

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA
DE MATRIZES DE FRANGO DE CORTE E DA SUA PROGÊNIE**

Poliana Carneiro Martins
Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini

GOIÂNIA
2017



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: POLIANA CARNEIRO MARTINS

Título do trabalho: SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE MATRIZES DE FRANGO DE CORTE E DA SUA PROGÊNIE

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Poliana Carneiro Martins

Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 16 / 10 / 2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

POLIANA CARNEIRO MARTINS

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA
DE MATRIZES DE FRANGO DE CORTE E DA SUA PROGÊNIE**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Zootecnia junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da Universidade
Federal de Goiás

Área de concentração:

Produção Animal

Linha de Pesquisa:

Alimentação, metabolismo e forragicultura na
produção e saúde animal.

Orientador:

Prof. Dr. José Henrique Stringhini - UFG

Comitê de orientação:

Prof.^a. Dr.^a Fabyola Barros de Carvalho - UFG

Prof.^a. Dr.^a Maria Auxiliadora Andrade - UFG

GOIÂNIA

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Martins, Poliana Carneiro

Suplementação de ácido linoleico conjugado na dieta de matrizes de frango de corte e da sua progênie [manuscrito] / Poliana Carneiro Martins. - 2017.

xxiii, 179 f.: il.

Orientador: Prof. José Henrique Stringhini; co-orientador Fabyola Barros de Carvalho; co-orientador Maria Auxiliadora Andrade.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2017.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Ácido graxo poli-insaturado. 2. Desenvolvimento embrionário. 3. Nutrição da matriz. 4. Nutrição pós-eclosão. 5. Ômega-6. I. Stringhini, José Henrique, orient. II. Título.

CDU 635

1 ATA NÚMERO 16 DA SESSÃO DE JULGAMENTO DA DEFESA DE DOUTORADO DO
2 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA DA ESCOLA DE
3 VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, realizada
4 por **POLIANA CARNEIRO MARTINS**. Aos **26/09/2017** a partir das **13h30min**, na sala de
5 Reuniões do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da
6 Universidade Federal de Goiás, nesta Capital, realizou-se a sessão pública de Defesa de
7 Doutorado apresentado (a) pelo (a) Pós-Graduando (a) **POLIANA CARNEIRO MARTINS**,
8 intitulada "**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA**
9 **DE MATRIZES DE FRANGO DE CORTE E DA SUA PROGÊNIE**", para obtenção do
10 **Título de Doutor em Zootecnia**, junto à Área de Concentração: **Produção Animal** desta
11 Universidade. Os trabalhos foram instalados pelo (a) Presidente da Comissão Julgadora,
12 Orientador (a) **Prof. Dr. José Henrique Stringhini**, com a participação dos demais membros
13 da Banca Examinadora **Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira – UNIRV/GO; Profa. Dra.**
14 **Cibele Silva Minafra – IF Goiano; Profa. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro**
15 **(memória) e Dra. Januária Silva Santos - Agrodefesa-GO**. Iniciando os trabalhos, o
16 Presidente concedeu a palavra ao (a) candidato (a) **POLIANA CARNEIRO MARTINS** para
17 exposição em **cinquenta** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor Presidente concedeu a
18 palavra, pela ordem, aos demais membros da banca, os quais passaram a arguir o (a) candidato
19 (a), durante o prazo máximo de **trinta minutos**, assegurando-se ao mesmo, igual prazo para
20 responder aos Senhores Membros da Banca Examinadora. Ultimada a arguição, que se
21 desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu
22 Julgamento, considerando o (a) candidato (a) APROVADA
23 **(Aprovado/Reprovado)** pelos seus membros. Proclamados os resultados da Banca
24 Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar lavrou-se a presente ata que, após
25 lida e achada conforme vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Henrique Stringhini (Orientador(a))
Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira – UNIRV/GO
Profa. Dra. Cibele Silva Minafra – IF Goiano
Profa. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro (memória)
Dra. Januária Silva Santos - Agrodefesa-GO

ASSINATURA

The section for signatures contains five horizontal lines, each with a handwritten signature written over it. From top to bottom, the signatures correspond to the members of the exam board listed in the adjacent section: José Henrique Stringhini, Maria Cristina de Oliveira, Cibele Silva Minafra, Nadja Susana Mogyca Leandro, and Januária Silva Santos.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da tese:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Certifico que esta cópia confere com o original
conforme disposto no Decreto nº 6.932 - DCU 12/08/2006

Goiania, 11/10/17

A handwritten signature in blue ink is written over a horizontal line.
Heli Alves de Carvalho
Secretário Executivo Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia
EVZ/UFG Mat. 301005-8

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra a Deus, que me escolheu e me capacitou para que eu pudesse alcançar mais uma conquista.

Dedicatória especial também faço a minha mãe, a pessoa que mais me apoiou em meus estudos, a quem devo meu sucesso e dedico meus esforços. Não há um dia em que eu não me empenhe para ser merecedora das suas expectativas. Se a senhora estivesse aqui, sei que estaria orgulhosa. Te amo, mãe!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo privilégio de poder estudar, por ter me dado força e inspiração.

Agradeço à minha família, base de tudo, pelo apoio e pela compreensão de minha ausência nos momentos que precisei me dedicar a minha formação.

Ao meu pai, Elifas Rosa Martins, pelo carinho e esforço ao me auxiliar. À minha mãe, Santila Maria Carneiro Martins, por ter chegado até aqui, pelo apoio incondicional de todas as maneiras possíveis. Por ser o meu mais buscado exemplo, e sempre ter me imposto desafios para eu pudesse superá-los.

Ao meu irmão, Túlio Carneiro Martins, que, mesmo sendo caçula, me ajudou e me ensinou tantas coisas.

Ao meu noivo, Abner Alves Mesquita, que tem estado ao meu lado e me auxiliado em todos os desafios. Sei que abdicou de muita coisa na certeza de que chegaríamos até aqui. Com você, divido minha conquista. Obrigada!

Ao PPGZ/EVZ/UFG e sua coordenação, por tornar este trabalho possível.

À minha orientadora de mestrado, Dr.^a Maria Cristina de Oliveira, que me concedeu a oportunidade de despertar o interesse pela pós-graduação.

Aos professores do PPGZ do IF Goiano – Câmpus Rio Verde, que contribuíram para minha formação enquanto pesquisadora.

Aos professores Dr. Marcos Barcellos Café, Dr.^a Nadja Susana Mogyca Leandro e Dr. Emmanuel Arnhold, que compartilharam seu conhecimento, sabedoria e estiveram sempre dispostos a ajudar.

Ao meu comitê de orientação, professoras Dr.^a Maria Auxiliadora Andrade e Dr.^a Fabyola Barros de Carvalho, que fizeram o possível para me auxiliar, sempre dispostas e de forma amiga e acolhedora.

Agradecimento especial ao meu orientador, Dr. José Henrique Stringhini, a quem aprendi a admirar e tem todo meu respeito. Um professor que acreditou no meu potencial e me incentivou, me fez descobrir um mundo de oportunidades e mostrou que sou capaz de alcançá-las, por permitir que eu fizesse parte do seu prestigiado grupo de pesquisadores, por compartilhar seu conhecimento e experiência, e por ser compreensível e amigo nos momentos de dificuldade. Obrigada, professor!

Aos colegas da pós-graduação, com quem convivi por tanto tempo. Agradeço, não somente pela colaboração nos estudos e experimentos, mas pelos momentos de companhia e

por estarem presentes no momento em que mais precisei. Tenho alegria em dizer que hoje posso chamar muitos deles de amigos. Januária Silva Santos, Natália do Carmo Silva, Luiz Henrique Xavier da Silva, Graciela Pessoa Martins, Vanessa Daniela Lázara de Assis, Genilson Bezerra de Carvalho, Helder Freitas de Oliveira, Ana Flávia Basso Royer, Pedro Moraes Rezende, Janaína, Obrigada! Lindolfo, Fabiola, Aleane, Raiana, Fernanda, Débora, Julyana, Ítallo, Thiago Dias, Guilherme, Nivaldo Junior, Ariadne, Marcus e Thaisa, tenho carinho especial por todos vocês!

À CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

À colaboradora BASF e seus representantes, por nos apresentar e fornecer o produto que motivou nossa pesquisa.

À colaboradora ASA Alimentos, por permitir a utilização de seus lotes comerciais de matrizes e por fornecer as aves e os ovos para a realização da pesquisa. Obrigada a equipe de Brasília, e ao pessoal de Formosa e do incubatório.

Aos alunos da graduação e da iniciação científica, sempre dispostos e bem-humorados; com eles tive a oportunidade de ensinar e também aprender. Laís de Melo Montel, Billy Noronha Marques, Amanda Rabelo Ribeiro, Geovane Martins Chagas, Natiele Ferraz e Paulo Henrique Padilha, obrigada! A vocês, sucesso!

Aos funcionários que nos ajudaram, Helton, Miron, Eder, Nazaré e Felipe.

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste sonho.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS	24
1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1 Ácido linoleico conjugado (CLA).....	26
2.2 Transferência de nutrientes da matriz para o ovo e para a progênie	31
2.3 O saco vitelínico.....	35
2.4 Sistema imune das aves e transferência de imunoglobulinas da matriz para a progênie.....	38
2.5 Jejum pós-eclosão e suas implicações.....	44
REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO 2 - QUALIDADE DE OVOS E COMPOSIÇÃO DO SACO VITELÍNICO DE EMBRIÕES E PINTOS NEONATOS ORIUNDOS DE MATRIZES DE CORTE SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO	57
INTRODUÇÃO	59
MATERIAL E MÉTODOS	60
RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
CONCLUSÃO	74
AGRADECIMENTOS.....	74
REFERÊNCIAS	74
CAPÍTULO 3 - PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E DESENVOLVIMENTO GASTROINTESTINAL DE PINTOS PROVENIENTES DE OVOS DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO	79
INTRODUÇÃO	81
MATERIAL E MÉTODOS	82
RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
CONCLUSÃO	93
AGRADECIMENTOS.....	93
REFERÊNCIAS	93

CAPÍTULO 4 - DESEMPENHO, DESENVOLVIMENTO GASTROINTESTINAL E PESO RELATIVO DE ÓRGÃOS DE PINTOS DE CORTE ORIUNDOS DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E SUPLEMENTADOS NA FASE PÓS-ECLOSÃO	98
INTRODUÇÃO	100
MATERIAL E MÉTODOS	101
RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
CONCLUSÃO	113
AGRADECIMENTOS.....	113
REFERÊNCIAS	113
CAPÍTULO 5 - CONTAGEM LINFOCITÁRIA E BIOMETRIA EM ÓRGÃOS LINFOIDES, IMUNIDADE CELULAR E HUMORAL DA PROGÊNIE DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E SUPLEMENTADA NA FASE PÓS-ECLOSÃO	116
INTRODUÇÃO	118
MATERIAL E MÉTODOS	119
RESULTADOS E DISCUSSÃO	124
CONCLUSÃO	132
AGRADECIMENTOS.....	132
REFERÊNCIAS	132
CAPÍTULO 6 - BIOMETRIA INTESTINAL, PESO RELATIVO DE ÓRGÃOS, DESEMPENHO E METABOLIZABILIDADE DOS NUTRIENTES DE DIETAS CONTENDO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PARA FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A JEJUM ALIMENTAR PÓS-ECLOSÃO	136
INTRODUÇÃO	138
MATERIAL E MÉTODOS	140
RESULTADOS E DISCUSSÃO	143
CONCLUSÃO	156
AGRADECIMENTOS.....	157
REFERÊNCIAS	157

CAPÍTULO 7 - BIOMETRIA DE ÓRGÃOS LINFOIDES, IMUNIDADE CELULAR HUMORAL DE FRANGOS SUBMETIDOS A JEJUM ALIMENTAR PÓS-ECLOSÃO E À DIETA PRÉ-INICIAL CONTENDO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO	161
INTRODUÇÃO	163
MATERIAL E MÉTODOS	164
RESULTADOS E DISCUSSÃO	167
CONCLUSÃO	174
AGRADECIMENTOS.....	174
REFERÊNCIAS	175
CAPÍTULO 8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	178

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1. Conversão de ácidos graxos poli-insaturados, ácido alfa-linolênico e ácido linoleico, em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa do tipo ômega-3 e ômega-6, e síntese de eicosanoides. 25
- FIGURA 2. Via metabólica da biossíntese de ácido linoleico conjugado no rúmen (a) e no tecido (b). 27
- FIGURA 3. Estrutura química do ácido linoleico e dos dois principais isômeros de ácido linoleico conjugado. 28
- FIGURA 4. Estrutura das imunoglobulinas. 40

CAPÍTULO 3

- FIGURA 1. Distribuição de nascimento dos pintainhos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA. 87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1	Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural.....	61
TABELA 2	Qualidade física dos ovos de matrizes suplementadas com CLA	64
TABELA 3	Composição bromatológica do albúmen de ovos provenientes de matrizes suplementadas com CLA	65
TABELA 4	Composição bromatológica da gema de ovos provenientes de matrizes suplementadas com CLA.....	65
TABELA 5	Peso e composição bromatológica do saco vitelínico de embriões aos 18 dias de incubação, provenientes de matrizes suplementadas com CLA	66
TABELA 6	Peso e composição bromatológica do saco vitelínico de pintos neonatos provenientes de matrizes suplementadas com CLA	67
TABELA 7	Perfil de ácidos graxos das rações de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria natural	68
TABELA 8	Perfil de ácidos graxos da gema de ovos de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca	69
TABELA 9	Perfil de ácidos graxos do saco vitelínico de embriões de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca.....	72
TABELA 10	Perfil de ácidos graxos do conteúdo do saco vitelínico de pintos neonatos de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca.....	73

CAPÍTULO 3

TABELA 1	Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural.....	83
TABELA 2	Fertilidade e eclodibilidade de ovos oriundos de matrizes suplementadas com CLA	87
TABELA 3	Porcentagem de nascimentos de pintos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA, em intervalos de cinco horas e janela de nascimento (horas)	87
TABELA 4	Embriodiagnóstico (%) dos ovos não eclodidos em relação ao total de ovos incubados, oriundos de matrizes suplementadas com CLA	89
TABELA 5	Parâmetros de incubação de ovos oriundos de matrizes suplementadas com CLA	90
TABELA 6	Comprimento e qualidade física de pintainhos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA.....	90
TABELA 7	Peso relativo (%) de órgãos de embriões com 18 dias de incubação provenientes de matrizes suplementadas com CLA.....	91
TABELA 8	Peso relativo (%) de órgãos de pintos neonatos provenientes de matrizes suplementadas com CLA.....	91

TABELA 9	Biometria intestinal de embriões aos 18 dias de incubação e pintos neonatos, provenientes de matrizes suplementadas com CLA	92
TABELA 10	Altura de vilo e profundidade de cripta (μm) do intestino de embriões aos 18 dias de incubação e pintos neonatos, provenientes de matrizes suplementadas com CLA	93
CAPÍTULO 4		
TABELA 1	Composição das dietas experimentais para matrizes (%), com base na matéria natural	102
TABELA 2	Composição das dietas experimentais fornecidas à progênie (%), com base na matéria natural	104
TABELA 3	Peso relativo (%) em relação ao peso corporal de órgãos de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	105
TABELA 4	Desdobramento das interações significativas em pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	106
TABELA 5	Peso relativo (%) de órgãos de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão	107
TABELA 6	Desdobramento das interações significativas para peso relativo (%) de órgãos de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão	107
TABELA 7	Biometria intestinal de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	108
TABELA 8	Biometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão	108
TABELA 9	Desdobramento das interações significativas da biometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão	109
TABELA 10	Altura de vilo e profundidade de cripta (μm) do intestino de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	110
TABELA 11	Desdobramento das interações significativas da histomorfometria intestinal de pintos de corte provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	110
TABELA 12	Altura de vilo e profundidade de cripta (μm) do intestino de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes	

	suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão.....	111
TABELA 13	Desdobramento das interações significativas da histomorfometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA, suplementados durante a fase pós-eclosão.....	111
TABELA 14	Desempenho de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão.....	112
CAPÍTULO 5		
TABELA 1	Composição das dietas experimentais para matrizes (%), com base na matéria natural.....	120
TABELA 2	Composição das dietas experimentais fornecidas à progênie (%), com base na matéria natural.....	123
TABELA 3	Peso relativo (%) de baço e bursa de embriões e pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	124
TABELA 4	Peso relativo (%) de baço e bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, e aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	125
TABELA 5	Desdobramento das interações significativas para órgãos linfoides de pintos oriundos de matrizes suplementadas com CLA, submetidos a 12 horas de suplementação pós-eclosão.....	125
TABELA 6	Contagem de linfócitos presentes no baço e na bursa de embriões e pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	126
TABELA 7	Contagem de linfócitos presentes no baço e na bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, e aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	127
TABELA 8	Desdobramento da interação para contagem linfocitária na bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	127
TABELA 9	Reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA) em pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão.....	128
TABELA 10	Interação da reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA) em pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão, 24 horas após a inoculação.....	128
TABELA 11	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no conteúdo do saco vitelínico de embriões de pintos de corte (18d) oriundos de matrizes suplementadas com CLA.....	130

TABELA 12	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA	130
TABELA 13	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos de corte oriundos de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão	131
TABELA 14	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro de pintos de corte aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA e suplementados na fase pós-eclosão.....	131
CAPÍTULO 6		
TABELA 1	Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas até o final da fase pré-inicial (7 dias de idade).....	141
TABELA 2	Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas nas fases inicial (8 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e de terminação (34 a 35 dias).....	142
TABELA 3	Peso relativo (%) de saco vitelínico e biometria intestinal de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA	144
TABELA 4	Biometria intestinal de pintos de corte aos 7 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA	144
TABELA 5	Biometria intestinal de pintos de corte aos 14 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA	145
TABELA 6	Biometria intestinal de pintos de corte aos 21 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA	145
TABELA 7	Biometria intestinal de pintos de corte aos 28 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA	145
TABELA 8	Biometria intestinal de pintos de corte aos 35 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA	146
TABELA 9	Peso relativo (%) de moela + proventrículo de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA	147
TABELA 10	Peso relativo (%) de fígado de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA	148
TABELA 11	Peso relativo (%) de coração de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA	149
TABELA 12	Peso relativo (%) de pâncreas de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA	149

TABELA 13	Desempenho de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta contendo CLA.....	150
TABELA 14	Desempenho de pintos de corte de 1 a 14 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta contendo CLA.....	151
TABELA 15	Desempenho de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta contendo CLA.....	151
TABELA 16	Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável conversão alimentar aos 21 dias de idade.....	151
TABELA 17	Desempenho de pintos de corte de 1 a 35 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta contendo CLA.....	152
TABELA 18	Desempenho de pintos de corte de 22 a 35 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta contendo CLA.....	152
TABELA 19	Metabolizabilidade de dietas contendo ácido linoléico conjugado (CLA) para frangos de corte submetidos a jejum pós-eclosão.....	154
TABELA 20	Interação do coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio para a utilização da dieta pré-inicial e jejum pós-eclosão	156
CAPÍTULO 7		
TABELA 1	Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas até o final da fase pré-inicial (7 dias de idade).....	166
TABELA 2	Composição das dietas experimentais (%) fornecidas nas fases inicial (8 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e de terminação (34 a 35 dias).....	167
TABELA 3	Peso relativo (%) de baço de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão e suplementados de CLA na fase-pré-inicial.....	168
TABELA 4	Peso relativo (%) de bursa de pintos de corte submetidos a jejum pós-eclosão e suplementados de CLA na fase-pré-inicial.....	169
TABELA 5	Resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) de pintos de corte aos 13 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA.....	170
TABELA 6	Resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) de frangos de corte aos 34 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA.....	170
TABELA 7	Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) após 24 horas, em pintos de corte aos 34 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA	170
TABELA 8	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos de corte, após 12 horas de jejum pós-eclosão e suplementação de CLA	171
TABELA 9	Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro pintos de corte, após 12 horas de jejum pós-eclosão e suplementação de CLA.....	172

TABELA 10	Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro de frangos de corte, submetidos a jejum pós-eclosão e suplementação pré-inicial de CLA 173
TABELA 11	Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro pintos de corte aos 21 dias de idade, submetidos a jejum pós-eclosão e suplementação pré-inicial de CLA, vacinados aos 15 dias de idade..... 173

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AG	- ácido graxo
BEE	- balanço de extrato etéreo
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
CLA	- ácido linoleico conjugado
CMEE	- coeficiente de metabolizabilidade do extrato etéreo
CMMS	- coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca
CMN	- coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CV	- coeficiente de variação
EE	- extrato etéreo
ELISA	- <i>enzyme linked immnosorbent assay</i>
HE	- hematoxilina-eosina
IgA	- imunoglobulina A
IgD	- imunoglobulina D
IgE	- imunoglobulina E
IgG	- imunoglobulina G
IgM	- imunoglobulina M
IgY	- imunoglobulina Y
IL-2	- interleucina - 2
IL-6	- interleucina - 6
MM	- matéria mineral
MN	- matéria natural
MS	- matéria seca
NK	- <i>natural killer</i>
PB	- proteína bruta
PC	- peso da casca
PHA	- fitohemaglutinina
PO	- peso do ovo
PR	- peso relativo
REE	- retenção de extrato etéreo
RN	- retenção de nitrogênio

SV	- saco vitelínico
TNF	- fator de necrose tumoral
VLDL	- <i>very low density protein</i>
cm	- centímetro
mg	- miligrama
mL	- mililitro
g	- grama
h	- hora
μm	- micron
%	- porcentagem
°C	- graus Celsius
κ	- kappa
λ	- lambda
α	- alfa
γ	- gama
ε	- delta
μ	- mi

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos para avaliar os efeitos da inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA) na dieta de matrizes e frangos de corte, e as alterações causadas pelo jejum pós-eclosão. No primeiro experimento, foram acompanhados dois lotes de matrizes com 58 semanas de idade, sendo um suplementado 26 dias com 0,025% de CLA. Ao final da suplementação, adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos (0 e 0,025% CLA), para avaliação da qualidade física e da composição dos ovos. Posteriormente, 270 ovos por tratamento foram distribuídos em duas incubadoras, aplicando-se o delineamento em blocos casualizados, determinados pela incubadora utilizada. Avaliaram-se os parâmetros de incubação e determinou-se o perfil de ácidos graxos da ração, gema e saco vitelínico. Após a eclosão, dietas pós-eclosão (0 ou 0,025% de CLA) foram fornecidas por 12 horas, e 320 pintos foram alojados em delineamento inteiramente casualizado e esquema 2x2 (CLA materno x CLA pós-eclosão), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de 10 aves cada. Avaliou-se o peso relativo de órgãos, o desenvolvimento intestinal e a imunidade humoral e celular em embriões, neonatos, após 12 horas, e aos sete dias de idade, e o desempenho pré-inicial. A inclusão de CLA na dieta foi capaz de alterar características físicas e bromatológicas dos ovos e sacos vitelínicos da progênie de matrizes suplementadas, causando também alteração do perfil de ácidos graxos, porém sem provocar a morte dos embriões. O intestino também foi influenciado pelo CLA, tanto macroscopicamente, quanto a nível histológico. O CLA oferecido às matrizes influenciou o desenvolvimento intestinal dos pintos desde a fase embrionária e continuou a exercer efeito após a eclosão, aliado à suplementação conjunta da progênie. A suplementação da matriz garantiu melhor desempenho pré-inicial da progênie. No segundo experimento, 320 pintos machos e fêmeas foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, considerando os fatores jejum alimentar pós-eclosão (acesso à água por 12 horas; acesso à água e alimento por 12 horas) e a dieta pré-inicial (0; 0,025% de CLA). As aves foram vacinadas aos 15 dias de idade contra o vírus da doença de Newcastle. Avaliou-se a metabolizabilidade das dietas de quatro a sete dias de idade, e o desenvolvimento intestinal e dos órgãos, e a imunidade celular e humoral, semanalmente até os 35 dias de idade. O jejum pós-eclosão afetou o desempenho, e o CLA não foi capaz de minimizar os efeitos negativos do jejum. No entanto, as aves conseguiram se recuperar até os 35 dias de idade. O jejum pós-eclosão prejudicou a resposta imune das aves. Nos dois ensaios, de modo geral, o CLA influenciou positivamente a imunidade humoral e celular. Entre os órgãos avaliados, o fígado foi o principal a sofrer alterações em seu peso relativo em decorrência da utilização de CLA. A prática de suplementar apenas a progênie não trouxe tantos benefícios quando comparada à suplementação da matriz ou de ambos. Os resultados aqui obtidos demonstraram que o nível de inclusão de 0,025% de CLA é seguro para utilização em matrizes e pode trazer benefícios à progênie.

