaré, Estado de São Paulo. A duração experimental, compreendendo fase pré-experimental (duas semanas) e fase experimental (18 semanas) ocorreu no período de 28 de agosto de 1975 a 23 de janeiro de 1976.

Foram utilizadas 200 galinhas matrizes e 20 galos da linhagem "Hubbard", adquiridos, por empréstimo, à Granja Sumaré. As aves tinham 53 semanas de idade no início do experimento sobre reprodução. Os pintos nascidos de cada quarta incubação dos ovos das reprodutoras foram utilizados nos experimentos sobre crescimento.

As matrizes receberam programa de luz a partir da oitava semana, mas na fase experimental não foi fornecido luz artificial. Dos 80 dias até 140, as matrizes tiveram restrição alimentar que consistia em não fornecer ração às quartas-feiras e domingos. Ao iniciar a postura passou-se ao regime de dia "sim" dia "não" até 180 dias. Daí em diante, eram fornecidas 150 gramas por dia. As aves foram vacinadas contra a doença New Castle aos 8 e 28 dias, na água de beber e aos 50 e 120 dias por via injetável. Daí em diante voltaram a ser vacinadas contra New Castle, a cada quatro meses. Aos 40 e 60 dias receberam tartarato de tilosina (ELANCO) injetável. Foram feitos quatro testes de pulorose. As matrizes foram alojadas em casas-colônia, com piso de cimento e cama de maravalha, havendo nos alojamentos ninho tipo "açalpão" e poleiro, sendo os bebedouros e comedouros de cimento. Para cada casa-colônia, com lotação de dez galinhas e um galo, havia um piquete gramado, onde as aves eram soltas diariamente.

As matrizes receberam ração utilizada e preparada na Granja Sumaré, cabendo 150 g por cabeça por dia para as galinhas e 200 g por cabeça por dia para os galos. Aos pintinhos a ração foi fornecida "ad libitum" sendo utilizada ração comercial para frangos de corte (Rações Anhanguera S. A.).

4.1 - Delineamento Experimental

O experimento foi realizado em parcela subdividida partindo do delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, quatro repetições e dez matrizes e um galo por parcela. O tratamento 2 recebia três vezes por semana produto comercial contendo vitaminas e aminoácidos solúveis (Amino-sol-Laboratórios Valinhos S. A.) sendo a dosagem de 10 ml do produto por dois litros de água de beber por parcela. Os tratamentos 3, 4 e 5 separadamente receberam 1 ml de bioestimulante injetável no peito, a cada 7, 14 e 21 dias de intervalo, respectivamente.

No início do experimento as aves matrizes foram pesadas por parcela e os galos individualmente. Até o final do experimento foram feitas cinco pesagens, a cada 28 dias.

4.2 - Preparação do Bioestimulante

Após o recebimento das glândulas hipófises, suprarrenais e testículos de bovinos os quais permaneceram durante uma semana em geladeira entre 0º e 4ºC, houve sequenciamento de procedimentos para a preparação do extrato de tecidos, conforme métodos de FILATOV, citado por IOPA e MANOV (1958) com algumas modificações introduzidas no presente experimento. Toda gordura foi retirada do material fresco sendo este moído e

pesado em seguida. Adicionou-se o dobro do material moído, em água (1:2) fervendo-se durante duas horas em banho-maria a 70°C , mexendo-se para o material não grudar no fundo do rece_upiente. Passou-se na peneira, espremendo-se bem o resíduo , colocou-se em bandeja secando-se em estufa de ar circulante a 70°C . Quando totalmente seco, obteve-se a farinha resí_udual. O líquido obtido através de peneiragem foi decantado e filtrado em vácuo, pela trompa, com auxílio de um kitasato, funil e algodão, até a clarificação. Obteve-se, assim, o extrato que foi guardado em geladeira.

4.3 - Material Utilizado

- Balança Hobart-Dayton (tipo Filizola) - Capacidade, 25 kg;
- Moedor Kitchen-Aid;
- Banho-maria, temperatura controlada automaticamente a 70°C ;
- Estufa Thelco (ar circulante) regulada a 70°C ;
- Estufa secadora Fabbe (ar circulante) regulada a 70°C ;
- Filtração: trompa a vácuo, kitasato, funil e algo_udão.

4.4 - Armazenamento

- Farinha, em sacos plásticos.
- Extrato, em latas fechadas à máquina e colocadas em congelador à temperatura de 20°C a 35°C negativos.

Os extratos misturados foram guardados por 48 horas em geladeira a 8°C.

4.5 - Preparo do Material para Pesquisa

Os líquidos depois de clarificados e filtrados foram divididos em duas frações. Uma delas foi enlatada e guardada no congelador e a outra foi guardado em geladeira, após ter sido feita a seguinte mistura: extrato de testículo, 50%; extrato de hipófise, 25% e extrato suprarrenal, 25%. Foram preparados dois litros de mistura para serem utilizados neste trabalho.