Palavras-chave: ácido graxo poli-insaturado, desenvolvimento embrionário, nutrição da matriz, nutrição pós-eclosão, ômega-6.

ABSTRACT

Two experiments were carried on to evaluate the effects of the inclusion of conjugated linoleic acid (CLA) on the diets of breeders and broilers, and the alterations caused by post-hatch fasting. In the first experiment, two commercial flocks of breeders aged 58 weeks old were used, and one of them was supplemented for 26 days with 0.025% CLA. At the end of the supplementation, a completely randomized design was applied, composed by two treatments (0 and 0.025% CLA), to evaluate the physical quality and composition of the eggs. Subsequently, 270 eggs per treatment were distributed in two hatcheries, in a randomized block design, determined according to the hatchery used. The incubation parameters were evaluated and the fatty acid profile of the feed, yolk and yolk sac were determined. After hatching, post-hatching diets (0 or 0.025% CLA) were provided for 12 hours, and 320 chicks were housed in a completely randomized design, in a 2x2 scheme (maternal CLA x post-hatching CLA), totalizing four treatments and eight replicates of 10 birds each. The organs relative weight, intestinal development and humoral and cellular immunity were evaluated in embryos, newly hatched chicks, 12 hours after hatching, and at seven days old, as the pre-starter performance. The inclusion of CLA in the diet was able to alter the physical and bromatological characteristics of the eggs and yolk sacs of the progeny from supplemented breeders, also changing the fatty acid profile, but without causing embryonic mortality. The intestine was also influenced by CLA, both macroscopically and histologically. The CLA offered to the breeders influenced the intestinal development of the chicks from the embryonic phase and continued to exert effect after hatching, associated with the progeny supplementation. Breeder supplementation led to a better pre-starter performance of the progeny. In the second experiment, 320 male and female chicks were distributed in a completely randomized design, in a 2x2 factorial scheme, considering post-hatch fasting (access to water for 12 hours; access to water and food for 12 hours) and post-hatch diet (0; 0.025% CLA). The birds were vaccinated at 15 days old against Newcastle disease virus. The metabolizability of diets from four to seven days old, intestinal and organs development, and cellular and humoral immunity were evaluated weekly up to 35 days old. Post-hatch fasting affected performance, and CLA was not able to minimize the negative effects of fasting. However, birds were able to recover up to 35 days old. Post-hatch fasting decreased the immune response of birds. In both assays, CLA generally positively influenced humoral and cellular immunity. Among the evaluated organs, the liver was the main one to have its relative weight altered due to the use of CLA. Supplementing only progeny did not provide as much benefit as compared to supplementation of the breeder or both. The obtained results demonstrate the inclusion level of 0.025% of CLA is safe for use in breeders and may bring benefits to their progeny.

Keywords: breeder nutrition, embryo development, ômega-6, poliunsaturated fatty acid, post-hatch nutrition.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

Os avanços genéticos no setor avícola vêm ocorrendo de maneira significativa e relativamente rápida, concretizando metas que já foram consideradas possibilidades distantes. Com isso, os ganhos são cada vez maiores e acontecem com mais eficiência e em menor tempo, fazendo com que cada fase de vida do frango de corte se torne mais importante, por representar uma maior proporção do ciclo total de produção.

Destaca-se o papel da matriz na obtenção de uma progênie saudável e de qualidade. Os nutrientes destinados ao embrião e, conseqüentemente, aos pintos, são provenientes das matrizes e os mecanismos que envolvem essa transmissão precisam ser investigados e compreendidos, bem como os fatores que a alteram, para que possam ser corretamente manipulados, objetivando maior eficiência da produção.

Quando se avalia a composição do ovo, esse deve fornecer os substratos necessários para o desenvolvimento de uma nova vida e mudanças nesse parâmetro ou a ocorrência de motivos que alterem a eficiência de sua utilização podem, possivelmente, prejudicar a ave.

O mesmo é válido para a transmissão de imunoglobulinas da matriz para os pintos. As imunoglobulinas são depositadas no ovo, e este processo está diretamente relacionado ao nível de imunidade da matriz. O *status* imunológico do pinto afeta seu desempenho e a imunidade conferida pela reprodutora auxilia na manutenção da saúde da progênie quando suas defesas imunológicas ainda não estão completamente preparadas e não são efetivas na proteção frente ao desafio de campo.

Também merecem atenção as fases pós-eclosão e pré-inicial, que são decisivas, pois definem qual será o potencial da ave durante toda sua vida. É nesse período que a ave estabelece o primeiro contato com estímulos extrínsecos, que influenciam o desenvolvimento do organismo, especialmente do trato gastrointestinal e da imunidade adquirida. Para que sua máxima capacidade seja alcançada, fornecer os nutrientes adequados e de forma correta é fundamental. Privar a ave de alimentação exógena no início da vida, condição que acontece rotineiramente na avicultura comercial, pode inviabilizar o cuidado tido com a matriz e impedir que características tão minuciosamente selecionadas ao longo do melhoramento genético não se expressem da forma planejada.

O desenvolvimento dos órgãos e o crescimento dos pintos podem ser afetados pelo jejum pós-eclosão. Riccardi et al.¹ observaram em seus estudos que pintos alimentados

com água e ração logo após a eclosão alcançaram maior peso corporal do que aqueles com acesso apenas à água ou que passaram por jejum de água e ração. De fato, embora sejam oxidados na ausência de energia provida pela alimentação exógena, lipídios e proteínas encontrados no saco vitelínico deveriam ser destinados à síntese celular e à manutenção da imunidade passiva². Assim, estratégias que minimizem os prejuízos causados pelo jejum pós-eclosão podem beneficiar o desenvolvimento intestinal, o sistema imunológico dos pintainhos e, indiretamente, o desempenho produtivo, devendo, portanto ser investigadas.

Além do fornecimento de alimentação exógena o quanto antes, a composição da dieta pode ajudar a garantir o desenvolvimento adequado e o bom desempenho do frango de corte. Nutrientes específicos podem favorecer a microbiota, a manutenção da integridade intestinal e atuar como substratos necessários para garantir a resposta imunológica satisfatória da ave³. Exemplos de nutrientes indispensáveis ao desenvolvimento adequado da ave são os ácidos graxos que participam da estrutura celular e possuem potencial energético. No entanto, as aves não são capazes de sintetizar todos os ácidos graxos de que precisa e, por esse motivo, alguns são considerados essenciais, tais como o ácido linoleico⁴. Este ácido graxo está presente em altas concentrações em óleos vegetais e pode ser convertido pelo animal em outros ácidos graxos, também indispensáveis ao organismo⁵.

O ácido linoleico conjugado (CLA), por sua vez, refere-se ao grupo de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, apresentando duplas ligações com um carbono simples entre as mesmas, não ocorrendo separação por um radical orgânico equivalente⁶. O CLA está associado à melhora da resposta imune, redução da pressão arterial e da gordura corporal com aumento da massa magra e propriedades antioxidantes⁷. Visto seu efeito imunomodulador comprovado em várias espécies animais, tem sido aplicado em pesquisas envolvendo aves.

Objetivou-se, portanto, com este trabalho, avaliar o efeito da inclusão de ácido linoleico conjugado na dieta de matrizes de frangos de corte e na dieta pós-eclosão da progênie sobre o seu desempenho produtivo, qualidade intestinal e capacidade imunológica. Também foi investigado o efeito do jejum pós-eclosão e do uso de CLA na dieta pré-inicial sobre as características supracitadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Ácido linoleico conjugado (CLA)

Os ácidos graxos poli-insaturados podem estar inseridos em duas famílias, denominadas ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3), e cada uma delas é representada por um ácido graxo essencial. O ácido linoleico (C18:2) representa a família n-6 e o ácido α -linolênico (C18:3), por sua vez, representa a família n-3. Estes ácidos graxos são precursores de outros ácidos graxos essenciais, denominados ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa⁸, que por sua vez, são precursores de eicosanoides⁹, como é demonstrado na Figura 1.

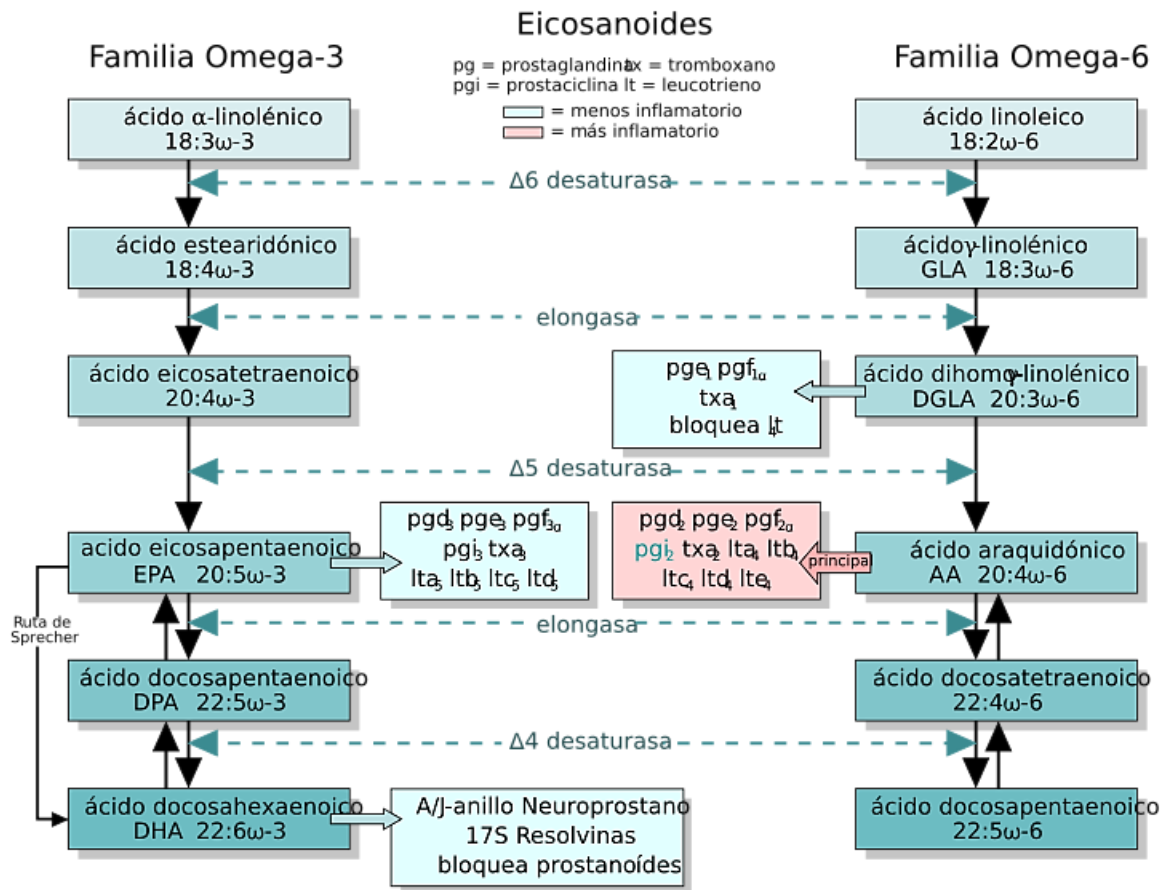


FIGURA 1 - Conversão de ácidos graxos poli-insaturados, ácido alfa-linolênico e ácido linoleico, em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa do tipo ômega-3 e ômega-6, e síntese de eicosanoides.

Fonte: Grimaldi¹⁰.

Os ácidos graxos pertencentes às famílias n-3 e n-6 são provenientes da dieta ou produzidos pelo próprio organismo pela ação das enzimas alongase e dessaturase, a partir de seus representantes, os ácidos linoleico e alfa-linolênico. As enzimas alongases acrescentam dois átomos de carbono ao início da cadeia, enquanto as enzimas dessaturases oxidam dois carbonos da cadeia, promovendo uma instauração de configuração *cis*¹¹.

O ácido linoleico conjugado (CLA) refere-se a um termo coletivo utilizado para designar os isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, nos quais as duplas ligações são conjugadas¹². O CLA está naturalmente presente em muitos tipos de carne e derivados lácteos, e pode ser produzido para uso como suplemento dietético para fins experimentais, a partir de vários métodos e diferentes substratos¹³. O CLA *cis*-9, *trans*-11 é o principal isômero encontrado na dieta, mas a sua concentração e a presença do isômero *trans*-10, *cis*-12 em produtos lácteos ou carnes variam de acordo com a dieta fornecida aos ruminantes¹⁴.

Portanto, ruminantes possuem a habilidade de sintetizar o CLA em seu trato gastrointestinal, por meio da isomerização do ácido linoleico oferecido na dieta, realizada por *Butyrivibrio fibrisolvens* e outras bactérias anaeróbias¹⁵. Por esse motivo, também é conhecido como ácido rumênico, o primeiro intermediário na biohidrogenação do ácido linoleico a ácido esteárico¹⁶. Além da síntese no rúmen, o CLA também pode ser produzido pelos tecidos¹⁷ (Figura 2).

A biohidrogenação se inicia com a isomerização da insaturação *cis*-12 de ácidos graxos que contenham duplas ligações nas posições *cis*-9, *cis*-12. A enzima linoleato isomerase tem capacidade de formar duplas ligações conjugadas *cis*-9, *trans*-11. O isômero *cis*-9, *trans*-11 é reduzido a ácido vacênico (ácido *trans*-11 octadecenoico)¹⁸, segundo intermediário da biohidrogenação do ácido linoleico a ácido esteárico, que pode ser absorvido pelas glândulas mamárias para síntese do isômero *cis*-9, *trans*-11 durante a síntese lipídica do leite, catalisada pela enzima Δ 9-dessaturase¹⁷. Com relação ao isômero *trans*-10, *cis*-12, sua formação a partir do ácido linoleico também depende da ação de bactérias ruminais e está relacionado à presença do ácido *trans*-10 octadecenoico do mesmo modo que o isômero *cis*-9, *trans*-11 está relacionado ao ácido vacênico¹⁸, porém, tendo a enzima Δ 12-dessaturase como catalisadora do processo¹⁷.

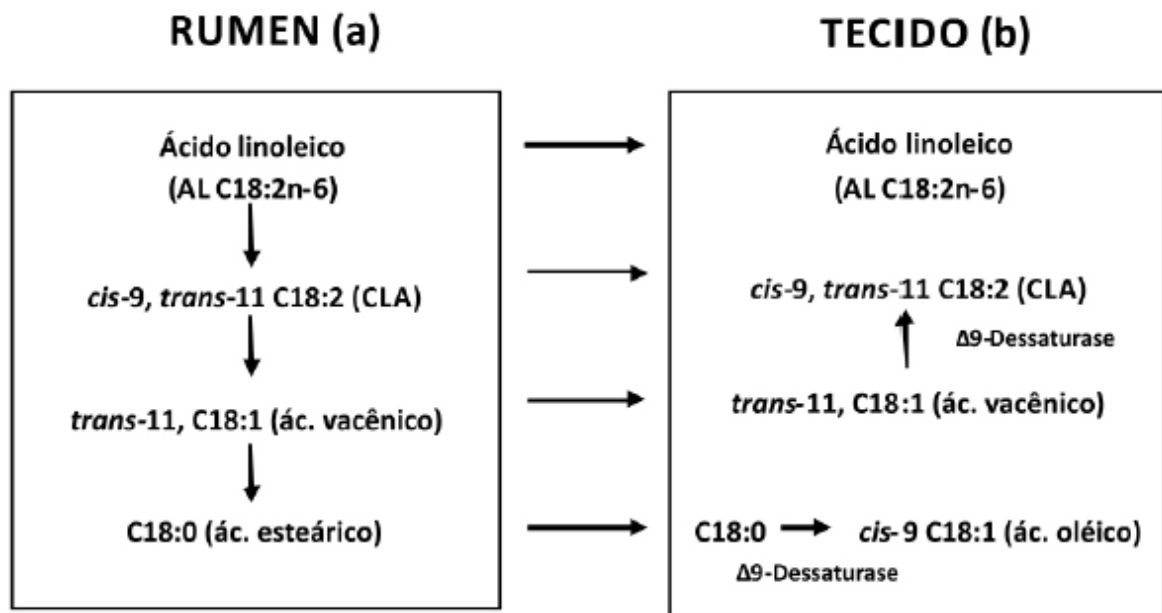


FIGURA 2 - Via metabólica da biossíntese de ácido linoleico conjugado no rúmen (a) e no tecido (b).
Fonte: Adaptado de Bauman e Griinari¹⁹ por Lucatto et al.¹⁷.

O CLA também pode ser produzido por meio do aquecimento do ácido linoleico na presença de um álcali ou por meio de sua hidrogenação parcial¹⁶. Os principais isômeros produzidos para propósitos experimentais são *cis-9, trans-11* e *trans-10, cis-12*¹⁴. Desde os anos 80, o CLA é considerado princípio anticancerígeno presente na carne e tem sido dada atenção à sua variedade de efeitos biológicos. A explicação para essa variedade é que o CLA abrange grande grupo de isômeros, embora os principais focos em pesquisas sejam o *cis-9, trans-11* e o *trans-10, cis-12*⁹.

As estruturas químicas do ácido linoleico e dos dois principais isômeros de CLA são apresentadas na Figura 3. Entre os vários efeitos atribuídos ao CLA para seres humanos, encontram-se a redução da gordura corporal, riscos de câncer e doenças cardiovasculares, modulação da inflamação e da resposta imune e aumento da massa óssea²⁰. O CLA desempenha importante função no metabolismo lipídico, particularmente nos sistemas celulares de oxidação. O CLA induz a β-oxidação em vários tecidos, principalmente no tecido adiposo, para fornecimento de energia, inibindo o armazenamento de ácidos graxos²¹. Gonçalves²² também relataram que um possível efeito do CLA no metabolismo lipídico estaria relacionado ao aumento da lipólise, com possível incremento na beta-oxidação.

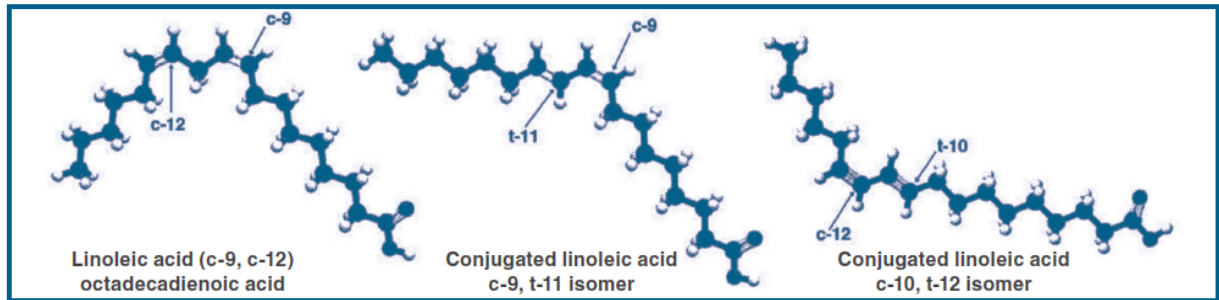


FIGURA 3 - Estrutura química do ácido linoleico e dos dois principais isômeros de ácido linoleico conjugado.

Fonte: Adaptado de Steinhart²³ por National Cattlemen's Beef Association²⁴.

Park et al.²⁵ investigaram os efeitos do CLA na composição corporal em ratos e também observaram a ocorrência de menor deposição gordura com aumento da lipólise em adipócitos, e maior oxidação de ácidos graxos, tanto em células musculares como adiposas. De modo semelhante, Martin e Valeille²⁶ sugeriram que o isômero *trans*-10, *cis*-12 está associado à redução de gordura corporal. Ele exerce efeito específico sobre os adipócitos, por reduzir a captação de lipídios via inibição da atividade das enzimas lipoproteína lipase e estearoil-CoA desaturase, e também altera o metabolismo lipídico¹⁴.

É importante considerar que o isômero *trans*-10, *cis*-12 também pode inibir a entrada de glicose nos adipócitos e alterar o metabolismo da insulina. Estes efeitos têm sido atribuídos à modulação da expressão gênica realizada pelo CLA²³. O mecanismo que permite ampla atividade biológica do CLA é seu envolvimento na síntese de eicosanoides⁹. O CLA afeta a interconversão metabólica dos ácidos graxos, modulando o perfil de ácidos graxos e resultando na produção de eicosanoides extra-hepáticos²⁷.

Ambos os isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 podem interferir no metabolismo de outros ácidos graxos modulando a atividade das enzimas dessaturases. Sabe-se que o isômero *trans*-10, *cis*-12 reduz a atividade da Δ -dessaturase e isto poderia trazer consequências para a síntese de eicosanoides e fluidez de membrana, por exemplo²⁶.

Hayek et al.²⁸ observaram que o CLA estimula a proliferação de células T *in vitro*. Para Ha et al.²⁹, a ação do CLA se deve, em parte, à competição com o ácido linoleico na biossíntese de ácido araquidônico. O ácido araquidônico é precursor de eicosanoides, como a prostaglandina E2; por esse motivo, a ingestão de CLA poderia reduzir sua produção²⁸. A prostaglandina E2, por sua vez, pode suprimir a produção de interleucina-2 e a proliferação de células T^{30,31}.

Além de modular a disponibilidade de ácidos graxos envolvidos na síntese de eicosanoides, o CLA inibe a síntese de prostaglandina ao inibir a enzima prostaglandina H sintase, o que poderia auxiliar na compreensão dos efeitos biológicos do CLA, já que os eicosanoides, principalmente as prostaglandinas, estão envolvidos em processos de carcinogênese, aterosclerose, obesidade e função imune, entre outros²⁶. Contudo, ainda é necessário investigar como o CLA ou seus metabólitos modulam a produção de eicosanoides³².

Tanto os aspectos da imunidade inata quanto os da adaptativa são influenciados pela suplementação dietética de CLA, que pode promover proliferação linfocitária, maior produção de interleucina-2 (IL-2) e redução do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL-6) em ratos³³. O consumo de CLA antes da exposição a desafios infecciosos pode evitar a perda de peso em leitões aos 42 dias de idade, evidenciando seu potencial fortalecimento imunológico³⁴.

Sugano et al.³⁵ demonstraram aumento dos níveis esplênicos de IgA, IgM e IgG, e redução da IgE em ratos suplementados com 1,0% de CLA. Houve aumento dose-dependente das três primeiras imunoglobulinas em nódulos linfáticos, embora as subpopulações de linfócitos T não tenham sido alteradas. A produção de IgA e IgM e a porcentagem de células B podem aumentar em animais suplementados com o isômero *trans*-10, *cis*-12³⁶.

Com relação ao desempenho, é sugerido que este isômero possa favorecer o crescimento e provavelmente, a eficiência alimentar em roedores¹⁴. A capacidade do CLA em melhorar a eficiência alimentar em suínos foi estudada por diversos pesquisadores^{37,38,39}.

A capacidade do CLA de alterar o metabolismo lipídico é interessante também na produção de aves, e no caso de matrizes de corte pode evitar a excessiva deposição de gordura capaz de comprometer a reprodução⁴⁰. Entretanto, é necessário considerar que a composição lipídica da dieta afeta também o perfil de ácidos graxos da gema do ovo⁴¹. Para Lee et al.⁴², dietas contendo CLA podem interferir na atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase. Isso aumentaria a proporção de ácidos graxos saturados em relação à de insaturados na gema, o que pode influenciar as características de qualidade dos ovos⁴³, além do processo de embriogênese e a fase neonatal⁴¹. Por este motivo, ao incluir o CLA como suplemento na dieta de matrizes, deve-se buscar trabalhar com níveis seguros de inclusão, e considerar que a mortalidade embrionária e a queda na eclodibilidade estão relacionadas à dose e à duração do fornecimento da dieta suplementada⁴¹.

2.2 Transferência de nutrientes da matriz para o ovo e para a progênie

O crescimento e o desenvolvimento embrionário adequados dependem, entre outros fatores, do completo fornecimento dos nutrientes depositados no ovo e, como consequência, o *status* fisiológico do pinto à eclosão é influenciado pela nutrição das matrizes. Dessa maneira, procura-se estimular o desempenho da ave ao produzir ovos com maior concentração de nutrientes disponíveis⁴⁴. O tamanho do ovo influencia diretamente o tamanho do neonato e, conseqüentemente, o peso final de abate da ave. A partir de certo ponto, cada grama presente no ovo corresponderá a 0,5g no peso do pinto neonato e a 5g no peso aos 42 dias⁴⁵.

A prioridade de utilização dos nutrientes fornecidos à matriz é para a manutenção dos órgãos vitais, seguidos do metabolismo ósseo e crescimento muscular e, por último, a reprodução. Com isso, se destaca a importância da dieta equilibrada que irá garantir as necessidades de manutenção e produção da ave⁴⁴.

A base bioquímica da transferência de nutrientes dos tecidos da matriz para o ovário e oviduto compreende a síntese e a exportação de proteínas com capacidade de se ligar a nutrientes específicos. O ovo fértil é composto por três partes: casca, gema e albúmen, e os nutrientes específicos são mobilizados para o embrião a partir de cada uma dessas estruturas, dotadas de composição típica, mas que são susceptíveis a alterações na dieta da reprodutora⁴⁶.

O ovo é composto por aproximadamente 59% de albúmen, 31% de gema e a casca corresponde a 10% do seu peso total⁴⁷. Durante o seu processo de formação, o fígado tem o papel de sistema sexual secundário na matriz. As aves produzem oócitos que contêm gema em grande quantidade, e a transferência de material, proveniente do fígado, para o interior do oócito ocorre durante os últimos dias da maturação folicular. Várias semanas antes da postura, o estrogênio produzido por pequenos folículos ovarianos estimula a produção hepática de duas das principais classes de precursores da gema, a vitelogenina e a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), que serão incorporadas pelos folículos em desenvolvimento, ao atravessar a membrana vitelina por endocitose⁴⁸.

Os lipídios presentes na gema são constituídos aproximadamente de 65% de triacilglicerídeos, 25% de fosfolipídeos, 6% de colesterol livre e 1% de colesterol esterificado⁴⁹. Os fosfolipídios predominantes são a fosfatidilcolina (73%) e a fosfatidiletanolamina (15%). Os principais ácidos graxos componentes da gema são o palmítico (30%) e o esteárico (38%), compondo cerca de 30% dos triglicerídios⁴⁶.

A composição lipídica das dietas afeta a composição de ácidos graxos da gema, o que pode interferir no desenvolvimento embrionário e na eclodibilidade do ovo⁴⁸. Deve-se

atentar também para o fornecimento de ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico, relacionado à integridade de membrana celular, imunocompetência e ao desenvolvimento embrionário, influenciando, portanto, a qualidade do pinto neonato⁵⁰. Matrizes de frango de corte devem receber, na dieta, entre 1,25 e 1,30% de ácido linoleico⁵¹.

Ribeiro et al.⁴⁰ estudaram o efeito dos níveis de ácido linoleico na dieta de matrizes pesadas sobre o peso e a composição dos ovos, porcentagem de eclosão, peso do pinto, porcentagem de saco vitelínico em relação ao peso do pinto e composição de ácidos graxos da gema. O peso dos ovos e o percentual de ácido linoleico na gema foram mais altos com a maior inclusão de ácido linoleico na dieta (1,93%) comparados à menor inclusão (1,48%). Contudo, as porcentagens de gema, de albúmen, de casca e vitelínico do saco vitelínico, no momento da eclosão e o peso do pinto neonato não foram afetados pelos tratamentos.

A suplementação de matrizes em até 0,54% de ácido linoleico conjugado (CLA) pode minimizar o aumento de peso dos ovos e de seus componentes, que normalmente ocorre em função do avanço da idade das aves. Além disso, o fornecimento de níveis crescentes de CLA para as matrizes pode causar o aumento da mortalidade embrionária, principalmente no início da embriogênese⁵².

Diferentes fontes de óleo na dieta podem afetar diretamente o perfil de ácidos graxos das gemas dos ovos, com mudanças nas concentrações de ácido oleico, linoleico e linolênico, como observado por Roll⁵³ ao incluir óleo de canola na dieta de matrizes de codornas. Por outro lado, diferentes fontes de óleo (soja ou peixe) associadas a níveis diferentes de vitamina E não alteraram o peso dos pintos e a eclodibilidade dos ovos⁵⁴.

Koppenol et al.⁵⁵ mostraram que a suplementação com ácido eicosapentaenoico na dieta aumenta a concentração deste ácido graxo na gema, conteúdo do saco vitelínico e fígado da progênie, embora as alterações deste último sejam mais brandas após a fase inicial.

Várias proteínas fazem parte da gema⁴⁶, tais como as livetinas, as glicoproteínas e as imunoglobulinas⁴⁸. Com relação aos carboidratos, a gema contém apenas de 0,7 a 1% desse nutriente, incluindo 0,3 % de glicose livre⁴⁷.

Durante a ovulação, a gema do maior folículo é capturada pelo infundíbulo e sofre deposições sucessivas em diferentes partes do oviduto. A proteína do albúmen permanece armazenada nas células tubulares e epiteliais do magno até que seja secretada. A camada que circunda o albúmen é secretada pela junção entre o magno e o istmo. Em seguida, o istmo secreta as duas membranas que compõem a casca, sendo a mineralização realizada no útero. Em oposição aos constituintes da gema, todas as proteínas do albúmen são sintetizadas e

secretadas pelo magno de forma contínua e muito mais rápida, indicando que deficiências na dieta da matriz afetarão o albúmen primeiro. A maioria das proteínas do ovo (ovoalbumina, ovotransferrina, ovomucoide e lisozima) é sintetizada nas glândulas tubulares e corresponde a, pelo menos, 80% das proteínas do albúmen, enquanto a avidina e a ovomucina são sintetizadas nas células epiteliais. Não há lipídios no albúmen⁴⁷.

O maior fornecimento de proteína na dieta da matriz pode refletir em maior porcentagem de proteína bruta no conteúdo do ovo⁵⁶, além de alterar o peso corporal e o ganho de peso da progênie na terceira semana de vida⁵⁷.

A suplementação de aminoácidos específicos também influencia a qualidade dos ovos e da progênie, como demonstrado por Silva⁵⁸, que avaliou a suplementação de arginina para matrizes de corte e encontrou ovos mais pesados em resposta a essa suplementação. Por sua vez, Meija et al.⁵⁹ observaram que o nível de lisina digestível oferecido à matriz pode alterar a produção diária de ovos, o peso do ovo e o peso corporal do neonato. Ainda com relação aos níveis de lisina na dieta matriz, quando elevados, podem reduzir o peso corporal, o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar da progênie aos 21 dias, com efeito mais pronunciado em matrizes mais jovens⁶⁰.

Embora a dieta materna seja a origem dos nutrientes para o embrião, esses nutrientes são parcialmente modificados pelo metabolismo do próprio embrião. De qualquer forma, limitações na disponibilidade de nutrientes, seja devido à quantidade insuficiente ou à forma em que se apresentam, podem limitar o crescimento ou levar à morte do embrião⁴⁶.

Os minerais presentes no ovo refletem sua concentração no sangue da matriz. Com exceção do ferro e zinco, que se encontram somente na gema, todos os outros minerais estão presentes no albúmen e na gema⁴⁸. A maioria dos minerais, especialmente cálcio, fósforo, sódio, potássio, magnésio e cloro estão envolvidos na formação da casca, e melhorias na qualidade desta estrutura geralmente conduzem a melhor qualidade do ovo e do neonato⁵⁰. Deficiências de minerais específicos podem ser rapidamente induzidas em embriões em desenvolvimento quando as matrizes recebem quantidades insuficientes destes nutrientes⁴⁶.

Em estudos desenvolvidos por Roll⁵² ficou demonstrado que matrizes de codornas suplementadas com selênio orgânico produziram maiores codorninhas ao nascimento comparado às aves que não foram suplementadas, e que os ovos produzidos pela progênie das matrizes suplementadas também apresentaram maior peso.

As vitaminas estão envolvidas na maioria dos processos metabólicos e possuem papel fundamental no desenvolvimento embrionário. A vitamina E se destaca como a que apresenta a maior influência no crescimento da progênie⁵⁰. Tsai et al.⁶¹ observaram que a

concentração de α -tocoferol na gema do ovo é diretamente proporcional ao nível de suplementação de vitamina E na dieta da matriz. Já a fonte de suplementação de vitamina D pode aumentar as porcentagens de casca e gema dos ovos⁶².

O embrião desenvolve mecanismos específicos de mobilização de vitaminas e minerais estocados no ovo e também envolve a síntese e transporte de proteínas com capacidade de ligações específicas⁴⁶. A transferência de vitaminas e minerais da matriz para o ovo compreende duas possíveis vias: provenientes do ovário para a gema e vindas do oviduto para o albúmen, as membranas da casca ou para a casca. A utilização de minerais é feita principalmente a partir da gema, que é a principal fonte de fósforo, e mais tardiamente da casca, que é a principal fonte de cálcio⁴⁶.

O equilíbrio desses nutrientes se deve a uma ação coordenada do saco vitelínico, que mobiliza e libera os nutrientes derivados da reserva do ovo; pela circulação vitelínica, que os transporta para o embrião; e pelo fígado, que acumula e distribui os nutrientes para os outros tecidos, por meio da circulação embrionária⁴⁸.

Variáveis relacionadas à idade da matriz podem influenciar diretamente sua progênie e o desempenho no campo⁶³. Ao avaliar a relação entre os componentes do ovo e a idade da matriz, Almeida⁶⁴ não observou efeito da idade sobre a porcentagem de albúmen. No entanto, o peso relativo da gema aumentou, acompanhado da diminuição do peso relativo da casca de ovos de aves mais velhas. Houve aumento do peso do ovo à medida que aumentou a idade da matriz. Algo semelhante foi observado por Santos⁶⁵, que relatou a produção de ovos mais pesados e com maior porcentagem de albúmen, gema e casca em matrizes mais velhas.

A progênie de matrizes mais velhas pode apresentar maior peso corporal ao longo de todo o período de criação⁶⁶, resultado que pode estar relacionado à maior concentração de nutrientes presentes na gema, que refletiu em melhor adaptação do trato digestório na primeira semana e melhor imunidade⁶⁷.

Outra via que vem sendo utilizada para disponibilizar nutrientes para o embrião é a injeção *in ovo*⁴⁶. Estudos mostram que, ao nascimento, o intestino de pintos nutridos *in ovo* apresenta desenvolvimento semelhante ao de pintos de dois dias de idade convencionalmente alimentados⁶⁸. Leitão et al.⁶⁹ avaliaram a suplementação de glicose em até 0,6 mL em ovos embrionados e não observaram melhora da qualidade de pintos ao nascer ou do desempenho de pintos de corte na fase pré-inicial. Do mesmo modo, a inoculação de maltose combinada ou não com sacarose em ovos leves não garantiu desempenho na fase inicial dos pintos⁷⁰.

Por outro lado, pesquisas apontaram que a inoculação *in ovo* de 0,5 mL de soluções nutritivas aos 17,5 dias de incubação conduziu a menor taxa de eclodibilidade,

enquanto pintos oriundos de ovos não inoculados apresentam maior consumo de ração aos sete dias de idade. A inoculação de 0,5 mL de solução nutritiva contendo 2,5% de glicose + 3,0% de sacarose melhorou a conversão alimentar, aumentou o ganho de peso e o rendimento de determinados cortes de frangos de corte aos 21 dias de idade⁷¹.

Pedroso et al.⁷² analisaram o efeito da inoculação *in ovo* de ácido linoleico, glicose e glutamina aos 16 dias de incubação em ovos de matrizes pesadas sobre a eclodibilidade dos ovos. Foi observado aumento da mortalidade embrionária e diminuição da eclodibilidade dos ovos em resposta à inoculação de ácido linoleico ou glicose. Além disso, pintos mais leves foram obtidos com a inoculação *in ovo* de diferentes níveis de ácido linoleico.

2.3 O saco vitelínico

A gema é a principal fonte de nutrientes para o embrião em desenvolvimento, uma vez que contém lipídios, proteínas, vitaminas, minerais e outros micronutrientes essenciais⁷³. Seu conteúdo é assimilado pelo embrião a partir do segundo dia de incubação, quando há a formação do saco vitelínico⁷⁴, um tecido extra-embrionário que circunda a gema e tem a capacidade de absorver, digerir e transportar nutrientes⁷⁵.

A membrana do saco vitelínico forma-se como extensão do trato alimentar, e com o avançar do tempo une-se ao intestino delgado. Nos estágios iniciais de incubação, a membrana do saco vitelínico cresce sobre a superfície da gema, mais precisamente ao longo da superfície interna da membrana vitelínica, que delimita a gema. No quarto dia de incubação, a membrana vitelínica é rompida pelo embrião e a membrana do saco vitelínico passa a manter a integridade da gema⁷⁶. Após a primeira semana de vida embrionária, o epitélio absorptivo que circunda a gema, e uma densa rede de capilares, chamada de sistema vascular vitelínico, envolvem completamente o saco vitelínico⁷⁷.

A utilização dos nutrientes pelo embrião via saco vitelínico é afetada pela demanda da ave por nutrientes e pela capacidade da membrana do saco vitelínico em realizar a absorção. Essa capacidade depende de mudanças morfológicas, digestivas, metabólicas e moleculares que ocorrem nesta estrutura durante o processo de incubação⁷⁸.

A membrana do saco vitelínico contém várias enzimas digestivas e transportadores de nutrientes, bem como a função de assimilação de nutrientes⁷⁹. Além disso, ocorre a expressão de genes que são geralmente expressos pelas células intestinais, relacionados à digestão e transporte de carboidratos, proteínas, aminoácidos, cálcio, zinco e fosfato do conteúdo do saco vitelínico para a corrente sanguínea do embrião⁸⁰. Yadgary et

al.⁷⁸ detectaram a presença de lipases e ácidos biliares no saco vitelínico, sugerindo que este último também possa ser produzido neste local.

Além de conter os nutrientes vindos da gema, o saco vitelínico embrionário funciona como sítio primário de crescimento de vasos sanguíneos e formação de células sanguíneas, proliferação celular linfática, e diferenciação de células germinativas antes que estas migrem para seus respectivos órgãos⁷⁷.

Na última semana de desenvolvimento embrionário, o saco vitelínico desempenha diferentes papéis para substituir ou auxiliar a função de certos órgãos, que ainda não alcançaram sua completa capacidade funcional. Ele atua de modo semelhante ao intestino, na digestão e transporte de nutrientes; como o fígado, na produção de proteínas carreadoras plasmáticas e fatores de coagulação; e como a medula óssea, na síntese de células sanguíneas⁷⁵. Guedes et al.⁸¹ apontaram que o saco vitelínico é o principal responsável pela expansão e diferenciação no processo de granulopoiese e eritropoiese durante a fase embrionária da ave, mesmo após a medula óssea adquirir funcionalidade.

Na incubação, o conteúdo do ovo é utilizado pelo embrião para formação do seu corpo. A energia para este processo provém principalmente dos lipídios da gema⁴⁴. A proteína é obtida diretamente da gema por absorção via direta do saco vitelínico ou após a segunda semana de incubação via ingestão do albúmen⁴⁶. Após a formação do embrião, o albúmen restante se une ao líquido amniótico e é ingerido, sendo uma porção do albúmen absorvida pelo intestino delgado para aumentar as reservas corporais de glicogênio. A parte residual não utilizada contém enzimas digestivas e entra no saco vitelínico, participando da digestão lipídica⁸².

Com relação às atividades do saco vitelínico, a hematopoiese atinge seu pico entre o 11º e o 13º dia de incubação. A assimilação de proteínas é máxima ao 13º dia, enquanto a maior absorção lipídica ocorre nos estágios finais de incubação⁸³. Além disso, Nechaeva e Turpaev⁸⁴ constataram a ocorrência de contrações rítmicas do saco vitelínico, do quinto ao 12º dia de incubação, e propuseram sua participação na movimentação do embrião dentro do ovo durante o processo de embriogênese.

O saco vitelínico tem como principal papel imunológico a transferência de IgY⁸⁵, depositada pela matriz na gema do ovo, para a progênie por meio da circulação embrionária. Esta transferência tem início no sétimo dia de incubação, atingindo o pico entre três e quatro dias após a eclosão⁸⁶. Durante a incubação, os ácidos graxos presentes na gema também são utilizados para a síntese de eicosanoides, considerados potentes anti-inflamatórios⁸⁷.

No 19º dia de incubação, tem início a internalização do saco vitelínico para a cavidade abdominal, processo que se completa no 20º dia de incubação⁸⁸. Hormônios tireoidianos participam do mecanismo de retração⁸⁹, que influencia tanto a viabilidade quanto a qualidade do pinto neonato⁹⁰.

No processo de eclosão, o embrião necessita de mais energia e, além dos ácidos graxos, a glicose passa a ser fonte energética novamente⁸². Nesta fase, o saco vitelínico mais uma vez apresenta uma importante função. Yadgary e Uni⁹¹ propuseram que a síntese de glicose ocorre no saco vitelínico, sendo armazenada na forma de glicogênio, e será capaz de suprir a demanda exigida pela ave durante o processo de eclosão, já que, nesse momento, pode transferir ao embrião 10 vezes mais glicose se comparado ao fígado.

À eclosão, o conteúdo do saco vitelínico contém de 20 a 40% de lipídios e 20 a 25% de proteínas, e corresponde a aproximadamente 20% do peso corporal⁹². Sua absorção no neonato, pode ocorrer pelo trato intestinal via lúmen do pedículo vitelínico, favorecida por movimentos antiperistálticos que conduzem a gema para o intestino delgado proximal, em que os lipídios são digeridos pela lipase pancreática e posteriormente absorvidos. No entanto, a via mais efetiva compreende a absorção através do revestimento epitelial vitelínico para os vasos sanguíneos^{92,93}.

O conteúdo do saco vitelínico tem a capacidade de prover proteínas e energia imediatas ao pinto neonato e pode manter a ave viva por três a quatro dias como fonte exclusiva de alimento. Todavia, o desenvolvimento do intestino e do sistema imunológico e o ganho de peso corporal são prejudicados⁹².

Os lipídios do saco vitelínico são rapidamente consumidos durante os últimos estágios de incubação, assumindo grande importância no desenvolvimento do embrião. Contudo, não representam a maior reserva energética para a ave após a eclosão⁹⁴. Assim, é importante considerar que as frações lipídicas e proteicas constituintes do saco vitelínico são estruturalmente mais favoráveis à síntese celular e manutenção da imunidade passiva, respectivamente, do que ao atendimento das demandas energéticas, embora sejam oxidadas na ausência do suprimento de energia via oral⁴⁶.

Além de poupar as proteínas e os lipídios do saco vitelínico, Yang et al.⁹⁵ propuseram que o fornecimento de alimentação exógena estimula a utilização da gema residual, uma vez que dá início ao crescimento ou aumenta a motilidade do trato gastrointestinal e a passagem do conteúdo do saco vitelínico através do pedículo. Ainda supõe-se que a presença de conteúdo no intestino pressiona fisicamente o saco vitelínico na cavidade abdominal, o que também pode favorecer seu esvaziamento⁹⁶.