4.6 - Esterilização e Acondicionamento

Os dois recipientes de 1 litro cada, contendo a mistura foram armazenados à temperatura de 8°C durante quatro dias. A mistura foi transferida para recipientes de vidro, ambos de 250 ml e esterilizada em autoclave. Após es-

friamento os recipientes foram lacrados com tampa de borracha e anel de alumínio e armazenados a 4°C .

4.7 - Dados Observados

4.7.1 - Peso das aves

As galinhas foram pesadas por parcela em engradado previamente tarado, sendo os galos pesados individualmente por parcela. Este procedimento foi repetido cinco vezes ao longo da fase experimental, a cada 28 dias.

4.7.2 - Consumo de ração

Foi fornecida diariamente a quantia de 1,70 kg por parcela, cabendo assim, 150 g por matriz por dia.

4.7.3 - Produção de ovos

Diariamente eram feitas quatro colheitas de ovos, ocasião em que os mesmos eram marcados na casca, discriminando parcela e dia. O número total de ovos produzidos pelas dez aves de cada uma das dez parcelas era anotado diariamente em ficha própria. Os ovos abaixo de 52 g e acima de 75 g bem como os quebrados, rachados e trincados, eram descartados e anotados. Após esta operação os ovos eram pesados por parce -

la, obtendo-se o peso médio por parcela.

Em seguida os ovos selecionados eram fumigados, com formol e permanganato de potássio, embalados e colocados em local fresco. Após seis dias eram transportados para serem incubados na Granja Sumaré.

4.7.4 - Ovoscoopia

Ao 18.^o dia de incubação era feita a ovoscoopia, sendo eliminados, ovos claros e embriões mortos. Em seguida eram separados por parcela e colocados em sacos de filô para identificação dos pintos nascidos e levados à câmara de eclosão. Nessa ocasião os ovos eram fumigados novamente.

4.7.5 - Nascimento

Aos 21 dias os pintos nascidos eram pesados por parcela e feitas as seguintes anotações: pintos refugos, pintos nascidos, ovos picados e pintos mortos. A cada quatro incubações os pintos nascidos eram marcados com cortes nos dedos e transferidos para galinheiros onde permaneciam até 28 dias de idade para verificação do efeito de transferência ("carry-over") do bioestimulante a progênie, através do ovo.

4.7.6 - Mortalidade

Era feita a anotação, no dia da ocorrência tanto de mortalidade dos reprodutores como dos pintos.

4.7.7 - Análises estatísticas

Análises de variância dos diversos dados coligidos foram desenvolvidos de acordo com o método descrito por PIMENTEL GOMES (1966) para um delineamento experimental inteiramente casualizado, em parcela subdividida.

Estas análises foram realizadas com auxílio do computador eletrônico da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

Em caso de significância, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, também como recomenda o autor acima.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Considerações Gerais

A parte experimental compreendeu duas fases, sendo a primeira relativa às matrizes onde se procurou saber: peso dos reprodutores no início do experimento e a cada 28 dias, até o fim do ensaio. Produção e peso dos ovos, incubabilidade total, incubabilidade dos ovos férteis e fertilidade. A segunda parte consistiu no teste do efeito "carry-over" dos pintos oriundos do nascimento a cada 28 dias, durante os quatro períodos experimentais.

5.2 - Produção de Ovos

Cada um dos valores médios apresentados na Tabela 1 , representa a média de quatro parcelas, composta de dez galinhas e um galo, durante quatro meses (períodos). As médias de cada tratamento e subtratamento (período) estão acompanhadas das respectivas análises de variância.

TABELA 1 - Médias de produção de ovos por tratamentos e períodos

Tratamentos	Médias
1	157,812
2	135,937
3	141,187
4	143,437
5	152,825
D.M.S. (5%)	27,193
C. V. %	17,037
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	128,850
2	131,550
3	176,100
4	147,900
D.M.S. (5%)	16,484
C. V. %	13,381

D.M.S. = Diferença mínima significativa

C.V. % = Coeficiente de variação

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	4.927,699	1.231,924	1,99
Resíduo (a)	15	9.293,500	619,566	-
Parcelas	19	14.221,199	-	-
Sub-tratamento (P)	3	28.250,099	1.416,700 **	24,64 *
Regressão linear	1	2,248	10.342,890 **	0,17
Reg. Quadrática	1	48,189	4.774,050 **	3,74
Reg. Cúbica	1	9,725	13.133,160 **	0,75
Interação T x P	12	4.301,400	358,450	0,94
Resíduo (b)	45	17.200,500	382,233	-
Total	79	63.973,199	-	-

(*) $P \geq 0,05$ (**) $P \geq 0,01$

Os tratamentos correspondentes à testemunha (1) e bioestimulante, a cada 21 dias (5) apresentaram melhores respostas, não ocorrendo o mesmo com o tratamento 2 (Aminosol). Estes resultados, todavia não foram significativos estatisticamente, concordando com resultados encontrados por GRANT e GLASNAK (1964), mas discordando das pesquisas realizadas por PALAMARU *et alii* (1968), BACAROVA (1966), KOVBASSENKO (1970), KRASILNIKOVA e SULJUMOVA (1971). A literatura pertinente ao assunto revela, na maioria dos casos, resultados positivos com o uso de bioestimulante.

Houve diferença estatística significativa ao nível de 5% de probabilidade entre as médias do terceiro e demais períodos, assim como do quarto e primeiro.

A equação

$$Y = 282,6000 - 270,1750 + 135,5200 x^2 - 19,1000 x^3 ,$$

representativa da curva de regressão cúbica, evidencia um acréscimo de produção no primeiro e segundo períodos, um ponto máximo no terceiro, caindo novamente a produção no quarto período,

Na interação tratamentos x períodos, os melhores resultados foram entre, tratamento 1 x período 3 e tratamento 3 x período 3 .

5.3 - Peso Médio dos Ovos

A média dos pesos dos ovos por tratamentos e períodos e análise de variância estão na Tabela 2 .

As médias de peso de ovos apresentadas na Tabela 2 indicam que houve superioridade de bioestimulantes no tratamento 4 , contudo, estes resultados não foram estatisticamente significativos.

Resultados positivos também foram encontrados com uso de bioestimulante, no aumento de peso de ovos por SULJUMOVA (1971) , KRASIL'NICOVA (1970) , obteve 2 e 4% de peso de ovos a mais em poedeiras que receberam bioestimulante.

TABELA 2 - Médias de peso dos ovos por tratamentos e períodos

Tratamentos (T).	Médias
1	65,574
2	65,877
3	65,626
4	66,682
5	64,050
D.M.S. (5%)	7,910
C.V. (%)	5,520
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	64,717
2	65,796
3	66,881
4	64,855
D.M.S. (5%)	3,032
C.V. (%)	5,470

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	58,440	14,610	1,114
Resíduo (a)	15	196,667	13,111	-
Parcelas	19	255,107	-	-
Sub-tratamento (P)	3	60,171	20,057	1,556
Regressão Linear	1	2,248	2,248	0,174
Reg. Quadrática	1	48,182	48,189	3,739
Reg. Cúbica	1	9,725	9,725	0,754
Interação T x P	12	180,508	15,042	1,754
Resíduo (b)	45	579,906	12,880	-
Total	79			

O terceiro período apresentou maior média de peso dos ovos, mas não houve significância estatística. KOVBASSENKO (1970) encontrou maior peso no primeiro período e menores resultados nos períodos sucessivos.

ROGOZIN e RADKENEVIC (1967) deduziram pelas suas observações experimentais que "na dinâmica de aumentos na produção de animais que recebem bioestimulantes, os períodos de respostas baixas se alternam com os de respostas altas".

5.4 - Incubabilidade Total

Cada um dos valores médios apresentados na Tabela 3 compreende os resultados das incubações das 16 semanas ex-

perimentais, excludas trs incubaes perdidas devido a incidentes mecnicos no incubatrio. A percentagem de incubabilidade total foi encontrada pela aplicao da frmula:

$$\% \text{ Incubabilidade total} = \frac{\text{Nmero de pintos nascidos}}{\text{Nmero de ovos incubados}} \times 100$$

O resultado sofreu transformao da raiz quadrada a seno do arco.

Pela anlise da varincia se observa que no houve diferena significativa entre tratamentos.

TABELA 3 - Mdias de incubabilidade total por tratamentos e perdoos

Tratamentos	Médias
1	44,716
2	48,037
3	45,136
4	46,252
5	36,263
D.M.S. (5%)	16,748
C.V. (%)	34,770
Sub-tratamento (P)	
1	37,039
2	38,606
3	50,795
4	49,983
D.M.S. (5%)	10,141
C.V. (%)	27,190

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	1.328,046	332,012	1,41
Resíduo (a)	15	352,307	235,020	1,41
Parcelas	19	4.853,353	-	-
Sub-tratamento (P)	3	3.171,245	1.057,082 **	7,35 **
Regressão Linear	1	2.578,710	2.578,710 *	17,94 **
Reg. Quadrática	1	30,702	30,702	0,21
Reg. Cúbica	1	561,832	562,753	3,91
Interação T x P	12	1.496,772	124,731	0,87
Resíduo (b)	43	6.181,152	143,748	-
Total	77	15.702,522		

(*) $P \geq 0,05$

(**) $P \geq 0,01$

Pela análise da Tabela 3 as médias de incubabilidade de total dos tratamentos 2 e 4 apresentaram-se inferiores às demais.

Estes resultados encontram concordância em BACAROVA (1966) que obteve média de 10,3% de incubabilidade total, superior à testemunha quando utilizou bioestimulante injetável em reprodutoras.

Tais resultados, também encontram apoio nos trabalhos de PALAMARU *et alii* (1968), SULJUMOVA (1968), esta, utilizando bioestimulante e suplemento de vitamina B₁₂, obte-

ve 82,2% de incubabilidade versus 76,1% da testemunha.