Assim, o fornecimento de alimentação exógena estimula o crescimento da ave, aumenta sua maturidade nutricional, estimula a utilização do conteúdo do saco vitelínico e o desenvolvimento do intestino, promovendo efeitos a longo prazo sobre o metabolismo⁹⁷.

2.4 Sistema imune das aves e transferência de imunoglobulinas da matriz para a progênie

O sistema imune das aves consiste de órgãos linfoides primários e secundários. O timo, localizado no pescoço, e a bursa de Fabricius, adjacente à cloaca, são os órgãos primários⁸⁵. Os órgãos linfoides secundários compreendem o baço, a medula óssea e estruturas linfoides que abrangem a glândula de Harder, as tonsilas cecais, as placas de Peyer e o divertículo de Meckel⁹⁷.

As células-tronco vindas do saco vitelínico migram para órgãos linfoides primários, onde os linfócitos se diferenciam em células B (na bursa) e T (no timo), no décimo dia de incubação. Quando maduras, estas células migram para os órgãos linfoides secundários^{97,98}. Portanto, órgãos linfoides primários promovem o ambiente para diferenciação, independente de antígenos, de células T e B, enquanto nos órgãos linfoides secundários ocorre o contato destas células com os antígenos⁹⁹.

O timo consiste em duas cadeias de três a oito massas de formato irregular, achatadas e de coloração rosa pálida, que se estendem longitudinalmente pelo pescoço, próximos à veia jugular. Histologicamente, é composto de lobos, possuindo córtex e medula com junção não definida. Contém linfócitos T (células T), que sofrem maturação e diferenciação neste órgão, e são derivados de células-tronco produzidas na região para-aórtica e que migraram para o saco vitelínico antes de adentrar o timo. As células T maturadas neste órgão correspondem a aproximadamente 70% da população total de linfócitos no sangue⁹⁸. O timo ainda contém pequena quantidade de linfócitos B (células B), que migraram para seu parênquima após a eclosão¹⁰⁰.

A bursa é um divertículo oval em forma de saco localizada na zona dorsal do proctodeu⁹⁷, composta por folículos linfoides e que atinge tamanho máximo até a maturidade sexual e depois involui. Cada folículo possui um córtex de linfócitos, macrófagos e células plasmáticas, enquanto a medula possui linfócitos, linfoblastos e células plasmáticas¹⁰⁰.

O baço, localizado no lado direito da junção proventrículo-ventrículo, é esférico na maioria das aves e não apresenta distinção entre polpa vermelha e polpa branca. A medula óssea produz granulócitos no final da fase embrionária e, após o nascimento, nela se encontram células secretoras de IgM¹⁰⁰.

Grande parte da mucosa intestinal é constituída por tecido linfoide e funciona como sítio de interação entre a ave e os antígenos vacinais e os microrganismos do meio ambiente. Por sua vez, a glândula de Harder está associada à formação da imunidade local do olho e da região nasofaríngea, e apresenta tecido linfoide formado por linfoblastos provenientes da bursa que, após sua maturidade, tornaram-se plasmócitos produtores de imunoglobulina A (IgA), protegendo as mucosas nasal, oral e ocular⁹⁷.

Funcionalmente, o sistema imune das aves pode ser dividido em duas partes: o inato, mas não específico, e o adquirido, específico⁸⁵.

A atividade do sistema inato é considerada a primeira linha de defesa do organismo e conta com a ação de células caliciformes, macrófagos, células dendríticas, heterófilos, trombócitos, linfócitos *natural killer* (NK), entre outras células, e depende de mecanismos inespecíficos⁹⁷. O mecanismo inato também inclui a epiderme, secreções dos tratores gastrointestinal, urogenital e respiratório e inflamação; está presente desde o nascimento e não necessita de estímulo antigênico. Na imunidade inata, o organismo responde sempre da mesma forma aos estímulos imunológicos¹⁰⁰. Esta resposta é rápida e quando não é suficiente, dá-se início à resposta adaptativa que, por sua vez, demora dias⁹⁷.

A imunidade específica ou adquirida pode ser celular ou humoral⁸⁵. A imunidade humoral se desenvolve na bursa e é caracterizada por imunoglobulinas (anticorpos) secretadas pelas células B. No timo, ocorre a maturação de linfócitos T, principal célula envolvida na resposta imune celular. A imunidade celular, mediada por células T, inclui células citotóxicas, auxiliares e respostas supressoras. Os linfócitos T diferem dos linfócitos B, pois possuem menor afinidade pelo antígeno, interagem com outras células, não produzem anticorpos e reconhecem peptídeos estranhos ao organismo em superfícies celulares¹⁰⁰.

Na imunidade adquirida, há a resposta primária e a resposta secundária. No primeiro caso, há um intervalo de 10 a 15 dias até que os anticorpos possam ser mensurados no soro, sendo a imunoglobulina M (IgM) a principal imunoglobulina detectada. Com a continuidade do estímulo antigênico, há transição para a secreção de imunoglobulina G (IgG). Se a ave for novamente exposta ao mesmo antígeno, haverá a resposta secundária, com produção mais rápida de anticorpos graças às células de memória, sendo IgG predominante. Na resposta secundária, os receptores dos linfócitos B também possuem alta afinidade por antígenos, e os linfócitos T apresentam maior capacidade de aderência antigênica¹⁰⁰.

As aves podem tornar-se imunes aos agentes patogênicos de duas maneiras: pela produção de anticorpos ou pela obtenção dos anticorpos de outra ave. Quando, após a

exposição a um agente patogênico, seja pela vacinação ou pelo desafio de campo, as aves produzem seus próprios anticorpos, o processo é denominado imunidade ativa¹⁰¹.

A imunidade passiva é a transferência de imunidade ativa humoral sob a forma de anticorpos prontos, a partir um indivíduo para outro, e pode ocorrer naturalmente, quando os anticorpos maternos são transferidos para a prole⁸⁵. A eficácia da imunidade passiva é variável e depende de vários fatores, tais como o nível de anticorpos maternos e o agente envolvido. Em aves, as imunoglobulinas são transferidas de matrizes hiperimunizadas ou naturalmente infectadas para suas progênes através do ovo⁸⁶.

Os anticorpos transferidos da mãe para a progênie protegem os pintos nas primeiras semanas de vida, e são reflexo dos desafios ou vacinações a que a mãe foi exposta. O nível de anticorpos encontrados nos neonatos tem correlação direta com o nível de anticorpos maternos⁹⁷.

Esse tipo de imunidade dura geralmente de uma a duas semanas e tem por função proteger a ave jovem⁸⁶, uma vez que o sistema imunológico dos pintos recém-eclodidos ainda é imaturo e, por isso, não é capaz de protegê-los completamente contra patógenos em sua primeira exposição ao ambiente externo¹⁰². À medida que ocorre o desenvolvimento do neonato, o nível desses anticorpos reduz progressivamente em função do metabolismo da ave⁹⁷.

As imunoglobulinas são moléculas de glicoproteína produzidas por células do plasma em resposta a um estímulo imune e funcionam como anticorpos¹⁰³. Imunoglobulinas são antígeno-específicas, e sintetizadas pelos linfócitos B, que por sua vez são produzidos pelo fígado do embrião, saco vitelínico e medula óssea⁸⁵.

São proteínas heterodiméricas compostas por duas cadeias pesadas e duas cadeias leves, podendo ser separadas funcionalmente em domínios variáveis que se ligam a antígenos, e em domínios constantes com funções efetivas, tais como a ativação do complemento ou a ligação a receptores Fc¹⁰⁴.

As várias classes de imunoglobulinas presentes nos mamíferos diferenciam-se pelas cadeias pesadas, que possuem domínios constantes codificados separadamente¹⁰². Existem cinco tipos de cadeias pesadas. São elas: α , γ , δ , ϵ e μ . Há dois tipos de cadeias leves, kappa (κ) e lambda (λ)¹⁰⁵. A Figura 5 mostra a estrutura das imunoglobulinas.

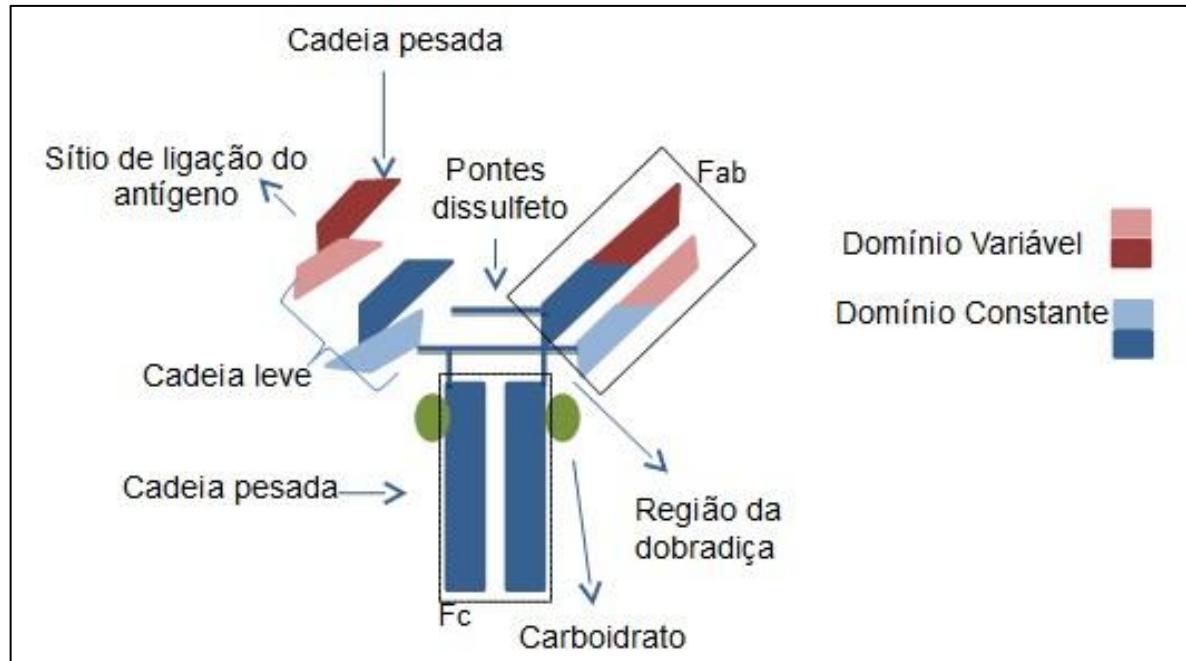


FIGURA 5 – Estrutura das imunoglobulinas.

Fonte: Canhas¹⁰⁶.

O sistema imune das aves difere em certos aspectos dos mamíferos, principalmente pela presença, nas aves, da bursa de Fabricius e pela ausência de uma estrutura organizada de nódulos linfáticos¹⁰⁷. Também existem diferenças na maturação e funcionamento de suas células¹⁰⁸.

Existem três classes de anticorpos em aves, a saber, IgA, IgM e IgY. A IgA e a IgM aviárias são semelhantes às suas correspondentes em mamíferos em termos de peso molecular e estrutura. A IgY é considerada a equivalente aviária à IgG dos mamíferos¹⁰⁹, sendo o tamanho da cadeia pesada a maior diferença entre as duas homólogas, já que a IgY consiste de cinco domínios, contra quatro da IgG¹¹⁰.

Nas aves, não existem homólogas da IgE. Todavia, estudos têm demonstrado que a IgY possui semelhanças tanto com a IgG quanto com a IgE dos mamíferos, sendo provavelmente equidistante entre elas. A IgY é produzida após a IgM na resposta primária de anticorpos, e é o principal isotipo produzido na segunda resposta¹¹⁰.

Todas as células da bursa e linfócitos B expressam a IgM em suas membranas. IgA é a principal forma de anticorpo nas secreções corporais e mucosas. Apenas 1,6% dos linfócitos sanguíneos são IgY¹¹¹. A IgY é um anticorpo sistêmico, e, embora não seja secretório, também pode ser encontrado no conteúdo duodenal, nas lavagens traqueais e no plasma seminal¹¹².

Como mencionado anteriormente, os anticorpos maternos são transferidos das matrizes para a progênie através do ovo¹¹³. Nas aves, a transferência de imunoglobulinas para o embrião acontece em duas etapas. Primeiro, as imunoglobulinas são depositadas na gema e no albúmen do ovo, para posteriormente serem transferidas ao embrião⁸⁶.

A via de deposição das imunoglobulinas no ovo difere de acordo com o isotipo. A IgA e IgM são transferidas para o albúmen como resultado da secreção mucosa do oviduto, mais especificamente do magno⁸⁶. Estão ausentes na gema e no soro de pintos logo após a eclosão, e já foram detectadas no albúmen de ovos não embrionados, no líquido amniótico de ovos embrionados e no trato digestivo de embriões de 19 dias, que também continham IgY¹¹⁴.

Hamal et al.¹¹³ citaram que, embora saiba-se que IgA e IgM são predominantes na clara do ovo a via, a quantidade e a cinética da total transferência da IgA e da IgM para o ovo, e, posteriormente, para os pintos, ainda não foram estudadas em detalhe.

A IgY corresponde a 75% do pool total de imunoglobulinas⁸⁵, e é transferida especificamente através de uma membrana durante a maturação da gema, por meio de receptor específico para essa imunoglobulina presente na superfície da membrana¹¹⁵. A IgY é depositada na gema em diferentes estágios, durante a formação dessa estrutura. A passagem para o óvulo é regulada pelo epitélio folicular, o qual passa por mudanças morfológicas à medida que o óvulo se desenvolve. Esse epitélio se torna mais liso e mais fino para os óvulos maiores, permitindo a passagem de grandes quantidades de IgY. A transferência de IgY via epitélio ovariano folicular chega ao máximo entre três e quatro dias antes da ovulação e começa a declinar devido ao desenvolvimento da membrana vitelínica entre o óvulo e o epitélio folicular do ovário, em preparação para a ovulação⁸⁶.

O duplo modo de transferência das imunoglobulinas maternas de diferentes classes na ave compara-se à transferência da imunidade materna em mamíferos¹¹⁴. Patterson et al.¹¹⁶ propuseram que o epitélio folicular do ovário tem a mesma finalidade da imunização passiva de prole como faz o epitélio acinar da glândula mamária em ungulados e as membranas extra-embrionárias em coelhos e no homem.

IgA e IgM são transferidas ao embrião via fluido amniótico ingerido¹¹⁴ e absorvidas pelo intestino e têm como função principal proteger o trato alimentar ou servir de fonte adicional de proteína⁸⁶. Portanto, não são transferidas para a circulação fetal¹¹⁷.

A IgY é transferida da gema do ovo para a progênie por meio da circulação embrionária. Tem início a partir do sétimo dia de desenvolvimento embrionário e alcança o seu máximo entre três e quatro dias antes da eclosão⁸⁶.

Assim, IgM e IgA estarão presentes no trato digestivo e, em contrapartida, IgY estará presente na circulação sanguínea do pintainho¹¹⁵. Há relação direta dos títulos de imunoglobulinas no soro materno e a quantidade repassada ao ovo¹¹⁸. A quantidade de IgA e IgM transferida ao embrião é menor do que 1% da concentração dessas imunoglobulinas no plasma da matriz⁸⁶. Os níveis de IgY encontrados no plasma da progênie ou nos ovos é indicador direto da transferência de anticorpos maternos para circulação dos pintos, que é de cerca de 30%¹¹³. A concentração de IgY na gema chega a aproximadamente 10 a 20 mg/mL¹¹².

Pesquisas sobre a transferência de imunoglobulinas maternas contra micoplasmas, do oviduto de galinhas para o albúmen dos ovos, demonstraram correlação direta entre as imunoglobulinas presentes em cada um¹¹⁹.

Se a matriz possui um alto título de anticorpos para determinada doença, a prole também poderá ser imune por várias semanas. Todavia, se o sistema imune da ave não for estimulado, anticorpos e células de memória podem não ser produzidos¹⁰¹. Rho et al.¹²⁰ avaliaram o efeito da vacinação contra *Streptococcus mutans* em galinhas na concentração de imunoglobulinas encontradas nos ovos, e detectaram IgY específica duas semanas após a primeira vacinação, com tendência a aumentar conforme o número de vacinações.

Pintos de um dia apresentaram alto título de anticorpos maternos contra o vírus da doença de Newcastle, sugerindo que a vacinação das matrizes atingiu o objetivo esperado¹²¹. Anticorpos maternos contra Newcastle fornecem boa proteção nas duas primeiras semanas de vida, sendo detectáveis até a terceira semana¹²².

É necessário considerar o efeito da imunização passiva na resposta vacinal da progênie. Tessari et al.¹²³ analisaram o soro de aves de um e dez dias de idade e não observaram diferença entre os títulos de anticorpos de pintos vacinados ou não contra a Doença de Gumboro no incubatório, atribuindo à imunidade passiva a proteção contra o efeito imunossupressor do vírus.

Contudo, Michell¹²⁴ encontrou em seus experimentos que pintos de corte descendentes de matrizes vacinadas no período de pré-postura contra a Doença de Gumboro apresentam maior título médio de imunoglobulinas aos 10 dias de idade do aqueles provenientes de matrizes não vacinadas. Entretanto, aos 25 e aos 40 dias, a vacinação da matriz interfere negativamente na conversão sorológica da progênie vacinada.

Por esse motivo, ao determinar o programa vacinal para um lote, a imunização passiva deve ser considerada. Se as aves forem vacinadas quando os títulos de anticorpos

maternos ainda estiverem elevados, a vacina pode não conseguir transpô-los, resultando em baixa eficiência da vacinação¹⁰¹.

Pela dieta, é possível elevar a quantidade absoluta de IgY no soro das aves, e conseqüentemente, em seus ovos. Maior produção de anticorpos em poedeiras leves vacinadas contra *Escherichia coli* e encefalomielite aviária foi observada quando as mesmas receberam dietas suplementadas com vitamina E e selênio, demonstrando o efeito da nutrição da matriz sobre a sua imunidade, a qual será transmitida à sua progênie¹²⁵. Entretanto, dietas mais pobres em proteína podem não alterar o nível de transferência de imunoglobulinas IgG (IgY aviária) aos ovos de codornas japonesas como observado por Grindstaff et al¹²⁶. A suplementação de arginina na dieta das matrizes também não foi suficiente para melhorar a resposta imune humoral e celular, sendo necessário suplementar a dieta da progênie com arginina⁵⁸.

Li et al.¹²⁷ acompanharam o efeito dos pesos do ovo e da gema sobre o conteúdo de IgY em poedeiras White Leghorn e Rhode Island Red. A primeira raça apresentou maior peso de gema, o que é considerado um importante fator para a produção de IgY. No entanto, quando observada a porcentagem de IgY em relação ao peso da gema, as duas linhagens foram semelhantes, demonstrando que a quantidade de anticorpos específicos produzidos independe da linhagem.

2.5 Jejum pós-eclosão e suas implicações

Em situações comerciais, a remoção das aves da incubadora só é feita quando a maioria dos ovos já eclodiu, processo que pode chegar a durar dois dias. Nesse período, o neonato não tem acesso ao alimento. Em seguida, os procedimentos de sexagem, vacinação, acondicionamento e transporte do incubatório à granja, entre outros, prolongam o jejum. Assim, as aves podem ficar 48 horas ou mais sem se alimentar, até que ocorra o alojamento¹²⁸.

Sabe-se que a gema provém grande quantidade de nutrientes nos primeiros dias de vida. Por isso, seria esperado que a utilização destes nutrientes acontecesse de forma mais rápida em aves em jejum. No entanto, a ingestão de alimento após a eclosão é fundamental para o crescimento da ave e o desenvolvimento dos órgãos¹²⁹.

Aproximadamente 20% das proteínas presentes no saco vitelínico correspondem às imunoglobulinas, enquanto as gorduras correspondem aos fosfolipídios, colesterol e triglicérides, que mesmo se forem eficientemente metabolizados, não serão capazes de suprir

o requerimento energético de manutenção do neonato². Animais em jejum acabam degradando tecidos para produção de energia metabólica, e utilizam fluidos intersticiais e intracelulares¹²⁹.

O rápido acesso ao alimento após a eclosão pode favorecer o desempenho, pois os nutrientes contidos no saco vitelínico não suprem adequadamente as necessidades do neonato e são mais bem aproveitados na forma de macromoléculas como imunoglobulinas, no atendimento da imunidade passiva, e fosfolípidios e colesterol, na composição de membranas celulares, do que na forma de aminoácidos e provimento de energia¹³⁰.

É necessário considerar que a transição para a obtenção de nutrientes via intestino envolve o desenvolvimento de mecanismos para a assimilação de proteínas e carboidratos exógenos¹³¹ e pode durar de dois a três dias. Neste período, ocorre a adaptação com redução da gliconeogênese à medida que os níveis de glicose são aumentados¹³². Noy e Sklan¹³¹ verificaram que até os quatro dias de idade, quanto menor o tempo de jejum, maior a absorção de glicose e metionina. Uni et al.¹³³ demonstraram que pintos de corte deutectomizados (cujos sacos vitelínicos foram extraídos) apresentam baixa taxa inicial de crescimento intestinal, o que evidencia a importância da provisão de nutrientes vindos da gema nesta fase. É interessante ressaltar que a perda de peso corporal observada em pintos logo após o jejum pós-eclosão deve-se à ausência da ingestão de nutrientes, e não à desidratação¹.

O jejum pós-eclosão pode afetar o ganho de peso, o peso corporal, a eficiência alimentar, a uniformidade e os ganhos econômicos¹³⁴. O jejum por 24 a 48 horas ocasiona perda de peso corporal, expressa tanto em valores absolutos quanto na forma percentual¹³⁰. Hakim et al.¹³⁵ reportaram que o peso corporal de pintos submetidos a jejuns de 48 e 60 horas foi reduzido em 8,6% e 12,5% quando comparados ao peso corporal inicial, respectivamente. Além disso, o fornecimento de ração à vontade após estes períodos de jejum não foi suficiente para compensar o retardo no ganho de peso.

O jejum prolongado, acima de 40 horas, reduz o ganho de peso e o consumo de ração aos sete dias de idade, e pode afetar o ganho de peso até 5 semanas de idade^{136,137}. Pires et al.¹²⁹, acrescentaram que, além de impedir o ganho de peso, períodos de jejum de 48 e 72 horas prejudicam o desenvolvimento do fígado e do baço.

Pintos neonatos com acesso imediato ao alimento apresentaram maior quantidade de gema residual no intestino 24 e 48 horas após a eclosão. Já os pintos que passaram por jejum apresentaram maior quantidade de metabólitos da gema no plasma sanguíneo, 48 horas após a eclosão. Isto indica que, na presença de alimento, a principal rota de utilização da gema residual é via pedículo vitelínico para o intestino delgado e, na sua ausência, a via circulatória adquire maior importância¹³¹. De modo semelhante, Bhanja et al.¹³⁷ demonstraram que o

acesso imediato ao alimento pós-eclosão acelerou o processo de absorção da gema residual, e que este foi inversamente proporcional ao tempo de jejum a que a ave foi exposta, sugerindo que a transferência da gema é facilitada pela motilidade intestinal das aves que são alimentadas.