Houve diferença significativa entre os períodos: 1 e 3 ; 3 e 4 ; 2 e 3 ; e 2 e 4 , ao nível de 5% de probabilidade.

Os períodos 3 e 4 apresentaram os melhores resultados como demonstra o teste de Tukey, o que fica evidenciado pela regressão linear ascendente, conforme a equação

$$Y = 31,3857 + 5,0781 x .$$

As médias das interações tratamento versus período apresentaram melhores resultados no tratamento 2 , período 3 e tratamento 2 , período 4 .

5.5 - Incubabilidade dos Ovos Férteis

Cada um dos valores médios mostrados na Tabela 4 a apresentam condições idênticas às do item 5.4 . Para a percentagem de incubabilidade dos ovos férteis foi empregada a fórmula:

$$\% \text{ de incubabilidade dos ovos férteis} = \frac{\text{número de pintos nascidos}}{\text{número de ovos incubados}} \times 100$$

Os resultados foram transformados em arco seno.

A Tabela 4 mostra ainda que houve um aumento nas médias de incubabilidade dos ovos férteis com o emprego de aminosol, (Tratamento 2) e um leve aumento com bioestimulante (Tratamento 4). Os demais tratamentos foram inferiores. Contudo a análise da variância não apresentou significação estatística nem entre tratamentos nem entre períodos.

TABELA 4 - Médias de incubabilidade dos ovos férteis por tratamentos e períodos

Tratamentos (T)	Médias
1	62,561
2	65,999
3	63,788
4	64,384
5	54,859
D.M.S. (5%)	37,350
C.V. (%)	27,450
<u>Sub-tratamento</u> (P)	
1	60,486
2	59,436
3	66,608
4	62,743
D.M.S. (5%)	9,746
C.V. (%)	18,550

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	1.210,717	302,679	1,035
Resíduo (a)	15	4.383,443	4.383,443	-
Parcelas	19	5.595,160	-	-
Sub-tratamento (P)	3	604,954	201,651	1,508
Regressão Linear	1	197,219	127,219	1,475
Reg. Quadrática	1	42,442	42,442	0,317
Reg. Cúbica	1	382,417	382,417	2,861
Interação T x P	12	2.486,958	207,247	1,550
Resíduo (b)	45	6.014,454	133,655	
Total	79	14.700,510		

5.6 - Fertilidade

A percentagem de fertilidade foi encontrada pela fórmula:

$$\% \text{ Fertilidade} = \frac{\text{Número de ovos férteis}}{\text{Número de ovos incubados}} \times 100$$

e os resultados foram transformados em arco seno.

A Tabela 5 apresenta as médias de fertilidade e a análise de variância dos dados coletados durante o período experimental. Apesar de não ter havido efeito de tratamentos, os tratamentos 4 e 2 apresentaram médias acima dos demais. Houve diferença significativa entre os períodos:

1 e 2 ; 1 e 3 ; e 2 e 3 , ao nível de 5% de probabilidade.

A equação de regressão ascendente

$$Y = 37,6132 + 4,2684 x$$

evidencia máxima fertilidade no terceiro período.

JULENKO (1958) citado por BOCAROVA (1966) encontrou resposta positiva na fertilidade em aves que receberam três doses de 4 ml de bioestimulante em dias alternados, informando também que doses maiores provocaram efeitos adversos, afirmando ainda que mais estudos seriam necessários sobre o assunto.

Neste trabalho as doses foram quatro vezes menores mas o intervalo mais longo. BOCAROVA (1966) utilizando 2 ml do preparado em matrizes encontrou diferença de fertilidade altamente significativas. Este autor concluiu ainda que a dose de 6 ml por ave diminuía a fertilidade. No presente experimento notou-se alguns problemas de fertilidade com os galos. Procurou-se corrigir fazendo um rodízio de galos por repetições do mesmo tratamento. Contudo não foi encontrado na literatura consultada, procedimento semelhante, de forma que este fato pode ter influenciado nos resultados de fertilidade.

TABELA 5 - Médias de fertilidade dos ovos por tratamentos e períodos

Tratamento (T)	Médias
1	46,272
2	51,090
3	49,973
4	52,296
5	41,788
D.M.S. (5%)	38,900
C.V. (%)	36,870
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	43,249
2	41,746
3	55,150
4	53,000
D.M.S. (5%)	11,880
C.V. (%)	29,840

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	Q. M.	Q. M.	F
Tratamento	4	1.169,009	292,252	0,921
Resíduo (a)	15	4.754,848	316,989	-
Parcelas	19	5.923,857	-	-
Sub-tratamento (P)	3	2.751,409	917,136 *	4,615 **
Regressão Linear	1	1.821,923	1.821,923 **	9,168 **
Reg. Quadrática	1	2,158	2,158	0,010
Reg. Cúbica	1	927,324	927,324 *	4,666 *
Interação T x P	12	1.448,091	120,674	0,607
Resíduo (b)	45	8.942,656	198,725	-
Total	79	19.066,007		

(*) $P \geq 0,05$

(**) $P \geq 0,01$

5.7 - Médias de Peso dos Galos em Intervalos de 28 Dias

Cada um dos valores médios apresentados na Tabela 6 representa as médias de cinco pesagens. A primeira pesagem foi feita no início do experimento e as restantes a intervalos de 28 dias até o final do ensaio.

Pelo exame da Tabela 6, nota-se não ter havido e feito de tratamentos nem de períodos. Observa-se todavia, que as mais altas médias de pesos se verificaram, por ordem, nos Tratamentos 5, 4 e 3 (bioestimulante), enquanto que a testemunha e o Tratamento 2 (aminosol) se mostraram mais baixos. Quanto a períodos, o quarto se mostrou com médias mais

elevadas.

Resultados positivos com uso de bioestimulante foram encontrados por VORONEDOV e NEFEDOV (1966) , OE *et alii* (1966) , PALAMARU *et alii* (1968) , SULJUMOVA (1971) e KOVBA - SENKO (1969) , diferentes, portanto dos encontrados pelo autor.

TABELA 6 - Médias de pesos dos galos com intervalos de 28 dias

Tratamento (T)	Médias
1	1,024
2	0,943
3	1,051
4	1,036
5	1,086
D.M.S. (5%)	0,214
C.V. (%)	19,084
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	1,021
2	1,021
3	1,019
4	1,051
D.M.S. (5%)	1,116
C.V. (%)	19,080

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	0,180	0,045	1,172
Resíduo (a)	15	0,577	0,038	-
Parcelas	19	0,757	-	0,247
Sub-tratamento (P)	3	0,013	0,004	-
Regressão Linear	1	0,007	0,007	0,419
Reg. Quadrática	1	0,004	0,005	35,353
Reg. Cúbica	1	0,001	0,001	0,059
Interação T x P	12	0,055	0,004	0,247
Resíduo (b)	45	0,846	0,018	-
Total	79	1,674		

5.8 - Médias de Peso das Matrizes em Intervalos de 28 Dias

Cada um dos valores médios apresentados na Tabela 7 representa igualmente a média de cinco pesagens, a cada intervalo de 28 dias.

Observando a Tabela 7, nota-se que o bieestimulante utilizado nos diversos tratamentos proporcionou melhores pesos, enquanto que a testemunha e o Tratamento 2 (aminosol) apresentaram os menores ganhos de peso das matrizes. Mesmo assim estes resultados não foram estatisticamente significativos, conforme se pode observar pela análise de variância.

KRASILNIKOVA (1970) encontrou aumento de 100 g por cabeça em matrizes que receberam bioestimulante, informando ainda que mesmo durante o período de intensa postura as aves não perderam peso o que não sucedeu com a testemunha.

Houve diferença significativa entre as médias dos períodos 1 e 2 , e 1 e 4 ao nível de 5% de probabilidade.

A equação quadrática

$$Y = 0,82690 + 0,28320 X - 0,04950 X^2$$

indica que a maior média de peso das matrizes ocorreu bem próximo do terceiro período.

TABELA 7 - Médias de peso das matrizes em intervalo de 28 dias

Tratamentos (T)	Médias
1	1,075
2	1,151
3	1,163
4	1,158
5	1,134
D.M.S. (5%)	0,225
C.V. (%)	18,100
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	1,061
2	1,193
3	1,123
4	1,167
D.M.S. (5%)	0,095
C.V. (%)	18,100

Análise de Variância

Fonte de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento (T)	4	0,082	0,0207	0,4882
Resíduo (a)	15	0,634	0,0423	-
Parcelas	19	0,716	0,0661 **	-
Sub-tratamento (P)	3	0,198	10,1021 **	5,240 **
Regressão Linear	1	0,127	15,5374 **	10,102 **
Reg. Quadrática	1	0,196	0,0202	15,537 **
Reg. Cúbica	1	0,0002	0,0130	0,079
Interação T x P	12	0,155	0,0126	1,028
Resíduo (b)	45	0,567		
Total	79			

(*) $P \geq 0,05$

(**) $P \geq 0,01$

5.9 - Médias de Peso da Progenie nos 28 Dias de Idade

Conforme demonstra a Tabela 8 não houve efeito de tratamentos quanto ao peso inicial da progênie. Estes resultados estão em desacordo com os anteriormente encontrados por PITZHEALARI e TCHIKADZE (1966), BOCAROVA (1966) que obtiveram resultados significativos no peso da progênie quando forneceram bioestimulante a matrizes.

No presente trabalho encontrou-se, aproximadamente, 7% de diferença entre os tratamentos 2 e 4.

Foram encontradas diferenças significativas entre as médias dos períodos 1 e os demais 2 e 3 e 3 e 4, ao nível

vel de 5% de probabilidade.

A curva da equação de regressão cúbica

$$Y = 1.608,3691 - 1.657,02492 X + 706,48125 X^2 - 92,60483 X^3$$

mostra que o peso mínimo ocorreu próximo ao período 2 e o máximo, pouco depois do período 3, com um ponto de inflexão do segundo para o terceiro período.