Após a eclosão, as principais mudanças morfológicas associadas ao desenvolvimento do trato gastrointestinal são dependentes do primeiro acesso ao alimento e incluem a diferenciação de enterócitos, definição das criptas e aumento da superfície absorptiva do intestino. Assim, o jejum pós-eclosão reduz a proliferação de enterócitos e o tamanho de vilos, prejudicando a função intestinal por vários dias e o crescimento da ave¹³⁸.

O jejum pós-eclosão de 48 horas pode prejudicar morfometria intestinal, reduzindo a altura de vilos e aumentando a profundidade de cripta no duodeno aos 7 dias de idade¹³⁹. Estudos desenvolvidos por Ganjali et al.¹³⁴ demonstraram que o jejum pós-eclosão reduziu a área de vilos duodenal nos primeiros dias, mas no quarto dia se igualou aos valores obtidos em aves com acesso imediato ao alimento, enquanto a área de vilos do jejuno se manteve menor na primeira semana de vida. Shinde et al.¹⁴⁰ descreveram que o jejum de 24 e de 36 horas reduziram a altura de vilos de forma geral.

Sadrzadeh et al.¹⁴¹ concluíram que a suplementação pós-eclosão de treonina promoveu efeitos benéficos sobre o crescimento intestinal, porém, sem alterar o desempenho dos pintos. Por outro lado, a suplementação de lisina nesta fase prejudicou o desempenho e o desenvolvimento intestinal.

Para serem aproveitados, os carboidratos, lipídios e proteínas que chegam ao intestino devem ser hidrolisados. Durante os últimos estágios do desenvolvimento embrionário e à eclosão, existe certa atividade das enzimas pancreáticas no intestino delgado. O consumo de ração estimula consideravelmente sua secreção, especialmente na primeira semana de vida¹³⁸. Bhanja et al.¹³⁷ apontaram que a habilidade que a ave desenvolve para digerir os nutrientes dos alimentos faz parte do processo de transição da vida embrionária para a vida independente.

Após a eclosão, fígado, pâncreas e intestino delgado se desenvolvem rapidamente, enfatizando a importância destes órgãos para a ave jovem. Maiorka et al.¹⁴² relataram maior peso de fígado, duodeno e íleo e maior comprimento de jejuno e íleo em aves com acesso imediato ao alimento. O peso do íleo também foi positivamente influenciado pelo acesso à água. Bhanja et al.¹³⁷ observaram que aos sete dias de idade, o peso relativo da moela e do proventrículo não foram influenciados pelo jejum de 48 horas; entretanto, o peso de fígado, pâncreas, jejuno e íleo foram maiores em pintos não submetidos ao jejum. Maiorka et al.¹⁴²

comprovaram que o peso do fígado foi afetado pelo jejum, demonstrando que o metabolismo e desenvolvimento deste órgão após a eclosão está provavelmente associado a substratos derivados da absorção intestinal.

O jejum pós-eclosão afeta não somente o desenvolvimento do intestino, mas também do tecido linfóide associado ao intestino (GALT), pois retarda o contato dos antígenos presentes no alimento com o organismo da ave, e a presença do antígeno no trato gastrointestinal é necessária para a diferenciação das células imunes primárias, especialmente linfócitos B. O sistema imune começa a se desenvolver durante a vida embrionária e continua nas primeiras semanas pós-eclosão. O alimento exógeno fornece nutrientes para crescimento e desenvolvimento de órgãos linfóides primários e secundários, possibilita a proliferação e diferenciação celular e a consequente produção de hormônios e imunomoduladores¹³⁸.

Pires et al.¹²⁹ ressaltaram que, após o alojamento, a mucosa intestinal da ave é exposta a uma microbiota diversificada, estimulando o sistema imune. Portanto, a privação de água e alimento por longos períodos após a eclosão afeta o crescimento dos órgãos, parâmetros sanguíneos e o sistema imune dos pintos.

O desenvolvimento muscular inicial também pode ser seriamente comprometido quando o alimento é restrito nos primeiros dias de vida, e pode afetar indiretamente o rendimento de carcaça¹⁴³. O consumo de proteínas após a eclosão estimula as células-satélites, precursoras de células miogênicas, e o desenvolvimento muscular ao longo da vida. O jejum pós-eclosão afeta a atividade mitótica destas células e crescimento dos músculos esqueléticos e do peito¹³⁸. Corroborando estas informações, Moore et al.¹⁴⁴ concluíram que perus privados de alimentação exógena após a eclosão apresentaram menor proliferação de células-satélite relacionadas ao crescimento muscular.

A literatura releva que a expressão gênica também é influenciada pelo jejum pós-eclosão. Higgins et al.¹⁴⁵ relataram alteração na expressão de vários genes no hipotálamo de pintos submetidos ao jejum, com retorno às condições normais após a disponibilização de alimento. Shinde et al.¹⁴⁰ observaram que a falta de alimento por até 36 horas após a eclosão reduziu a expressão de genes relacionados à função intestinal, metabolismo e imunidade.

Assim, diante dos relatos a respeito da atuação do CLA sobre o metabolismo lipídico, qualidade de membranas celulares, desempenho, reprodução e principalmente pelo efeito imunomodulador, e visando agregar conhecimento às informações cientificamente já conhecidas, de forma a colaborar para a compreensão dos mecanismos e efeitos deste ácido graxo sobre o organismo da ave, e possível amenização dos efeitos do jejum pós-eclosão, buscou-se desenvolver o presente estudo, com foco na nutrição de matrizes e durante as fases

iniciais de vida dos pintos, tão significativas para o sucesso de toda a cadeia produtiva avícola.

REFERÊNCIAS

- 1 Riccardi RR, Malheiros EB, Boleli. Efeito do jejum pós-eclosão sobre pintos de corte provenientes de ovos leves e pesados. *Ciênc Anim Bras.* 2009; 10(4):1013-1020.
- 2 Dibner JJ, Knight DC, Kitchell ML, Atwell CA, Downs AC, Ivey FJ. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *J Appl Poult Res.* 1998; 7:425-436.
- 3 Klasing KC. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poult Sci.* 1998; 77:1119-1125.
- 4 Baião NC, Lara LJC. Oil and fat in broiler nutrition. *Rev Bras Ciênc Avic.* 2005; 7(3):129-141.
- 5 Balnave D. The importance of linoleic acid in poultry diets. In: 1981 Recent Advances in Animal Nutrition Conference Proceedings - University of New England, 1981; Australia. Armidale: University of New England; 1981. p. 187-196.
- 6 Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Sci.* 2006; 73:29-41.
- 7 Preuss MB, Rohlfes ALB, Baccar NM, Marquardt L, Oliveira MSR, Schneider RCS. Ácido linoleico conjugado: Uma breve revisão. *Revista Jovens Pesquisadores.* 2013; 3(2):134-146.
- 8 Aires JLF. Ácidos graxos omega 3 e ômega 6: importância no metabolismo e na nutrição [internet]. 2005. [acesso em 2016 out 20]. Disponível em: http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/ag_omega.pdf
- 9 Park Y, Pariza MW. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res Int.* 2007; 40(3):311-323.
- 10 Grimaldi R. Ingestão de ácidos graxos ômega-3 x ômega-6 [internet].2017. [acesso em 2017 out 10]. Disponível em: <https://www.editorastilo.com.br/colunistas/ingestao-de-acidos-graxos-omega-3-x-omega-6/>
- 11 Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr.* 2006; 19(6):761-770.
- 12 Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JÁ, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery.* 1997; 22(5):266-277.
- 13 O'Quinn PR, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD. Conjugated linoleic acid. *Anim Health Res Rev.* 2000; 1(1):35-46.
- 14 Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progr Lip Res.* 2001; 40(4):283-298.
- 15 Kepler CR, Hirons KP, McNeill JJ, Tove SB. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Biol Chem.* 1966; 241(6):1350-1354.

- 16 Silveira MB, Carraro R, Monereo S, Tébar J. Conjugated linoleic acid (CLA) and obesity. *Publ Health Nutr.* 2007; 10(10A):1181-1186.
- 17 Lucatto JN, Mendonça SNTG, Drunkler DA. Conjugated linoleic acid: chemical structure, occurrence and effects on human health. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes.* 2014; 69(3):199-211.
- 18 Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. Lipid metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim Feed Sci Technol.* 2012; 174:1-25.
- 19 Bauman DE, Griinari JM. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Prod Sci.* 2001; 70:15-29.
- 20 Dilzer A, Park Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012; 52(6):488-513.
- 21 Santos-Zago LF, Botelho AP, Oliveira AC. Os efeitos do ácido linoleico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro. *Rev Nutr.* 2008; 21(2):195-221.
- 22 Gonçalves DC. Efeitos do ácido linoleico conjugado sobre parâmetros do metabolismo lipídico alterados pela caquexia. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo – Instituto de Ciências Biomédicas; 2004.
- 23 Steinhart C. Conjugated linoleic acid. The good news about animal fat. *J Chem Educ.* 1996; 73:A302.
- 24 National Cattlemen's Beef Association. Conjugated linoleic acid and dietary beef [internet]. 2007. [acesso em 2016 out 18]. Disponível em: <http://www.beefresearch.org/cmdocs/beefresearch/cla.pdf>
- 25 Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids.* 1997; 32(8):853-858.
- 26 Martin J-C, Valeille K. Conjugated linoleic acid: all the same or to everyone own function? *Repr Nutr Develop.* 2002; 42(6):525-536.
- 27 Belury MA, Moya-Camarena SY, Liu K-L, Vanden Heuvel JP. Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisome-specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *Nutr Biochem.* 1997; 8:579-584.
- 28 Hayek MG, Han SN, Wu D, Watkins BA, Meydani M, Dorsey JL, Smith DE, Meydani SN. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice. *J Nutr.* 1999; 129:32-38.
- 29 Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogen.* 1987; 8(12):1881-1887.
- 30 Goodwin JS, Webb DR. Regulation of the immune response by prostaglandins. *Clin Immunol Immunopathol.* 1980; 15(1):106-122.
- 31 Goodwin JS, Bankhurst AD, Messner RP. Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin. *J Exp Med.* 1977; 146:1719-1734.
- 32 Banni S, Carta G, Angioni E, Murru E, Scanu P, Melis MP, Bauman DE, Fischer SM, Ip C. Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *J Lipid Res.* 2001; 42:1056-1061.

- 33 O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-206.
- 34 Bassaganya-Riera J, Hontecillas-Magarzo R, Bregendahl K, Wannermuehler MJ, Zimmerman DR. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. *J Anim Sci.* 2001; 79(3):714-721.
- 35 Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, Noguchi M, Yamada K. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical and immunoglobulins in rats. *Lipids.* 1998; 33(5):521-527.
- 36 Yamasaki M, Chujo H, Hirao A, Koyanagi N, Okamoto T, Tojo N, Oishi A, Iwata T, Yamauchi-Sato Y, Yamamoto T, Tsutsumi K, Tachibana H, Yamada K. Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C57BL/6J mice by dietary *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid. *J Nutr.* 2003; 133:784-788.
- 37 Bassaganya J, Bregendahl K, Wannermuehler M, Hontecillas R. Effects of feeding conjugated linoleic acid to nursery pigs of low – and high-health status on growth and immune competence. *Swine Research Report* 1998, 4p.
- 38 Stanimirovic M, Petrujkic B, Delic N, Djelic N, Stevanovic J, Stanimirovic Z. Dietary conjugated linoleic acid influences the content of stearic acid in porcine adipose tissue. *Vet Med* 2012, 57(2):92-100.
- 39 Kastelic M, Kompan D. The effect of conjugated linoleic acid on the growth of weaned piglets. *Acta Agric. Slov.* 2006, 2:133-40.
- 40 Ribeiro BRC, Lara LJC, Baião NC, Lopez CAA, FUIZA MA, Cançado SV, Silva GMM. Efeito do nível de ácido linoleico na ração de matrizes pesadas sobre o peso, composição e eclosão dos ovos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007; 59(3):789-796.
- 41 Choi Y-H. Conjugated linoleic acid as a key regulator of performance, lipid metabolism, development, stress and immune functions, and gene expression in chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2009, 22(3):448-58.
- 42 Lee KN, Pariza MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998, 248(3):817-21.
- 43 Hur S-J, Kang G-H, Jeong J-Y, Yang H-S, Ha Y-L, Park G-B, Joo S-T. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid characteristics of egg yolk. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2003, 16(8): 1165-70.
- 44 Araújo LF, Kidd MT, Araújo CSS, Barbosa LCGS. Impacto da nutrição de matrizes pesadas sobre o desenvolvimento da progênie. [internet] 2010. [acesso em 2014 abr 06]. Disponível em: www.avisite.com.br/cet/img/20100607_progenie.pdf
- 45 Leeson S, Summers JD. *Broiler Breeder Production*. Ontário: Nottingham University Press, 2000.
- 46 Vieira SL. Nutrição do embrião: primeiro passo em programas de nutrição do frango de corte. [internet] 2007. Revista eletrônica AveWorld. [acesso em 2014 abr 06]. Disponível em: http://www.aveworld.com.br/aveworld/artigos/post/nutricao-do-embriao-primeiropassoem-programas-de-nutricao-do-frango-de-corte_1380
- 47 Nys Y, Guyot N. Egg formation and chemistry. In: Nys Y, Bain M, Immerseel FV. *Improving the safety and quality of eggs and egg products*. New Delhi: Woodhead Publishing: 2011. p.83-132.

- 48 Rutz F, Anciuti MA, Pan EA. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. In: Macari M, Mendes AA. Manejo de matrizes de corte. 2.ed. Campinas, SP: FACTA, 2005. p. 75-143.
- 49 Souza AVC. Ácidos graxos na gema do ovo. [internet] 2007. [acesso em 2014 abr 04] Disponível em: www.polinutri.com.br/upload/artigo/188.pdf
- 50 Hongyu GQ. Feeding broiler breeders for chick quality is the premise of good start-up of broiler performance [internet]. 2008. [acesso em 2016 ago 15]. Disponível em: <http://www.championfeeds.com/downloads/documentloader.aspx?id=1186>
- 51 Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabela brasileira para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional. Viçosa: Editora UFV; 2011.
- 52 Franco EZ. Efeito do ácido linoleico conjugado na dieta de matrizes de corte e sua progênie [dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2007.
- 53 Roll AARP. Óleo de canola e selênio orgânico para codornas de duplo propósito [dissertação]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2012.
- 54 Murakami AE, Santos TC, Fernandes JIM, Martinez Ac, Bortoluzzi C. Desempenho produtivo e reprodutivo de matriz de frangos com dietas suplementadas com vitamina E, óleo de soja e óleo de peixe. Rev Bras Reprod Anim. 2013; 37(3):285-294.
- 55 Koppenol A, Buyse J, Everaert N, Willems E, Wang Y, Franssens L, Delezie E. Transition of maternal dietary n-3 fatty acids from the yolk to the liver of broiler breeder progeny via the residual yolk sac. Poult Sci. 2014; 00:1-10.
- 56 Zhu C, Jiang ZY, Jiang SQ, Zhou GL, Lin YC, Chen F, Hong P. Maternal energy and protein affect subsequent growth performance, carcass yield, and meat color in Chinese yellow broilers. Poult Sci. 2012; 91:1869-1878.
- 57 Van Emous RA, Kwakkel RP, van Krimpen MM, van den Brand H, Hendriks WH. Effects of growth patterns and dietary protein levels during rearing of broiler breeders on fertility, hatchability, embryonic mortality, and offspring performance. Poult Sci. 2015; 94:681-691.
- 58 Silva LMGS. Níveis de arginina digestível para fêmeas reprodutoras de frangos de corte e sua progênie [tese]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2010.
- 59 Meija L, McDaniel CD, Kidd MT, Lopez K, Corzo A. Evaluation of carryover effects of dietary lysine intake by Cobb 500 broiler breeder hens. Poult Sci. 2013; 92:709-718.
- 60 Ciacciariello M, Tyler NC. The effects of maternal dietary lysine intake on offspring performance to 21 days of age. J Appl Poult Res. 2013; 22:238-244.
- 61 Tsai HL, Chang SKC, Lin YF, Chang SJ. Beneficial effects of maternal vitamin E supplementation on the antioxidant system of the neonate chick brain. Asian-Aust J Anim Sci. 2008; 21(2):225-231.
- 62 Saunders-Blades JL, Korver DR. The effect of maternal vitamin D source on broiler hatching egg quality, hatchability, and progeny bone mineral density and performance. J Appl Poult Res. 2014; 23:773-783.
- 63 Ferreira SR, Murakami AE, Siqueira TGV, Santos JMG, Potença A, Santos TC. Níveis crescentes de parede de levedura sobre a resposta imune celular e perfil hematológico de frangos de corte. Pesq Vet Bras. 2009; 29(9):725-730.

- 64 Almeida JG. Desempenho de frangos de corte influenciado pela idade da matriz, tempo de incubação e manejo pós-eclosão [tese]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2006.
- 65 Santos JS. Idade da matriz sobre a transferência de nutrientes e imunoglobulinas para pintos de corte [tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2015.
- 66 Ulmer-Franco AM, Fasenko GM, O’Dea Christopher EE. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poult Sci.* 2010; 89:2735-2742.
- 67 Santarosa J. Desempenho de pintos oriundos de ovos leves e pesados alimentados com diferentes tipos de ração pré-inicial [dissertação]. Piracicaba: Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2010.
- 68 Noy Y, Uni Z. Early nutritional strategies. *World’s Poult Sci J.* 2010; 66(4):639-646.
- 69 Leitão RA, Leandro NMS, Café MB, Stringhini JH, Pedroso AA, Chaves LS. Inoculação de glicose em ovos embrionados de frango de corte: parâmetros de incubação e desempenho inicial. *Ciênc Anim Bras.* 2008; 9(4):847-855.
- 70 Leitão RA, Leandro NMS, Stringhini JH, Café MB, Matos MS, Andrade MA. Inoculação de maltose e/ou sacarose em ovos leves embrionados. *Ciênc Anim Bras.* 2014; 15(1):55-63.
- 71 Campos AMA, Rostagno HS, Gomes PC, Silva EA, Albino LFT, Nogueira ET. Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. *Rev Bras Zootec.* 2011; 40(8):1712-1717.
- 72 Pedroso AA, Chaves LS, Martinez KL, Leandro NMS, Café MB, Stringhini JH. Inoculação de nutrientes em ovos de matrizes pesadas. *Rev Bras Zootec.* 2006, 35(5):2018-2026.
- 73 Bauer R, Plieschnig JA, Finkes T, Riegler B, Hermann M, Schneider WJ. The developing chicken yolk sac acquires nutrient transport competence by an orchestrated differentiation process of its endodermal epithelial cells. *J Biol Chem.* 2013; 288(2):1088-1098.
- 74 Buhr RJ, Northcutt JK, Richardson LJ, Cox NA, Fairchild BD. Incidence of unabsorbed yolk sacs in broilers, broiler breeder roosters, white leghorn hens, and Athens-Canadian rambred control broilers. *Poult Sci.* 2006; 85:1294-1297.
- 75 Yadgary L, Wong EA, Uni Z. Temporal transcriptome analysis of the chicken embryo yolk sac. *BMC Genom.* 2014; 15:690-705.
- 76 Everaert N, Decuyper E. Fisiologia do embrião. In: Macari M, Gonzales E, Patrício IS, Nääs IA, Martins PC. Manejo da incubação. 3.ed. Jaboticabal: FACTA; 2013. 31-47.
- 77 Starck JM. Structural variants and invariants in avian embryonic and postnatal development. In: Starck JM, Ricklefs RE. Avian growth and development. New York: Oxford University Press, 1998. p.59-88.
- 78 Yadgary L, Kedar O, Adepeju O, Uni Z. Changes in yolk sac membrane absorptive area and fat digestion during chick embryonic development. *Poult Sci.* 2013; 92:1634-1640.
- 79 Speier JS, Yadgary L, Uni Z, Wong EA. Gene expression of nutrient transporters and digestive enzymes in the yolk sac membrane and small intestine of the developing embryonic chick. *Poult Sci.* 2012, 91:1941-1949.
- 80 Yadgary L, Yair R, Uni Z. The chick embryo yolk sac membrane expresses nutrient transporter and digestive enzyme genes. *Poult Sci.* 2011; 90:410-416.

- 81 Guedes PT, Oliveira BCEPD, Manso PPA, Caputo LFG, Cotta-Pereira G, Pelajo-Machado M. Histological analyses demonstrate the temporary contribution of yolk sac, liver, and bone marrow to hematopoiesis during chicken development. *PLOS ONE* 2014; 9(3):1-8.
- 82 Moran Jr ET. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poult Sci.* 2007; 86(5):1043-1049.
- 83 Juurlink BHJ, Gibson MA. Histogenesis of the yolk sac in the chick. *Canad J Zool.* 1973; 51(5):509-519.
- 84 Nechaeva MV, Turpaev TM. Rhythmic contractions in chick amnio-yolk sac and snake amnion during embryogenesis. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2002; 131(4):861-170.
- 85 Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. Hen egg yolk antibodies (igY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 2009; 13(2): 295-308.
- 86 Soares R. Passive immunity: Part 1. Hatchery Expertise Online: Ceva Animal Health Asia Pacific, n.18, 2008, 4p.
- 87 Cherian G. Essential fatty acids and early life programming in meat-type birds. *World's Poult Sci J.* 2011; 67(4):599-614.
- 94 Pescatore T, Jacob J. Development of the chick [internet]. 2012. [acesso em 2016 ago 12]. Disponível em: <http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/ASC/ASC195/ASC195.pdf>
- 89 Wishart GJ, Leakey JEA, Dutton GJ. Differential effects of hormones on precocious yolk sac retraction in chick embryos following administration by a new technique. *Gen Compar Endocrinol.* 1977, 31(3):373-380.
- 90 Decuypere E, Willemsen H. Physiological control mechanisms during late embryogenesis and during pipping and hatching [internet]. 2011. [acesso em 2015 jan 15]. Disponível em: http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2011/Article-no37-uly11.pdf
- 91 97 Yadgary L, Uni Z. Yolk sac carbohydrate levels and gene expression. Of key gluconeogenic and glycogenic enzymes during chick embryonic development. *Poult Sci.* 2012; 91:444-453.
- 92 Panda AK, Sunder GS, Rama Rao SV, Raju MVLN. Early nutrition enhances growth and speeds up gut development. *World Poult.* 2006; 22(4):15-16.
- 93 Esteban S, Rayó JM, Moreno M, Sastre M, Rial RV, Tur JA. A role played by the viteline diverticulum in the yolk sac resorption in young post-hatched chickens. *J Comp Physiol B.* 1991; 160:645-648.
- 94 Ding ST, Lilburn MS. Characterization of changes in yolk sac and liver lipids during embryonic and early posthatch development of turkey poults. *Poult Sci.* 1996; 75:478-483.
- 95 Yang HM, Wang ZY, Zhu XH et al. Effects of starter feeding time on yolk sac absorption of new hatched goslings. *J Anim Plan Sci* 2009; 4(3):399-405.
- 96 Yang HM, Wang ZY, Shi SR et al. Effect of early feeding on the yolk nutrient utilization by goslings after hatching. *Arch Geflügelk* 2008; 72(6):264-268.
- 97 Muniz EC, Diniz GS. Vacinação em frangos de corte. In: Macari M, Mendes AA, Menten JF, Naas IA. *Produção de frangos de corte.* 2.ed. Campinas: FACTA, 2014. p. 321-344.