TABELA 8 - Médias dos pesos da progênie aos 28 dias de idade

Tratamentos (T)	Médias
1	460,320
2	436,719
3	441,767
4	466,297
5	441,342
D.M.S. (5%)	47,520
C.V. (%)	7,310
<u>Sub-tratamento (P)</u>	
1	565,214
2	379,399
3	495,289
4	357,254
D.M.S. (5%)	37,872
C.V. (%)	7,306

Análise de Variância

Fonte de Variação	G.L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamento	4	11.019,031	2.754,758	1,456
Resíduo (a)	15	28.379,039	1.891,936	-
Parcelas	19	39.398,070	-	-
Sub-tratamento (P)	3	578.194,398	192.731,466 **	95,493 **
Regressão Linear	1	258.055,871	258.055,871 **	127,860 **
Regressão Quadrática	1	11.414,641	11.414,642 *	5,655 *
Regressão Cúbica	1	308.723,586	308.723,587 **	152,964 **
Interação T x P	12	17.507,773	1.458,981	0,722
Resíduo (b)	39	78.712,382	2.018,266	
Total	73	713.811,953		

(*) $P \leq 0,05$ (**) $P \geq 0,01$

6 - CONCLUSÕES

Nas circunstâncias em que se realizou o experimento e pelos dados obtidos pode-se concluir o seguinte:

- 1 - A produção de ovos não foi afetada com a utilização de bioestimulantes. Há, contudo, diferenças de produção entre períodos quando da aplicação dos produtos.
- 2 - Os bioestimulantes afetaram positivamente o peso dos ovos apesar de não apresentarem significância estatística.
- 3 - Não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos na incubabilidade total. Contudo houve significação estatística quanto a períodos.
- 4 - As médias de incubabilidade dos ovos férteis e fertilidade foram melhores com o uso de aminosol e bioestimulante. Este também promoveu melhoras nos aumentos médios de pesos de galos e matrizes. Todavia as análises de variância não demonstraram significâncias estatísticas.

Os dados das análises revelaram que houve significação estatística entre médias de períodos ao nível de 5% de probabilidade.

As médias de pesos iniciais da progênie não apresentaram efeitos de tratamentos, contudo houve efeitos de períodos ($P \geq 0,05$).

7 - SUMMARY

This work deals with the study of the effect of biostimulant (FILATOV'S preparation) on the reproduction of broiler breeder hens and on the initial growth of the progeny. This experiment was carried out at the "Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", University of São Paulo, in Piracicaba, State of São Paulo, Brasil. The pre-experimental phase lasted for (2) two weeks, and the experimental phase for (18) eighteen weeks. Both were from August 28, 1975 to January 23, 1976.

Two hundred (200) breeder hens and (20) twenty roosters from the Hubbard line were used. The chicks born from each 4th incubation of the eggs were used in the growth phase. The hens received 150 g. per head per day and the roosters 200 g. per day of breeder ration. The baby chicks received starter ration "ad libitum".

The experiment was designed according to a split plot on time with 5 treatments, 4 replications completely randomized with (10) ten hens and (1) one rooster. The treatment n° 1 was used as test, thus receiving nothing. Treatment n° 2 was given 3 times a week soluble vitamins and aminoacid (Amino sol) with doses of 10 ml of the product per liter of water, per unit. Treatments n°s 3, 4 and 5 separately received 1 ml of biostimulant which was injected in the breast of the chickens at intervals of 7, 14 and 21 days, respectively.

In the beginning of the experiment and every 28 days, the birds were weighted. The biostimulant was prepared with pituitaries, adrenals and bovine testicles according to the method devised by FILATOV. The eggs produced were collected 4 times a day, weighted and fumigated. On the 18th. day a testing of fertility was made. The day old chicks born were weighted on an experimental unit basis. Eggs that did not hatch, dead chicks and rejected ones were recorded on the 21th. day.

Egg production, egg weight, fertility and body weight of breeder hens and roosters were not affected by the treatments used in this experiment. However, those traits showed a significant ($P \geq 0,05$) effect of period of production. Body weight of progeny at the age of 28 days was not influenced by the treatments applied in the hens.

- LITERATURA CITADA

- BERGSTROM, S. e B. SAMUELSON, 1965. Prostaglandins. In: Annual Review of Biochemistry, Annual Review Inc. . S. Francisco, California, USA, p. 101-107.
- BOCAROVA, I. G., 1966. Preparations "SB" as a stimulator of productivity of fowls. Anim. Breeding Abst. Edinburgh , 36: 198.
- BOCAROVA, I. G., 1967. Experiments on the use of the hetero protein preparation "SB" in poultry breeding. Anim. Breeding Abst. Edinburgh, 36: 508.
- BOSCHI, E. e A. GASPARI, 1951. Contributo allo studio della terapia tissulare e identità d'azione degli estratti placentari e degli ormoni corticosurrenali e corticostimulanti in corso di terapia antiartritica. Rev. Ist. Sier. It. Roma, 26: 447-460.

- CARVALHO, R. T. L., 1971. Indagine sull'impiego di biostimolanti dell'accrescimento nell'allevamento dei conigli e dei maiali. Milano, Facoltà di Agraria Università di Milano, Italia, 52 p.
- CHULIUMOVA, R. C., 1956. A aplicação de preparados de tecidos e alguns dados experimentais referentes a sua atividade durante o crescimento e engorda de diversos animais jovens. In: Teses da Conferência sobre Alimentação Racional e Criação (Trad. Russa), Moscou, p. 123-125.
- DENOVSKI, D. e A. POPHRISTOV, 1969. Effect of biogenic stimulants on amino acid contents of blood serum muscles and liver and of the protein fractions of blood serum in chickens. Nutr. Abst. Edinburgh, 40: 889.
- DOROSKOV, V. R., 1962. Biological activity of placenta tissue preparations. Zivotnovodstvo, Moscou, 24: 33-35.
- FAO, 1969. Report Series nº 45. Twelfth report of the Joint FAO-WHO. Expert Committee on Food Additives. Geneve. p. 49.
- GONDOS, M. ; E. PALAMARU ; M. SIRIBU ; P. GHIMPU ; F. SAGHIN e V. MAXIMIM, 1968. Efectul unor suporturi folosite la fabricarea biostimulatorilor pentru passari. Lucrarile stiintifice. Bucuresti XXVI: 463-471.
- GONDOS, M. E. ; E. PALAMARU ; S. MARIA ; H. ELENA ; A. HARISIAN; P. GHIMPU ; S. FELICIA e M. VENTURIA, 1968. Eficienta Unor Biostimulatori pe baza de suporturi diferite in hrana porcinelor, Lucrarile Stiintifice. Bucuresti, XXVI. 353-363.

- GORLOVA, V. K., 1971. The effect of various doses of the hormones and dried tissue preparations in the rearing of broilers. Anim. Breeding Abst. Edinburgh, 39: 375.
- GRANAT, J. ZELNIK e V. GLASNAK, 1964. The effect of biogenic stimulators on the growth rate of cockerels during fattening. Anim. Breeding Abst. Edinburgh, 33: 515.
- GUILLAUME, J. e C. CALET, 1972. Les substances ajoutées aux aliments des volailles. Bull. Soc. Sci. H. Alim. Paris, 60: 189-206.
- HAITOV, R. H. ; L. K. GARUMJANC e N. G. BOCKAREV, 1967. The effect of tissue preparations on the body of rabbits. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 35: 479.
- HAITOV, R. H. ; A. B. LEBEDEV e M. G. BOCKAREV, 1967. The effect of tissue preparations on weight of calves. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 35: 2.346.
- IOPA, I. S. e G. M. MANOV, 1958. The use of Academician V. P. Filatov's tissue preparations on livestock farms in the Razan district. Veterinarija. Moscou, 10: 25-29.
- JAAP, G. R., 1935. Gonad-stimulating potency of individual pituitaries. Poultry Sci. Iowa, 14: 237-246.
- KALASNIK, I. A., 1960. Preserved animal blood as biogenic stimulant for fattening pig. Nut. Abst. Rev. Edinburgh, 30: 5.011.
- KIRILIN, V. V., 1968. Tissue preparations and protein composition of the blood in pigs. Svinovodstvo. Moscou, 12: 19-20.

- KIYOSHI, I., 1973. Effects of avian and mammalian pituitary preparations on induction of ovulation in the domestic fowl, *Gallus domesticus*. J. Reprod. Fert. Edinburgh, 33: 91-98.
- KOROL'KOV, V. I. e N. V. PETRISIN, 1960. Preserved testicular tissue for boars stimulates weight gains of pigs. Nut. Abst. Rev. Edinburgh, 30: 5.013.
- KOVBASSENKO, V. M., 1968. The effect of some stimulators (dried tissue preparation, vitamin B₁₂ concentrate and their combination with antibiotics) on commercial and breeding quality of fowl eggs. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 39: 374.
- KOVBASSENOK, V. M., 1969. Variation in external characters of Russian white cocks under the influence of dried tissue preparations and biomyacin in their diet. Anim. Bredd. Abst. Edinburgh, 39: 375.
- KOVBASSENKO, V. M., 1970. Variations in the quality of eggs and meat from layers due to a stimulating dose of a preparation of dried tissue from non edible animal offal. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 40: 369.
- KRASILNIKOVA, A. I., 1970. The effect of dry biostimulator from embrionic tissue on egg laying in hens. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 40: 369.
- MARAKOV, P. A. e S. I. SOLOV'EN, 1962. An agar-tissue preparation for fattening animals. Nutrition Abst. Rev. Edinburgh, 33: 563.