- 98 Pendl H, Tzard I. Immunology. In: Speer BL. Current therapy in avian medicine and surgery. California: ELSEVIER, 2016. p.400-432.
- 99 Elgert KD. Immunology – Understanding the imune system. 2.ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2009. 726p.
- 100 Schmidt RE, Reavill DR, Phalen DN. Pathology of pet and aviary birds. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2003. 234p.
- 101 Zuanaze MAF. Sistema imune das aves – parte II. [internet] 2003. [acesso em 2014 abr 03]. Disponível em: <http://file.biovet.com.br/Informativo/Avic/12.pdf>
- 102 Härtle S, Magor KE, Göbel TW, Davison F, Kaspers B. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Schat KA, Kaspers B, Kaiser P, editors. Avian immunology. 2. Amsterdam: Elsevier; 2014. p. 108.
- 103 Mayer G. Immunoglobulins: structure and functions [internet]. 2008. [acesso em 2014 abr 04]. Disponível em: <http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/igstruct2000.htm>
- 104 Schroeder Jr HW, Cavacini L. Structure and functions of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125(202):41-52.
- 105 Mesquita Junior D, Araújo JA, Catelan TTT, Souza AWS, Cruvinel WM, Andrade LEC, Silva NP. Sistema imunitário – parte II: Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. Rev Bras Reumatol. 2010; 50(5):552-580.
- 106 Canhas I. Anticorpos [internet]. 2011 [acesso em 2017 set 30]. Disponível em: <http://www.infoescola.com/sistema-imunologico/anticorpos/>
- 107 Tizard I. Avian immune responses: a brief review. Avian Dis. 1979; 23(2):290-298.
- 108 Almeida JM, Stefani LCM, Loyola W, Backes RG, Biffi CP, Neves GB. Importância da imunidade nas aves. In: Simpósio de sustentabilidade e ciência animal. 2010. 2. Anais...São Paulo-SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, 2010.
- 109 Leslie GA, Clem LW. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. III. Immunoglobulins of the chicken. J Exp Med.1969; 130(6):1337-52.
- 110 Davison F, Kaspers B, Schat KA. Avian Immunology. London: Academic Press, 2008. 481p.
- 111 Oláh I, Vervelde L. In: Davison F, Kaspers B, Schat KA. Avian Immunology. London: Academic Press, 2008. 481p.
- 112 Szabó C. Transport of IgY from egg-yolk to the chicken embryo. J Microbiol, Biotechnol Food Sci. 2012; 2(3):612-620.
- 113 Hamal KR, Burgess SC, Pevzner IY, Erf GF. Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. Poult Sci. 2006; 85:1364-1372.
- 114 Rose ME, Orlans EO, Buttress N. Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation on yolk and white. Eur J Immunol. 4(7):521-523.
- 115 Hatta H, Ozeki M, Tsuda K. Egg yolk antibody IgY and its application. In: Yamamoto T, Juneja LR, Hatta H, Kim M.M. Hen eggs: Their basic and applied science. Danvers: CRC Press LLC; 1997. p. 151-205.

- 116 Patterson R, Younger JS, Weigle WO, Dixon FJ. The metabolism of serum proteins in the hen and chick and secretion of serum proteins by the ovary of the hen. *J Gen Physiol.* 1962; 45:501-513.
- 117 Kaspers B, Bondl H, Göbel TW. Transfer of IgA from albumen into the yolk sac during embryonic development in the chicken. *Zentralbl Vet A.* 1996, 43(4):225-31.
- 118 Santin E. Modulando o sistema imune das aves para incrementar produtividade [internet]. 2009. [acesso em 2016 ago 10]. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/modulando-sistema-imune-aves-t212/165-p0.htm>
- 119 Benčina D, Narat M, Bidovec A, Zorman-Rojs O. Transfer of maternal immunoglobulins and antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* to the allantoic and amniotic fluid of chicken embryos. *Avian Pathol.* 2005; 34(6):463-472.
- 120 Rho JH, Kim YB, Han CK, Lee NH, Sung KS, Shon DH. The effect of age of hen and vaccination on anti-*Streptococcus mutans* specific IgY level in eggs. *Korean J Anim Sci.* 1999; 41(5):563-574.
- 121 Sales TS, Herval EFG, César AER, Ramos I, Batinga TB, Silva PS, Maia PCC, Fernandes L. títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em três diferentes sistemas de criação avícola na região de Feira de Santana – Bahia. *Rev Bras Saúde Prod Anim.* 2007; 8(4):386-393.
- 122 Andrade MA. Fatores que influenciam na vacinação de Newcastle em pintos de linhagem comercial. I – Influência de anticorpos maternos. *Anais Esc Agronom Vet.* 1988; 18(1):97-107.
- 123 Tessari ENC, Cardoso ALSP, Castro AGM, Kanashiro AMI, Silvestrini Junior P. Avaliação sorológica comparativa entre dois esquemas de vacinação contra D.I.B. (doença infecciosa da bursa). *Arq Inst Biol.* 2000; 67(2):161-165.
- 124 Michell BC. Doença de gumboro: Influência dos anticorpos maternos sobre as vacinações in ovo, injetável e na água de bebida e desempenho de frangos de corte. [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais – Escola de Veterinária; 2007.
- 125 Kindlein G. A influência da alimentação com diferentes níveis de vitamina E e selênio sobre a produção de imunoglobulina Y (IgY) no soro de poedeiras leves vacinadas contra *Escherichia coli* e encefalomielite aviária. [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2002.
- 126 Grindstaff JL, Demas GE, Ketterson ED. Diet quality affects egg size and number but does not reduce maternal antibody transmission in Japanese quail *Coturnix japonica*. *J Anim Ecol.* 2005, 74:1051-1058.
- 127 Li X, Nakano T, Sunwoo HH, Paek BH, Chae HS, Sim JS. Effects of egg and yolk weights on yolk antibody (IgY) production in laying chickens. *Poult Sci.* 1998; 77:266-270.
- 128 Batal AB, Parsons CM. Effect of fasting versus feeding oasis after hatching on nutriente utilization in chicks. *Poult Sci.* 2002; 81:853-859.
- 129 Pires DL, Malheiros EB, Boleli IC. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. *Braz J Poult Sci.* 2007; 9(4):221-228.
- 130 Almeida JG, Dahlke F, Maiorka A, Macari M, Furlan RL. Efeito do jejum no intervalo entre o nascimento e o alojamento sobre o desempenho de frangos de corte provenientes de matrizes de diferentes idades. *Arch Vet Sci.* 2006; 11(2):50-54.

- 131 Noy Y, Sklan D. Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. *Poult Sci.* 2001; 80:1490-1495.
- 132 Vieira SL, Pophal S. Nutrição pós-eclosão de frangos de corte. *Rev Bras Cienc Avic.* 2000; 2(3):189-199.
- 133 Uni Z, Ganot S, Sklan D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult Sci.* 1998; 77:75-82.
- 134 Ganjali H, Raji AR, Zarghi H. Effect of post hatch delayed access to feed on performance, GIT physical and histological development and yolk absorption in Young broiler chicks. *Biomed Pharmacol J.* 2015; 8(2):945-955.
- 135 Hakim MR, Syamsuriadi B, Banong dan W Pakiding S. Respon berat badan ayam pedaging yang dipuaskan setelah menetas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan.* 2014; 3(3):126-132.
- 136 Teixeira ENM, Silva JHV, Costa FGP, Martins TDD, Givisiez PEN, Furtado DA. Efeito do tempo de jejum pós-eclosão, valores energéticos e inclusão do ovo desidratado em dietas pré-iniciais e iniciais de pintos de corte. *Rev Bras Zootec.* 2009; 38(2):314-322.
- 137 Bhanja SK, Anjali Devi C, Panda AK, Shyan Sunder G. Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci.* 2009; 22(8):1174-1179.
- 138 Swami V. Importance of post hatch chick feeding [internet]. 2015 [acesso em 2016 set 12]. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/importance-post-hatch-chick-feeding-vijay-swami>
- 139 Tabedian AS, Samie A, Pourreza J, Sadeghi GH. Effect of fasting or post-hatch diet's type on chick development. *J Anim Vet Advances.* 2010; 9(2):406-413.
- 140 Shinde AS, Goel A, Mehra M, Rokade J, Bhadauria P, Mandal AB, Bhana SK. Delayed post hatch feeding affects performance, intestinal morphology and expression. Pattern of nutrient transporter genes in egg type chickens. *J Nutr Food Sci.* 2015; 5(3):11p.
- 141 Sadrzadeh A, Hassanpour H, Mehraei Hamze-Kolaei MH, Farhadniya PF, Ehsan MR, Tohidi Far SS. *Bulg J Vet Med.* 2015; 18(4):294-303.
- 142 Maiorka A, Santin E, Dahlke F, Boleli IC, Furlan RL, Macari M. Deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *J Appl Poult Res.* 2003; 12:483-492.
- 143 Tabeidian SA, Samie A, Pourreza J, Sadeghi GH. Effect of fasting or post-hatch diet's type on intestinal morphology in broilers. *Proceeding of International Conference on Life Science and Technology IPCBEE*, 3: 69-74, 2011.
- 144 Moore DT, Ferket PR, Mozdziak PE. Early post-hatch fasting induces satellite cell self-renewal. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2005; 142(3):331-339.
- 145 Higgins SE, Ellestad LE, Trakooljul N, McCarthy F, Saliba J, Cogburn LA, Porter TE. Transcriptional and pathway analysis in the hypothalamus of newly hatched chicks during fasting and delayed feeding. *BMC Genom.* 2010; 11: 162-179.

CAPÍTULO 2 - QUALIDADE DE OVOS E COMPOSIÇÃO DO SACO VITELÍNICO DE EMBRIÕES E PINTOS NEONATOS ORIUNDOS DE MATRIZES DE CORTE SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade e a composição de ovos e sacos vitelínicos (SV) da progênie de matrizes de corte suplementadas com CLA. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos (0 ou 0,025% de CLA, fornecidos por 26 dias). Ao final da suplementação, avaliou-se a qualidade física e a composição dos ovos, sendo posteriormente 270 ovos por tratamento distribuídos em duas incubadoras. Verificou-se o peso do SV dos embriões aos 18 dias e dos neonatos, aplicando-se o delineamento em blocos casualizados, determinados pela incubadora utilizada. Determinou-se o perfil de ácidos graxos (AG) da ração, gema e SV. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste F ou de Mann Whitney, pelo software R ($P < 0,05$). O CLA aumentou o peso da gema e a unidade Haugh, e diminuiu a espessura de casca. Nos albumens, matéria seca (MS) e proteína na matéria natural (MN) foram maiores sem suplementação. A matéria mineral, na MN e na MS, foi maior com suplementação. No SV de embriões, o CLA elevou a MS e o extrato etéreo na MN e na MS, e reduziu a proteína na MS. O CLA reduziu proteína na MS e na MN do SV de neonatos. A suplementação modificou o perfil de AG das rações, gemas e SV, com destaque para aumento da relação AG saturados: insaturados no SV de embriões e neonatos. Conclui-se que o CLA altera a qualidade dos ovos, a composição dos ovos e SV, e o perfil de AG da ração, gema e SV.

Palavras-Chave: Albúmen, gema residual, ômega-6, perfil de ácidos graxos.

**CHAPTER 2 - EGG QUALITY AND COMPOSITION OF YOLK SAC FROM
EMBRYOS AND NEWLY HATCHED CHICKS FROM
BROILER BREEDERS SUPPLEMENTED WITH
CONJUGATED LINOLEIC ACID**

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the quality and composition of eggs and yolk sacs (YS) of the progeny from broiler breeders fed CLA. A completely randomized design was adopted, with two treatments (0 or 0,025% of CLA, supplied for 26 days). At the end of supplementation, the physical quality and composition of the eggs were evaluated, and 270 eggs per treatment were distributed in two hatchers. The YS weight of 18 days-embryos and newly hatched chicks were evaluated, applying the randomized block design, determined by the chosen hatcher. The fatty acid (FA) profile of the diets, yolks and YS were evaluated. Data were submitted to analysis of variance and F or Mann Whitney test, by software R ($P < 0.05\%$). CLA increased the weight of the yolk and the Haugh unit, and reduced shell thickness. In the albumen, the percentages of dry matter (DM) and protein in natural matter (NM) were higher without supplementation. Mineral matter in NM and in DM was higher with supplementation. In embryos YS, CLA increased DM and ether extract in NM and DM, and reduced protein in DM. Supplementation reduced protein in the newly hatched chicks YS, in DM and NM. The CLA modified the FA profile of the diets, yolks and YS, with emphasis on increase in saturated: unsaturated FA ratio in the YS of embryos and newly hatched. In conclusion, the CLA changes the quality of the eggs, the composition of the eggs and YS, and the FA profile of the diets, yolks and YS.

Keywords: Albumen, fatty acids profile, ômega-6, residual yolk.

INTRODUÇÃO

O ácido linoleico conjugado (CLA) abrange o grupo de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, sendo, portanto, utilizado como um termo coletivo, pois designa todos os isômeros conhecidos, que apresentam duplas ligações com um carbono simples entre as mesmas, ao invés da separação por um radical orgânico equivalente¹.

O CLA é capaz de proporcionar inúmeros benefícios à saúde, tanto em seres humanos quanto em animais. Além disso, em aves, também podem ser observados efeitos no desempenho, na qualidade da carne e dos ovos e no perfil lipídico das gemas.

Sabe-se que o CLA possui a habilidade de reduzir a lipogênese em tecidos adiposos, confirmada por testes *in vitro* e *in vivo*². Dietas contendo CLA podem resultar em redução da atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase³, aumentando a proporção de ácidos graxos saturados em relação à de insaturados na gema, o que pode influenciar as características de qualidade dos ovos⁴.

Outra possível e importante consequência da alteração da relação entre ácidos graxos saturados e insaturados é morte embrionária⁵. Durante essa fase, o saco vitelínico fornece vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais e fosfolipídios que são utilizados para a formação de tecidos, além de ser a única fonte energética disponível para o embrião⁶. Portanto, mudanças no seu conteúdo prejudicar o embrião em desenvolvimento.

A importância do saco vitelínico, internalizado para a cavidade abdominal entre o 19º e o 20º dia de incubação⁷, não reside apenas no valor nutricional, mas também no papel imunológico que representa, uma vez que as suas reservas possuem imunoglobulinas. As imunoglobulinas são proteínas de alto valor biológico e protegem a ave jovem nos primeiros dias de vida ; entretanto, são utilizadas para o atendimento da demanda nutricional do neonato caso haja atraso no fornecimento de ração após a eclosão⁸. O CLA pode estimular a síntese de imunoglobulinas que serão transferidas da matriz para o ovo⁹ e, por esse motivo, influenciar o teor proteico dos ovos e sacos vitelínicos.

O fornecimento de CLA às matrizes também pode modificar a composição de outros nutrientes presentes no ovo. Os minerais encontrados na gema podem sofrer variação percentual devido a mudanças estruturais nas membranas do ovo que permitem a troca de nutrientes entre albúmen e gema. Pelo mesmo motivo, pode haver alteração no teor de água encontrado nessas estruturas^{10,11}.

Considerando-se o possível efeito do CLA sobre a composição dos ovos e de sacos vitelínicos, objetivou-se avaliar a qualidade física dos ovos, o peso do saco vitelínico e a composição bromatológica da gema, do albúmen, e dos sacos vitelínicos de embriões aos 18

dias de incubação e de pintos neonatos, produzidos por matrizes suplementadas com ácido linoleico conjugado.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa que abrange o presente estudo foi aprovado pela CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais – da Universidade Federal de Goiás, sob o número de protocolo 011/2015.

Foram acompanhados dois lotes comerciais de matrizes de frango de corte (*Gallus gallus*), ambos com 58 semanas de idade e pertencentes à linhagem Cobb 500®. Os lotes receberam dieta comercial, porém, um deles foi suplementado com 0,042% de um produto comercial (Lutalin® - BASF), de acordo com as recomendações do fabricante, garantindo a suplementação de 0,025% de CLA (*trans*-10, *cis*-12) na dieta das matrizes, por um período de 26 dias. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos (dieta controle e dieta contendo 0,025% de CLA). A composição das dietas experimentais está apresentada na Tabela 1.

Considerando que a formação da gema leva aproximadamente 21 dias, as aves foram suplementadas por 26 dias, período suficiente para a indução de modificações na gema por meio da dieta. Após esse período, os ovos foram coletados no dia da postura e passaram por sanitização seca, sendo fumigados com paraformol. Foram selecionados aleatoriamente 30 ovos por lote para avaliação da qualidade física e determinação da composição bromatológica das gemas e albumens.

Avaliaram-se as seguintes variáveis indicativas da qualidade física dos ovos: gravidade específica, peso do ovo, albúmen, gema e casca, porcentagens de albúmen, gema e casca, espessura de casca, cor de gema e unidade Haugh. Cada ovo avaliado foi considerado uma repetição, totalizando, portanto, 30 repetições.

Os ovos foram pesados em balança digital e, posteriormente, mergulhados em uma série de soluções salinas contendo diferentes concentrações, para determinação da gravidade específica, variando entre 1,050 e 1,100.

Em seguida, os ovos foram quebrados sobre placas de vidro. Com um paquímetro digital, verificou-se a altura do albúmen em dois diferentes pontos, para obtenção de uma média e utilização no cálculo da unidade Haugh.

As cascas foram secas em estufa para posterior pesagem e avaliação da espessura, verificada em três diferentes pontos, equidistantes, para obtenção da média. Após serem cuidadosamente separadas, as gemas foram pesadas individualmente, em balança digital, e

sua cor foi avaliada com o leque colorimétrico (DSM). O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo e os pesos da gema e da casca. A partir dos dados obtidos, foram calculadas as porcentagens de gema, albúmen e casca.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural

INGREDIENTES	Controle	CLA
Milho	68,17	68,12
Farelo de soja	17,41	17,42
Calcário	7,87	7,87
Caulim	4,00	4,00
Farinha de carne e ossos	1,50	1,50
Sal comum	0,22	0,22
Fosfato bicálcico	0,20	0,20
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15
Suplemento mineral ¹	0,15	0,15
Suplemento vitamínico ²	0,10	0,10
Colina	0,08	0,08
DL-metionina	0,08	0,08
L-treonina	0,03	0,03
Antioxidantes ³	0,01	0,01
CLA ⁴	-	0,04
Enzima ⁵	0,003	0,003
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2736	2734
Proteína bruta (%)	13,90	13,90
Ácido linoleico (%)	2,50	2,57
Lisina digestível (%)	0,60	0,60
Metionina + cistina (%)	0,47	0,46
Treonina digestível (%)	0,50	0,50
Cálcio (%)	3,29	3,29
Fósforo disponível (%)	0,20	0,20
Sódio (%)	0,34	0,34

¹Suplemento mineral - níveis de garantia por quilograma de produto: Manganês 80.000 mg, Zinco 70.000 mg, Ferro 40.000 mg, Cobre 8.000 mg, Iodo 1.000 mg; ²Suplemento vitamínico - níveis de garantia por quilograma do produto: vitamina E 110.000 mg, vitamina A 14.000 UI, vitamina D3 3.000 UI, vitamina K3 6.000 mg, vitamina B1 3.000 mg, vitamina B2 12.000 mg, vitamina B6 6.000 mg, vitamina B12 30 mg, niacina 60.000 mg, ácido pantotênico 20.000 mg, ácido fólico 4.000 mg, biotina 300 mg; ³Etoxiqum 66,6%, BHA 99% e Ácido cítrico 99,5%. ⁴CLA (Lutalin®). ⁵Enzima fitase (Natuphos® 10.000).

Para a determinação da composição bromatológica da gema e do albúmen, cada componente foi agrupado em seis *pools* de cinco unidades, sendo cada *pool* considerado uma repetição. Avaliaram-se as seguintes variáveis indicativas da composição bromatológica dos ovos: porcentagem de matéria seca (MS) de gema e albúmen, porcentagem de matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) tanto na MS quanto na matéria natural (MN) de gema e albúmen, conforme a metodologia descrita por Silva e Queiroz¹².

Para a avaliação dos sacos vitelínicos, após o período de suplementação das matrizes foram escolhidos aleatoriamente 410 ovos por lote, dentre os quais foram

selecionados 270 ovos por lote para incubação, totalizando 540 ovos, considerando-se a integridade da casca, a apresentação de forma elíptica, e o peso médio de $70,30\text{g} \pm 4,83\text{g}$.

Os ovos foram armazenados a 20°C por 66 horas, e em seguida, pré-aquecidos a 26°C por 6 horas, completando 72 horas de armazenamento antes de serem incubados.

Após serem identificados de acordo com os tratamentos, os ovos foram distribuídos em duas incubadoras (modelo MA01DA – Gaiolas Almeida, Aparecida de Goiânia - GO) com capacidade para 270 ovos, com três bandejas cada e capacidade de acomodar 90 ovos por bandeja, sendo a metade (45 ovos) preenchida por cada tratamento. As incubadoras possuíam sistema para viragem automática dos ovos a cada duas horas e painel para controle da temperatura e monitoramento da umidade relativa. Os ovos foram mantidos a temperatura constante de $37,7^{\circ}\text{C}$ e umidade por volta de 60%, verificadas constantemente com o auxílio de termohigrômetros.

No 18º dia de incubação, durante a transferência para as bandejas de eclosão, os ovos foram pesados, acondicionados em sacos de filó (12 x 20 cm), possibilitando identificar após a eclosão a ave correspondente a cada ovo. Nesta ocasião, foram selecionados ao acaso cinco ovos de cada tratamento, para realização de necropsia do embrião e avaliação do saco vitelínico.

Tanto os embriões quanto os pintos neonatos foram pesados e os sacos vitelínicos foram extraídos e pesados, para determinação de seus pesos absolutos e relativos. O peso relativo foi calculado de acordo com a equação: $\text{peso relativo} = (\text{peso absoluto} \times 100) / \text{peso do indivíduo}$. Para a avaliação do peso do saco vitelínico de embriões e neonatos, adotou-se o delineamento em blocos casualizados, considerando cada incubadora um bloco, e foram consideradas cinco repetições para os embriões e 40 para os pintos neonatos.

Os conteúdos dos sacos vitelínicos foram utilizados para compor cinco *pools* por tratamento, de acordo com a idade, para avaliação das seguintes variáveis: porcentagem de matéria seca (MS), porcentagem de matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) tanto na MS quanto na matéria natural (MN), conforme a metodologia descrita por Silva e Queiroz¹². Cada *pool* foi considerado uma repetição.

Para a avaliação do perfil de ácidos graxos, foram consideradas três repetições. As gemas dos ovos e os sacos vitelínicos foram armazenados a -20°C , posteriormente liofilizados e encaminhados a um laboratório comercial juntamente com amostras de ração. O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa, com extração de lipídios totais por meio de hidrólise, segundo os métodos descritos pela AOAC¹³.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo que, para a variável cor de gema, aplicou-se o teste de Mann Whitney. Foi utilizado o software R¹⁴, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito da suplementação de CLA na dieta de matrizes de corte ($P>0,05$) sobre o peso de ovo, casca e albúmen, porcentagem de albúmen, gema e casca, cor da gema e gravidade específica dos ovos (Tabela 2). Contudo, os valores de peso da gema ($P=0,009$) e unidade Haugh ($P=0,001$) foram maiores para o tratamento em que as aves foram suplementadas com CLA.

No presente estudo, das variáveis relacionadas à qualidade da gema, apenas seu peso foi alterado em decorrência dos tratamentos ($P=0,009$), embora essa alteração também fosse esperada. Em decorrência da postura, é normal que o peso total e o conteúdo de lipídios do fígado da ave aumentem, acompanhados pelo aumento plasmático de triacilglicerol – rico em VLDL, um dos principais componentes da gema¹⁵. Portanto, a estocagem hepática de lipídios favorece a formação da gema do ovo. Cherian e Goeger¹⁶ reportaram que poedeiras alimentadas com CLA apresentaram aumento no número de vacúolos lipídicos e lipídios totais no fígado, e maior infiltração lipídica em hepatócitos, permitindo-nos inferir que haja possível efeito sobre a formação das gemas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Yin et al.¹⁷ que reportaram maior peso de gema em ovos de galinhas suplementadas com 5% de CLA em substituição ao óleo de soja, quando comparado à dieta controle. Para Choi¹⁸, o CLA parece alterar a proporção de gema no ovo, assim como confirmado nas pesquisas conduzidas por Ahn et al.¹¹ que apontaram maior porcentagem de gema em ovos de galinhas suplementadas com diferentes níveis de CLA.

Ao contrário do que foi observado, Chamruspollert e Sell¹⁹ verificaram redução no peso de gema de ovos produzidos por matrizes suplementadas com 5% de CLA em substituição ao óleo de soja, durante 26 dias, enquanto Shang et al.¹⁰ reportaram menor peso de ovo, gema, albúmen e casca, com aumento da porcentagem de albúmen, em decorrência da suplementação com níveis crescentes de CLA.

Por se tratar de ovos de matrizes, destinados à incubação, suas características sensoriais, com exceção da cor da gema, não foram avaliadas, todavia, relatos encontrados na literatura supõem a capacidade do CLA em alterar atributos como aroma e sabor, uma vez que

há modificação da textura e constituintes da gema, e também a aceitabilidade dos ovos²⁰, que poderia ser prejudicada.

A espessura de casca ($P < 0,001$) foi maior para o tratamento controle, diferente do observado por Kim et al.²¹ e Suksombat et al.²², que não encontraram efeito do CLA na dieta de poedeiras sobre a qualidade da casca.

TABELA 2 - Qualidade física dos ovos de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso da casca (g)	5,97	6,07	0,505	9,82
Peso do ovo (g)	70,68	72,93	0,082	6,87
Peso da gema (g)	21,26 b	22,49 a	0,009	7,73
Peso do albúmen (g)	43,22	44,06	0,415	8,70
Espessura de casca (mm)	0,382 a	0,353 b	<0,001	8,11
Porcentagem de gema (%)	30,24	31,00	0,151	6,33
Porcentagem de albúmen (%)	61,27	60,64	0,265	3,37
Porcentagem de casca (%)	8,46	8,37	0,649	8,40
Cor de gema*	7,3	7,2	0,679	14,61
Gravidade específica	1,084	1,083	0,807	0,49
Unidade Haugh	71,57 b	79,78 a	0,001	12,51

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P < 0,05$).

*Teste de Mann-Whitney a 5% de probabilidade.

Ahn et al.¹¹ propuseram que alterações na composição lipídica da membrana vitelina, em decorrência do uso do CLA, poderiam aumentar a troca de íons entre gema e albúmen, com aumento do conteúdo de água na gema, que seria proveniente do albúmen. É possível que, por esse motivo, tenham ocorrido alterações estruturais no albúmen, capazes de influenciar os valores de unidade Haugh.

As porcentagens de matéria seca e de proteína na matéria natural foram maiores ($P = 0,051$ e $< 0,001$, respectivamente) quando as aves não foram suplementadas com o CLA (Tabela 3). A migração de água do albúmen para a gema, resultante das modificações lipídicas na membrana vitelínica causadas pelo CLA poderia explicar os menores valores de matéria seca e maior diluição da proteína no albúmen para aves suplementadas com CLA.

Por outro lado, a matéria mineral, tanto na matéria natural ($P < 0,001$) quanto na matéria seca ($P = 0,001$), foi maior nas amostras dos albumens dos ovos produzidos pelas matrizes suplementadas. Aydin et al.²³ sugeriram que a alteração na composição de ácidos graxos da membrana vitelina, promovida pelo CLA, aumenta sua permeabilidade de tal forma que os minerais se movem entre albúmen e gema contra seus gradientes de concentração.

Contudo, não foi observada alteração da matéria mineral ou de qualquer outra variável relacionada à composição bromatológica das gemas ($P>0,05$) no presente estudo (Tabela 4).

TABELA 3 – Composição bromatológica do albúmen de ovos provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Matéria seca	11,62 a	11,29 b	0,051	2,23
Matéria mineral (MN)	0,450 b	0,593 a	<0,001	9,69
Matéria mineral (MS)	3,87 b	5,23 a	0,001	11,14
Extrato etéreo (MN)	0,162	0,156	0,603	12,04
Extrato etéreo (MS)	1,36	1,38	0,809	11,84
Proteína (MN)	9,46 a	8,98 b	<0,001	0,80
Proteína (MS)	79,51	79,54	0,923	0,81

MS – Matéria seca; MN – Matéria natural.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

TABELA 4 -Composição bromatológica da gema de ovos provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Matéria seca	55,29	55,28	0,950	0,52
Matéria mineral (MN)	1,97	1,96	0,721	2,40
Matéria mineral (MS)	3,53	3,54	0,784	2,03
Extrato etéreo (MN)	30,12	30,34	0,373	1,36
Extrato etéreo (MS)	54,53	54,84	0,521	1,51
Proteína (MN)	16,20	16,14	0,589	1,31
Proteína (MS)	29,40	29,06	0,154	1,31

MS – Matéria seca; MN – Matéria natural.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Shang et al.¹⁰ não observaram alteração na concentração de minerais no albúmen de ovos de poedeiras suplementadas com CLA, embora, nas gemas, essa suplementação tenha levado à redução da concentração de cálcio, e aumento do potássio e magnésio. Os autores também associaram essas mudanças à possível alteração da permeabilidade da membrana vitelina quando da suplementação com CLA, que se faz mais evidente quando os ovos são armazenados sob refrigeração.

No momento da eclosão, a gema residual corresponde a aproximadamente 20% do peso corporal, contendo de 20 a 40% de lipídios e 20 a 25% de proteínas²⁴. Conforme expressos nas Tabelas 5 e 6, os pesos absoluto e relativo de saco vitelínico do embrião e do pinto neonato não foram influenciados pelos tratamentos ($P>0,05$). Em oposição ao presente

estudo, Leone et al.²⁵ observaram maior peso de saco vitelínico em embriões provenientes de matrizes suplementadas com CLA.

Os sacos vitelínicos dos embriões oriundos de matrizes suplementadas com o CLA apresentaram maiores teores de matéria seca ($P<0,001$) e de extrato etéreo na matéria natural ($P<0,001$) e na matéria seca ($P=0,007$) (Tabela 5). A gema, fonte majoritária de nutrientes para o desenvolvimento embrionário, contém macromoléculas complexas, incluindo lipídios, proteínas, vitaminas, minerais e outros micronutrientes essenciais²⁶, que compõem a matéria seca de seu conteúdo. O maior teor de matéria seca implica em maior concentração de nutrientes no conteúdo da gema residual e pode significar que a ave apresenta maior eficiência em termos de exigência de nutrientes para o crescimento embrionário. De fato, a capacidade do CLA em melhorar a eficiência alimentar em diferentes espécies animais é reportada na literatura^{27,28}.

TABELA 5 – Peso e composição bromatológica do saco vitelínico de embriões aos 18 dias de incubação, provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso (g)	19,56	18,18	0,209	8,19
Peso relativo (%)	37,24	38,43	0,649	10,30
Matéria seca (%)	47,29 b	48,79 a	<0,001	0,54
Matéria mineral (MN) (%)	1,51	1,62	0,177	7,98
Matéria mineral (MS) (%)	3,21	3,32	0,465	7,68
Extrato etéreo (MN) (%)	22,82 b	24,39 a	<0,001	2,02
Extrato etéreo (MS) (%)	48,06 b	49,95 a	0,007	2,02
Proteína (MN) (%)	17,40	17,32	0,497	1,11
Proteína (MS) (%)	36,78 a	35,47 b	<0,001	1,10

MS – Matéria seca; MN – Matéria natural.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Os lipídios da gema representam a fonte primária de nutrientes para o embrião, sendo responsáveis por aproximadamente 90% da energia necessária para o desenvolvimento e por fornecer componentes estruturais para a síntese de membranas biológicas²⁹. A absorção destes lipídios é feita mediante endocitose de lipoproteínas³⁰. Assim como observado no presente estudo, Leone et al.²⁵ também perceberam que sacos vitelínicos de embriões provenientes de matrizes suplementadas com CLA apresentaram maior porcentagem de lipídios em sua composição. Para estes autores, os resultados sugerem que a suplementação de CLA interfere na transferência normal de lipídios do saco vitelínico para o embrião em desenvolvimento, possivelmente, segundo Latour et al.³¹ por alterar a transformação destes lipídios.

Noble e Shand³² relataram que a atividade da enzima Δ -9-desaturase aumenta nos primeiros estágios da utilização da gema, o que pode estar diretamente relacionado à estabilização das lipoproteínas para que estas possam deixar a gema. Entretanto, os autores propuseram que alterações nessa enzima decorrentes do uso do CLA podem alterar a composição e a concentração de lipoproteínas circulantes em embriões e pintos neonatos, e como é possível inferir, alterar também o conteúdo do saco vitelínico.

Com relação ao pinto neonato, não houve efeito dos tratamentos ($P>0,05$) sobre as porcentagens de extrato etéreo presentes no conteúdo do saco vitelínico, diferente do obtido por Cherian³³ que encontraram maior conteúdo total de lipídios em sacos vitelínicos de pintos neonatos obtidos de matrizes que receberam CLA.

A suplementação das matrizes com CLA levou à redução do teor de proteína do saco vitelínico dos embriões ($P<0,001$), considerando-se os valores na matéria seca (Tabela 5), e também dos pintos neonatos, tanto na matéria seca ($P=0,001$) quanto na matéria natural ($P=0,023$) (Tabela 6). Isso indica que houve maior utilização da proteína em pintos oriundos de matrizes suplementadas.

TABELA 6 - Peso e composição bromatológica do saco vitelínico de pintos neonatos provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso (g)	8,88	8,82	0,888	18,76
PR (%)	17,13	17,50	0,601	16,94
MS (%)	56,43	56,21	0,398	0,72
Matéria mineral (MN) (%)	1,91	1,94	0,773	7,60
Matéria mineral (MS) (%)	3,32	3,46	0,297	6,42
Extrato etéreo (MN) (%)	23,78	23,90	0,795	3,19
Extrato etéreo (MS) (%)	42,10	42,59	0,553	3,30
Proteína (MN) (%)	23,95 a	23,61 b	0,023	0,92
Proteína (MS) (%)	42,79 a	41,82 b	0,001	0,92

PR – Peso relativo; MS – Matéria seca; MN – Matéria natural.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Ao comparar as Tabelas 5 e 6, também é possível notar a utilização do extrato etéreo presente no saco vitelínico na fase final de incubação, enquanto poupa-se a proteína no mesmo estágio, confirmando as informações relatadas por Ding e Lilburn³⁴ de que os lipídios do saco vitelínico são rapidamente consumidos durante os últimos estágios de incubação, assumindo grande importância no desenvolvimento do embrião.

Pesquisas mostram que o CLA tem a capacidade de estimular a síntese de imunoglobulinas³⁵, as quais são transferidas da matriz para progênie via ovo e são

encontradas principalmente no conteúdo do saco vitelínico. Assim, grande parte das proteínas do saco vitelínico são biomoléculas de alto valor, pois são imunoglobulinas de origem materna, e não devem ser utilizadas pelo organismo do neonato como fonte de aminoácidos. Esperava-se, portanto, que as porcentagens de proteína encontrada no saco vitelínico aumentassem em resposta ao uso do CLA. Contudo, mais estudos são necessários para verificar se o decréscimo proteico no saco vitelínico está ou não relacionado às imunoglobulinas encontradas em seu conteúdo.

Com relação ao perfil de ácidos graxos, as rações das matrizes suplementadas com CLA apresentaram maiores porcentagens de ácido palmítico (P=0,034) e oleico (P=0,033), e maior conteúdo de gordura monoinsaturada (P=0,040) e ômega-9 (P=0,039) (Tabela 7).

TABELA 7 – Perfil de ácidos graxos das rações de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca

Ácidos graxos (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Ácido Mirístico (C14:0)	0,02	0,02	0,373	18,84
Ácido Miristoleico (C14:1)	0,003	0,003	1,000	173,21
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	0,006	0,003	0,518	115,47
Ácido Palmítico (C16:0)	0,83 b	0,93 a	0,034	4,27
Ácido Palmitoleico (C16:1)	0,02	0,02	1,000	0
Ácido Margárico (C17:0)	0,01	0,01	0,373	34,99
Ácido Esteárico (C18:0)	0,28	0,30	0,260	6,93
Ácido Oleico (C18:1n9c)	1,86 b	2,08 a	0,033	4,24
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	2,72	2,80	0,348	3,34
Ácido Alfa Linolênico (C18:3n3)	0,10	0,09	0,116	4,22
Ácido Araquídico (C20:0)	0,02	0,03	0,373	14,41
Ácido <i>cis</i> -11-Eicosenoico (C20:1n9)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Behênico (C22:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,01	0,01	1,000	0
Composição (%)				
Gordura Monoinsaturada	1,90 b	2,12 a	0,040	4,40
Gordura Poli-insaturada	2,83	2,91	0,366	3,19
Gorduras Insaturadas	4,73	5,03	0,111	3,62
Gorduras Saturadas	1,23	1,35	0,077	5,10
Relação Gorduras Saturadas: Insaturadas	0,28	0,28	0,373	3,10
Gorduras <i>trans</i>	0,003	0,003	1,000	173,21
Ômega-3	0,10	0,09	0,116	4,22
Ômega-6	2,72	2,81	0,331	3,34
Ômega-9	1,88 b	2,10 a	0,039	4,43
Gordura Total	5,96	6,40	0,089	3,74

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

Houve maiores porcentagens de ácido margárico (P=0,007), esteárico (P=0,021), linoleico (P=0,009), gama-linolênico (P=0,007) e araquidônico (P=0,001), com maior composição em ômega-6 (P= 0,005) em gemas de ovos de matrizes suplementadas, enquanto matrizes do lote controle produziram ovos cujas gemas apresentaram maiores porcentagens de ácido palmitoleico (P<0,001) e oleico (P=0,005), e maior composição em gordura monoinsaturada (P=0,002), insaturada (P=0,001) e gordura total (P=0,011) (Tabela 8).

TABELA 8 – Perfil de ácidos graxos da gema de ovos de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca

Ácidos graxos (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Ácido Láurico (C12:0)	0,006	0,01	0,373	48,99
Ácido Mirístico (C14:0)	0,26	0,27	0,373	4,62
Ácido Miristoleico (C14:1)	0,06	0,05	0,116	7,20
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	0,04	0,04	1,000	0
Ácido Palmítico (C16:0)	16,02	15,94	0,414	0,70
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,94 a	1,72 b	<0,001	1,07
Ácido Margárico (C17:0)	0,13 b	0,15 a	0,007	2,88
Ácido Esteárico (C18:0)	5,24	5,39	0,021	0,94
Ácido Elaidico (C18:1n9t)	0,06	0,06	0,373	7,00
Ácido Oleico (C18:1n9c)	25,32 a	24,74 b	0,005	0,52
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	7,92 b	8,07 a	0,009	0,50
Ácido Gama-Linolênico (C18:3n6)	0,10 b	0,11 a	0,007	3,77
Ácido Alfa-Linolênico (C18:3n3)	0,16	0,16	1,000	7,65
Ácido Araquídico (C20:0)	0,02	0,02	1,000	0
Ácido <i>cis</i> -11-Eicosenóico (C20:1n9)	0,14	0,14	0,116	2,85
Ácido <i>cis</i> -11,14- Eicosadienoico (C20:2)	0,09	0,08	0,116	4,71
Ácido <i>cis</i> -8,11,14-Eicosatrienoico (C20:3n6)	0,16	0,15	0,116	2,61
Ácido Araquidônico (C20:4n6)	1,48 b	1,52 a	0,001	0,38
Ácido <i>cis</i> -11,14,17-Eicosatrienoico	0,00	0,003	0,373	244,95
Ácido Behênico (C22:0)	0,006	0,00	0,116	122,47
Ácido 5,8,11,14,17- Eicosapentaenoico(C20:5n3)	0,003	0,00	0,373	244,95
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,003	0,00	0,373	244,95
Ácido Docosahexaenoico (C22:6n3)	0,42	0,30	0,477	51,23
Composição (%)				
Gordura Monoinsaturada	27,53 a	26,72 b	0,002	0,52
Gordura Poli-insaturada	10,35	10,42	0,605	1,47
Gorduras Insaturadas	37,87 a	37,14 b	0,001	0,29
Gorduras Saturadas	21,73	21,81	0,511	0,68
Relação Gorduras Saturadas: Insaturadas	0,57	0,58	0,101	1,00
Gorduras <i>trans</i>	0,06	0,06	0,373	7,00
Ômega-3	0,59	0,47	0,480	36,78
Ômega-6	9,67 b	9,86 a	0,005	0,45
Ômega-9	25,53	25,27	0,509	1,74
Gordura Total	59,60 a	58,95 b	0,011	0,30

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

A inclusão de 0,025% de CLA foi capaz de alterar a composição lipídica das gemas, modificando o percentual de ácidos graxos que não sofreram alteração na própria dieta, além de levar à detecção de ácidos graxos não encontrados primariamente na ração, confirmando a informação de que o fígado da matriz modifica a gordura ingerida antes da inclusão na gema dos ovos, porém, a modificação não ocorre completamente, e por isso, a composição lipídica da gema ainda se assemelha à da dieta³⁶.

Hur et al.³⁷ também descreveram redução da porcentagem de ácidos graxos insaturados na gema de ovos de poedeiras suplementadas com CLA; contudo, também encontraram aumento da porcentagem de ácidos graxos saturados. Vários autores^{21,38,39} obtiveram resultados semelhantes, observando aumento na quantidade de ácidos graxos saturados e redução dos monoinsaturados. A queda nas taxas de ácidos graxos monoinsaturados foi atribuída à capacidade do CLA em inibir a atividade da enzima $\Delta 9$ – desaturase³⁹.

Entre os ácidos graxos alterados pela utilização do CLA, destaca-se o linoleico, que aumentou em resposta à suplementação. Esse possui grande importância, por influenciar o tamanho dos ovos e aumentar os casos de mortalidade embrionária quando não suprido na dieta⁴⁰. Kim et al.²¹ relataram que o conteúdo de ácido esteárico na gema foi, como também observado no presente estudo, inversamente correlacionado ao de ácidos graxos monoinsaturados em gemas de ovos de poedeiras suplementadas com CLA.

Diferente do que pode ser verificado no presente estudo, Yin et al.¹⁷ relataram que gemas de ovos de poedeiras apresentaram redução das concentrações dos ácidos linolênico, araquidônico e docosahexaenoico, provavelmente pela inibição da enzima esteroil-CoA desaturase no fígado³. A enzima desaturase participa, entre outros, da formação do ácido araquidônico a partir do ácido linoleico. Assim, esperava-se que o aumento do conteúdo de ácido linoleico se devesse ao seu acúmulo em função da menor conversão em ácido araquidônico³⁸.

Estudos mostraram que a inclusão de 2,5% de CLA na dieta de poedeiras comerciais elevou, nas gemas, o conteúdo dos ácidos mirístico, palmítico e esteárico, e diminuiu o conteúdo dos ácidos palmitoleico, oleico, linoleico, linolênico, araquidônico, docosahexaenoico e nervônico¹⁷. Apenas algumas dessas observações também foram constatadas no presente estudo, e as diferenças podem estar relacionadas ao nível de CLA utilizado em cada caso.

O nível utilizado de CLA reduziu o percentual de gorduras insaturadas na gema, mas não ao ponto de alterar a relação ácidos graxos saturados: insaturados, sendo, com base

nesta informação, considerado seguro para a dieta de matrizes, uma vez que o aumento dessa relação poderia resultar em mortalidade embrionária⁴¹.

Sacos vitelínicos de embriões oriundos de matrizes suplementadas apresentaram maiores porcentagens de ácido mirístico (P=0,008), palmítico (P<0,001), palmitoleico (P<0,001) e esteárico (P<0,001), e maior composição em gorduras saturadas (P<0,001), gordura total (P=0,014) e maior relação gorduras saturadas: insaturadas (P<0,001). Embriões do tratamento controle apresentaram maiores valores para ácido oleico (P=0,003), *cis*-11-Eicosenóico (P=0,013), *cis*-11,14- Eicosadienoico (P=0,013), araquidônico (P=0,002) e docosahexaenoico (P<0,001), gorduras monoinsaturadas (P=0,009), poli-insaturadas (P=0,016), ômega-3 e ômega-9 (Tabela 9).