- MARGARET, E. M., 1967. The effects of avian gonadotrophin precipitate on pituitary deficient hens. J. Reprod. Fert. 14: 257-263.
- MARY, J. e R. G. GUSTAVSON, 1930. The production of female genital subsidiary characters and plumage sex characters by injection of human placental hormone in fowls. J. Exp. Zool., 56: 31-50.
- MIHAJLOV, P. A., 1967. Tissue preparations increase weight gains. Nutr. Abst., Edinburgh, 37: 1.259.
- OE, K. ; M. SASAKI ; S. EBI ; K. HIRANO e Y. SAKUMA, 1966. The effect of artificial thyroid substance on broiler and pig growth. 1. The effect on the growth of broilers. 2. The effect on growth and fattening of pigs. Bull. Coll. Agri. Vet. Med., Nihon, 22: 2-15.
- PALAMARU, E. ; M. GONDOS ; M. SIRIBU ; N. BORCESCU ; M. ERDEI ; S. ROMANOVSKI ; P. GHIMPU e F. SAGHIN, 1968. Ridicarea productiei la păsări prin folosirea unor substante biostimulatoare. Lucrarile Stiintifice. Bucuresti, XXVI: 449-461.
- PALAMARU, E. ; M. GONDOS ; M. SIRIBU ; N. BORCESCU ; A. NICHI-TIN ; D. IONESCU ; P. GHIMPU e V. MAXIMIM, 1968.a Cercetare privind eficacitatea unor biostimulatori indigeni la porci. Lucrarile Stiintifice. Bucuresti, XXVI: 341-352.
- PENTINI, G., 1950. Estrati placentari. Atti S. O. I., Roma, XIII: 503-507.

- PETRUSKIN, A. A. e P. F. DAHKILJGOVA, 1961. Tissue preparations in animal production. Veterinarija. Moscou, 37: 27-28.
- PHARRIS, B. B. e J. E. SHAW, 1974. Prostaglandins in reproduction. In: Annual Review of Physiology, Annual Review Inc. S. Francisco, California, p. 391-441.
- PIMENTEL GOMES, F., 1966. Curso de Estatística Experimental. 3.^a ed., ESALQ, Piracicaba, SP. 404.
- PITZHEALARI, B. K. e V. V. TCHIKADZE, 1966. Experimento referente à aplicação de preparados de tecidos na avicultura. Aplicação de preparados de tecidos na pecuária e veterinária. In: Dados da II Conferência Científica de Produção (1964). Kiev.
- REBREANU, L. ; A. CINDEA ; S. POPOVIC e M. GROSU, 1966. Stimulatory effect of liver tissue extracts on weight gain in 6 to 12 months of cattle. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 37: 3.431.
- ROGOZIN, S. P. e P. F. RADKEVIC, 1967. The use of anabolic hormones and dried tissue preparations in the rearing of broilers. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 37: 142.
- SHALATOV, P. I., 1964. Preparation and use of defibrinated or citrated brood of pregnant mares in cattle breeding. Atti V. Congr. It. Riprod. Anim. Trento, VI: 89.
- SOKOLOVA, G. S., 1971. The effect of growth stimulators on productivity of poultry. Edinburgh. Anim. Breed. Abst., 39: 375.

- SULJUMOVA, F. S., 1971. The effect of dried tissue preparations, vitamin B₁₂ concentrate and their combination with antibiotics on egg production of hens and development of chicks. Edinburgh. Anim. Breed. Abst., 39: 363.
- TOROSJAN, S. E., 1959. Effect of biogenic stimulants on the growth of suckling pigs. Svinovodstvo. Moscou, 12: 41-45.
- VANCEA, G. ; A. BATCU ; I. SERBAN e G. POSPECU, 1959. La the rapeutique tissulaire. Annuaire d'Oculiste. Paris, 192: 433-44.
- VOLOSEVICH, O. P., 1972. Sex control in the progeny of livestock. Edinburgh. Anim. Breed. Abst., 40: 220.
- VOLOSEVICH, O. P., 1972.a Sex control in cattle. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 40: 395.
- VORONEDOV, V. S. e N. A. NEFEDOV, 1966. Biogenic stimulators in the fattening of cockerels. Anim. Breed. Abst. Edinburgh, 34: 562.
- WOOD, W. A. e A. N. WORDEN, 1963. Effect on performance of a supplement comprised largely of glandular tissue (hormone-xa) in the diet of rats, rabbits and chicks. J. Sci. Fd. Agric. 14: 904-910.
- XAITOV, R. X. ; L. K. GARUMIANZ e M. G. BOTCHKARIOV, 1964. Influência dos preparados de tecidos sobre o organismo dos coelhos. Aplicação dos preparados de tecidos na pecuária e veterinária. Kiev. In: Dados da II Conferência Científica de Produção, 1966.

ZABOLOTNYS, I. I., 1958. Preparations of liver and spleen as growth stimulants for young pigs. Moscou, Veterinaria, 35: 65-75.

ZINTCHENKO, A. V., 1964. Influência dos preparados de tecidos sobre os ganhos de peso de suínos durante a engorda. Aplicação de tecidos na pecuária e veterinária. Kiev. Dados da II Conferência Científica de Produção, 1966.