Já os dados expressos na Tabela 10 apontaram que o conteúdo do saco vitelínico de neonatos de matrizes suplementadas com CLA apresentou maiores porcentagens de ácido palmitoleico (P=0,004), esteárico (P=0,002), com maior composição em gorduras saturadas (P=0,075) e maior relação gorduras saturadas: insaturadas (P=0,025).

Ao comparar as Tabelas 8, 9 e 10, comprova-se que durante o processo de incubação, o próprio organismo do embrião modifica os ácidos graxos disponíveis, resultando em um perfil lipídico de saco vitelínico diferente do encontrado primariamente na gema.

A partir do momento de acesso corioalantoide ao oxigênio, nos primeiros dias de incubação, os lipídios presentes na gema do ovo são utilizados como fonte de energia para o embrião. Contudo, além de desempenhar função energética, os lipídios da gema também serão utilizados para a formação de membranas embrionárias⁴².

Aproximadamente 50% dos lipídios da gema são incorporados às bicamadas lipídicas estruturais do embrião em desenvolvimento⁴³, sendo os ácidos graxos de cadeia longa e os poli-insaturados direcionados ao desenvolvimento do organismo durante a embriogênese⁴⁴. Embriões de matrizes suplementadas absorveram maiores quantidades de ácidos graxos poli-insaturados, indicada pela menor porcentagem destes no saco vitelínico de embriões e neonatos, sugerindo maior incorporação destes ao organismo. Por outro lado, a suplementação da matriz resultou em maiores porcentagens de gorduras saturadas nos sacos vitelínicos, sugerindo menor demanda por fontes energética e provavelmente, maior eficiência de utilização das mesmas durante a vida embrionária.

O ácido mirístico, por sua vez, esteve presente em menor quantidade no saco vitelínico de embriões controle, sendo o inverso detectado no saco vitelínico de neonatos. É provável que o CLA tenha proporcionado maior incorporação de ácido mirístico ao embrião no estágio final de incubação.

TABELA 9 – Perfil de ácidos graxos do conteúdo do saco vitelínico de embriões de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca

Ácidos graxos (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Ácido Cáprico (C10:0)	0,00	0,003	0,373	244,95
Ácido Láurico (C12:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Mirístico (C14:0)	0,20 b	0,24 a	0,008	4,55
Ácido Miristoleico (C14:1)	0,04	0,04	0,373	9,80
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	0,03	0,04	0,116	11,13
Ácido Palmítico (C16:0)	12,58 b	14,06 a	<0,001	0,73
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,28 b	1,43 a	<0,001	0,74
Ácido Margárico (C17:0)	0,13	0,13	1,000	0
Ácido Esteárico (C18:0)	4,36 b	4,89 a	<0,001	0,69
Ácido Elaidico (C18:1n9t)	0,05	0,04	0,373	8,45
Ácido Oleico (C18:1n9c)	22,73 a	21,93 b	0,003	0,71
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	6,83	6,77	0,217	0,78
Ácido Gama-Linolênico (C18:3n6)	0,08	0,09	0,287	11,76
Ácido Alfa-Linolenico (C18:3n3)	0,13	0,11	0,070	8,33
Ácido Araquídico (C20:0)	0,02	0,02	1,000	0
Ácido <i>cis</i> -11-Eicosenóico (C20:1n9)	0,14 a	0,12 b	0,013	4,22
Ácido <i>cis</i> -11,14- Eicosadienoico (C20:2)	0,09 a	0,07 b	0,013	6,66
Ácido <i>cis</i> -8,11,14-Eicosatrienóico (C20:3n6)	0,12	0,13	0,230	4,44
Ácido Araquidônico (C20:4n6)	1,12 a	1,07 b	0,002	0,83
Ácido <i>cis</i> -11,14,17-Eicosatrienoico	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Behênico (C22:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido 5,8,11,14,17- Eicosapentaenoico (C20:5n3)	0,00	0,003	0,373	244,95
Ácido Tricosanoico (C23:0)	0,00	0,003	0,373	244,95
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,003	0,01	0,116	61,24
Ácido Nervônico (C24:1n9)	0,006	0,01	0,373	48,99
Ácido Docosahexaenoico (C22:6n3)	0,24 a	0,17 b	<0,001	2,75
Composição (%)				
Gordura Monoinsaturada	24,25 a	23,58 b	0,009	0,73
Gordura Poli-insaturada	8,64 a	8,45 b	0,016	0,71
Gorduras Insaturadas	32,90	32,12	0,032	0,69
Gorduras Saturadas	17,35 b	19,46 a	<0,001	0,68
Relação Gorduras Saturadas: Insaturadas	0,53 b	0,61 a	<0,001	1,75
Gorduras <i>trans</i>	0,05	0,05	1,000	0
Ômega-3	0,38 a	0,30 b	<0,001	1,76
Ômega-6	8,16	8,07	0,142	0,74
Ômega-9	22,94 a	22,11 b	0,003	0,72
Gordura Total	50,25 b	51,43 a	0,014	0,69

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

Yalçın et al.⁴⁵ propuseram que a menor quantidade de ácido docosahexaenoico encontrado no saco vitelínico de neonatos, em comparação à quantidade encontrada na gema do ovo indica a utilização preferencial deste ácido graxos durante o processo de incubação. De fato, as porcentagens encontradas na gema (Tabela 8) e saco vitelínico de embriões

(Tabela 9) e neonato (Tabela 10) demonstraram a mesma tendência. Contudo, sacos vitelínicos de embriões de matrizes suplementadas apresentaram menores porcentagens de ácido docosahexaenoico, indispensável para a função cerebral⁴⁶, indicando maior captação pelo embrião antes e após 18 dias de incubação.

TABELA 10 – Perfil de ácidos graxos do conteúdo do saco vitelínico de pintos neonatos de matrizes suplementadas com CLA, com base na matéria seca

Ácidos graxos (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Ácido Caproico (C6:0)	0,00	0,003	0,373	244,95
Ácido Cáprico (C10:0)	0,003	0,00	0,373	244,95
Ácido Láurico (C12:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Mirístico (C14:0)	0,18 a	0,0047b	0,066	4,26
Ácido Miristoleico (C14:1)	0,04	0,04	1,000	0
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	0,03	0,03	1,000	0
Ácido Palmítico (C16:0)	10,92	11,34	0,144	2,60
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,07 b	1,23 a	0,004	2,88
Ácido Margárico (C17:0)	0,11	0,10	0,116	3,83
Ácido Esteárico (C18:0)	3,76 b	4,04 a	0,002	1,30
Ácido Elaidico (C18:1n9t)	0,03	0,03	0,518	16,50
Ácido Oleico (C18:1n9c)	18,89	18,95	0,872	2,52
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	5,95 a	5,28 b	0,001	1,82
Ácido Gama-Linolênico (C18:3n6)	0,08	0,08	1,000	0
Ácido Alfa-Linolenico (C18:3n3)	0,11 a	0,09 b	0,001	3,95
Ácido Araquídico (C20:0)	0,02	0,02	1,000	0
Ácido <i>cis</i> -11-Eicosenoico (C20:1n9)	0,11	0,11	1,000	0
Ácido <i>cis</i> -11,14-Eicosadienoico (C20:2)	0,07 a	0,06 b	0,007	5,97
Ácido <i>cis</i> -8,11,14-Eicosatrienoico (C20:3n6)	0,11	0,11	1,000	0
Ácido Araquidônico (C20:4n6)	0,84 a	0,79 b	0,010	1,65
Ácido <i>cis</i> -11,14,17-Eicosatrienoico	0,006	0,00	0,116	122,47
Ácido Behênico (C22:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Tricosanoico (C23:0)	0,006	0,003	0,518	115,47
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,01	0,01	1,000	0
Ácido Nervônico (C24:1n9)	0,006	0,006	1,000	86,60
Ácido Docosahexaenóico (C22:6n3)	0,13 a	0,10 b	0,002	3,45
Composição (%)				
Gordura Monoinsaturada	20,14	20,48	0,599	2,51
Gordura Poli-insaturada	7,31 a	6,52 b	0,001	1,62
Gorduras Insaturadas	27,45	26,90	0,329	2,25
Gorduras Saturadas	15,06 b	15,76 a	0,075	2,35
Relação Gorduras Saturadas:Insaturadas	0,55 b	0,58 a	0,025	2,27
Gorduras <i>trans</i>	0,03	0,03	0,518	16,50
Ômega-3	0,25 a	0,19 b	<0,001	2,57
Ômega-6	6,98 a	6,26 b	0,001	1,72
Ômega-9	19,03	19,11	0,853	2,49
Gordura Total	42,51	42,67	0,834	1,98

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

O embrião em desenvolvimento absorve preferencialmente os ácidos docosahexaenoico e araquidônico presentes na gema⁴⁷. O ácido araquidônico apresentou-se em maior porcentagem em gemas de ovos de matrizes suplementadas com CLA, mas em menores quantidades no saco vitelínico de embriões e neonatos das matrizes suplementadas, demonstrando que houve maior incorporação deste ácido graxo ao organismo quando da utilização de CLA.

É importante considerar que o ácido araquidônico está relacionado à produção de eicosanoides. Em pesquisas desenvolvidas por Bautista-Ortega et al.⁴⁸, foi demonstrado que a suplementação materna com ácidos graxos ômega-3 e 6 pode alterar o perfil lipídico das gemas e dos tecidos dos neonatos, e que o conteúdo destes ácidos graxos no ovo influenciam a produção de eicosanoides pela progênie, e conseqüentemente, a resposta imune e inflamatória. Assim, é possível inferir que a alteração da composição lipídica das gemas pode favorecer a imunidade da progênie, entretanto, tal manipulação deve ser cuidadosa, pois mudanças na relação ácidos graxos saturados: insaturados pode ocasionar morte embrionária.

CONCLUSÃO

O fornecimento de 0,025% de CLA às matrizes altera a qualidade física dos ovos, principalmente pelo aumento do peso da gema. Há redução no teor proteico do albúmen e do conteúdo do saco vitelínico da progênie, tanto de embriões quanto de pintos neonatos. O perfil de ácidos graxos das gemas e sacos vitelínicos também é modificado pela utilização de CLA; sendo a porcentagem de ácido araquidônico alterada em todas estas estruturas. O CLA aumenta a relação gorduras saturadas: insaturadas apenas no conteúdo dos sacos vitelínicos.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci.* 2006, 73:29-41.
2. Go G-W, Oh S, Park M, Gang G, McLean D, Yang H-S, Song M-H, Kim Y. t10,c12 conjugated linoleic acid upregulates hepatic de novo lipogenesis and triglyceride synthesis via mTOR pathway activation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2013, 23(11):1569-76.

3. Lee KN, Pariza MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998, 248(3):817-21.
4. Hur S-J, Kang G-H, Jeong J-Y, Yang H-S, Ha Y-L, Park G-B, Joo S-T. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid characteristics of egg yolk. *Asian-Australas. J. Anim.Sci.* 2003, 16(8): 1165-70.
5. Aydin R, Cook ME. The effect of dietary conjugated linoleic acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. *Poult Sci.* 2004, 83:2016-22.
6. Maiorka A, Dahlke F, Morgulis MSFA. Broiler adaptation to post-hatching period. *Ciência Rural* 2006, 36(2):701-8.
7. Wojnarowicz C, Olkowski AA. Congenital intestinal incarceration in broiler chickens. *Avian Pathol* 2009, 38(6):509-12.
8. Dibner JJ, Knight CD, Kitchell ML, Atwell AA, Downs AC, Ivey FJ. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *J Appl Poult Res* 1998, 7:425.
9. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-1206.
10. Shang XG, Wang FL, Li DF, Yin JD, Li JY. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the productivity of laying hens and egg quality during refrigerated storage. *Poult. Sci.* 2004, 83:1688-95.
11. Ahn DU, Sell JL, Jo C, Chamruspollert M, Jeffrey M. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. *Poult. Sci.* 1999, 78:922-8.
12. Silva DJ, Queiroz AC. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
13. AOAC – Associations of official analytical chemists. *Official methods of analyses of the association of analytical chemists*. 18. ed., 2005. method 996.06, p.20-25.
14. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
15. Souza AVC. Ácidos graxos da gema do ovo. *Revista Polinutri*, 2007. Disponível em: < http://www.polinutri.com.br/artigos_tecnicos.asp?pagina=3>. Acesso em: 17/09/2016.
16. Cherian G, Goeger MP. Hepatic lipid characteristics and histopathology of laying hens fed CLA or n-3 fatty acids. *Lipids* 2004, 39(1):31-6.

17. Yin JD, Shang XG, Li DF, Wang FL, Guan YF, Wang ZY. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the fatty acid profile and cholesterol content of egg yolks from different breeders of layers. *Poult. Sci.* 2008, 87:284-90.
18. Choi Y-H. Conjugated linoleic acid as a key regulator of performance, lipid metabolism, development, stress and immune functions, and gene expression in chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2009, 22(3):448-58.
19. Chamruspollert M Sell JL. Transfer of dietary conjugated linoleic acid to egg yolks of chickens. *Poult. Sci.* 1999, 78:1138-50.
20. Alvarez C, Cachaldora P, Mendez J, Garcia-Rebollar P, De Blas JC. Effects of dietary conjugated linoleic acid and fish oil supplementation on performance and egg quality in laying hens. *Br. Poult. Sci.* 2004, 45:524-9.
21. Kim JH, Hwangbo J, Choi NJ, Park HG, Yoon DH, Park EW, Lee SH, Park BK, Kim YJ. Effect of dietary supplementation with conjugated linoleic acid, with oleic, linoleic, or linoleic acid, on egg quality characteristics and fat accumulation in the egg yolk. *Poult. Sci.* 2007, 86:1180-6.
22. Suksombat W, Samitayotin S, Lounglawan P. Effects of conjugated linoleic acid supplementation in layer diet on fatty acid compositions of egg yolk and layer performances. *Poult. Sci.* 2006, 85:1603-9.
23. Aydin R, Pariza MW, Cook M. Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J. Nutr.* 2001, 131(3):800-6.
24. Panda AK, Shyam Sunder G, Rama Rao SV, Raju MVLN. Early nutrition enhances growth and speeds up gut development. *World Poult* 2006, 22(4):15-6.
25. Leone VA, Worzalla SP, Cook, ME. Evidence that maternal conjugated linoleic acid negatively affects lipid uptake in late-stage chick embryos resulting in increased embryonic mortality. *Poult. Sci.* 2010, 89:621-32.
26. Bauer R, Plieschnig JA, Finkes T, Riegler B, Hermann, Schneider WJ. The developing chicken yolk sac acquires nutrient transport competence by an orchestrated differentiation process of its endodermal epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 2013, 28(2):1088-98.
27. Ramírez-Santana C, Castellote C, Castell M, Rivero M, Rodríguez-Palmero M, Franch À, Pérez-Cano FJ. Long-term feeding of the cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid reinforces the specific immune response in rats. *J Nutr.* 2009, 139:76-81.
28. Stanimirovic M, Petrujkic B, Delic N, Djelic N, Stevanovic J, Stanimirovic Z. Dietary conjugated linoleic acid influences the content of stearic acid in porcine adipose tissue. *Vet Med* 2012, 57(2):92-100.

29. Speake BK, Noble RC, Murray AB. The utilization of yolk lipids by the chick embryo. *Worlds Poult. Sci. J.* 1998, 54(4):319-34.
30. Yadgary L, Wong EA, Uni Z. Temporal transcriptome analysis of the chicken embryo yolk sac. *BMC Genomics* 2014, 15:690-705.
31. Latour MA, Devitt AA, Meunier RA, Stewart JJ, Watkins BA. Effects of conjugated linoleic acid. 2. Embryonic and neonatal growth and circulating lipids. *Poult. Sci.* 2000, 79:822-6.
32. Noble RC, Shand JH. Unsaturated fatty acid compositional changes and desaturation during the embryonic development of the chicken (*Gallus domesticus*). *Lipids* 1985, 20:278–82.
33. Cherian G. Egg yolk conjugated linoleic acid alters phospholipid molecular species in chick tissues. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2009, 111(6):546-52.
34. Ding ST, Lilburn MS. Characterization of changes in yolk sac and liver lipids during embryonic and early posthatch development of turkey poults. *Poult Sci.* 1996; 75:478-483.
35. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-206.
36. Noble RC, Speake BK, McCartney R, Foggin CM, Deemig DC. Yol lipids and their fatty acids in the wild and captive ostrich (*Struthio camelus*). *Comp Biochem Physiol B – Biochem Mol Biol* 1996; 113:753-756.
37. Hur SJ, Park GB, Joo ST. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock Sci.* 2007; 110(3):221-9.
38. Cherian G, Traber MG, Goeger MP, Leonard SW. Conjugated linoleic acid and fish oil in laying hen diets: effects on egg fatty acids, thiobarbituric acid reactive substances, and tocopherols during storage. *Poult Sci.* 2007; 86:953-8.
39. Cherian G, Gonzalez D, Ryu KS, Goeger MP. Long-term feeding of conjugated linoleic acid and fish oil to laying hens: effects on hepatic histopathology, egg quality, and lipid components. *J Appl Poult Res.* 2007; 16:420-8.
40. Bertechini AG. *Nutrição de monogástricos*. 2.ed. Lavras: Editora UFLA; 2013.
41. King' Ori AM. Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *Int J Anim Sci.* 2011; 10(6):483-92.
42. Moran Jr ET. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poult Sci.* 2007; 86:1043-49.
43. Cherian G. Essential fatty acids and early life programming in meat-type birds. *World Poult Sci J.* 2011; 67:599-614.

44. Cherian G. Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. *Poult Sci.* 2008; 87:1131-1137.
45. Yalçın S, Bagdatlioglu N, Bruggeman V, Babacanoglu E, Uysal I, Buyse J, Decuypere E, Siegel PB. Acclimatation to heat during incubation. 2. Embryo composition and residual egg yolk sac fatty acid profiles in chicks. *Poult Sci.* 2008; 87:1229-36.
46. Pappas AC, Acamovic T, Surai PF, McDevitt RM. Maternal organo-selenium compounds and polyunsaturated fatty acids affect progeny performance and levels of selenium and docosahexaenoic acid in the chick tissues. *Poult Sci.* 2006; 85:1610-20.
47. Cherian G, Sim JS. Net transfer and incorporation of yolk n-3 fatty acids into developing chick embryos. *Poult Sci.* 1993; 72(1):98-105.
48. Bautista-Ortega J, Goeger DE, Cherian G. Egg yolk omega-6 and omega-3 fatty acids modify tissue lipid components, antioxidant status, and ex vivo eicosanoid production in chick cardiac tissue. *Poult Sci.* 2009; 88:1167-1175.

CAPÍTULO 3 - PARÂMTEROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E DESENVOLVIMENTO GASTROINTESTINAL DE PINTOS PROVENIENTES DE OVOS DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

RESUMO

O CLA tem sido associado a benefícios à imunidade e desempenho de aves. Objetivou-se avaliar os parâmetros de incubação, o desenvolvimento intestinal e a qualidade de pintos de matrizes suplementadas com CLA. Foram acompanhados dois lotes de matrizes com 58 semanas de idade, sendo um suplementado 26 dias com 0,025% de CLA. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos (0 e 0,025% CLA). Foram pesados e incubados 270 ovos por tratamento, distribuídos em duas incubadoras, adotando-se, então, o delineamento em blocos casualizados, considerando a incubadora utilizada. Avaliou-se fertilidade e eclodibilidade, duração da janela de nascimento, peso do ovo incubado e após 18 dias, peso do neonato e da casca e relação entre esses pesos, peso do embrião aos 18 dias, comprimento e qualidade do neonato. Os pesos relativos dos órgãos, dos intestinos e a histomorfometria intestinal foram avaliados aos 18 dias de incubação e à eclosão. Ovos não eclodidos foram diagnosticados. Aplicou-se análise de variância para as variáveis quantitativas, teste exato de Fisher para o embriodiagnóstico e teste de Mann-Whitney para as demais variáveis ($P < 0,05$). A suplementação reduziu o peso do embrião e aumentou o peso relativo de fígado aos 18 dias de incubação, e alterou a histomorfometria intestinal de embriões e neonatos. Em conclusão, 0,025% de CLA para matrizes não influencia os parâmetros de incubação, o peso e a qualidade dos neonatos, mas altera o peso de fígado dos embriões e a histomorfometria do intestino delgado de embriões e neonatos.

Palavras-chave: Fertilidade, mortalidade embrionária, pinto neonato.

CHAPTER 3 - INCUBATION PARAMETERS, QUALITY AND GASTROINTESTINAL DEVELOPMENT OF CHICKS FROM EGGS LAID BY BROILER BREEDERS SUPPLEMENTED WITH CONJUGATED LINOLEIC ACID

ABSTRACT

CLA has been associated with improvement of immunity and performance of broilers. It was aimed to evaluate the incubation parameters, the gut development and the quality of newly hatched broiler chicks from breeder supplemented with CLA. Two breeder flocks, aged 58 weeks old, were accompanied, and one of them was supplemented with 0.025% CLA for 26 days. A completely randomized design was adopted, consisting of two treatments (0 and 0.025% CLA). A total of 270 eggs per treatment were weighed and incubated in two hatchers, then a randomized block design was applied, considering which hatcher were used. The following variables were evaluated: fertility and hatchability, hatch window duration, egg weight at hatch and after 18 days, newly hatched chick body weight, egg shell weight and relation between these weights, 18d embryo body weight, length and quality of the newly hatched chick. The relative weights of the organs and intestines, and the intestine hystomorphometry were evaluated at 18 days of incubation and at hatch. Non-hatched eggs were embryodiagnosed. Analysis of variance was applied for quantitative variables, Fisher exact test was applied for embryodiagnosis and Mann-Whitney test was applied for the other variables ($P < 0.05$). Supplementation reduced embryo body weight and increased liver relative weight at 18 days of incubation, and affected the histomorphometry of the small intestine of embryos and chicks. In conclusion, 0.025% CLA for breeders does not affect hatchability, the weight and quality of chicks, but alters embryo liver weight and histomorphometry of small intestine of embryos and chicks.

Keywords: Embryonic mortality, fertility, newly hatched chick.

INTRODUÇÃO

O crescimento e o desenvolvimento embrionário adequado dependem, entre outros fatores, do fornecimento dos nutrientes depositados no ovo e, por esse motivo, o *status* fisiológico do pinto à eclosão pode ser influenciado pela nutrição das matrizes.

A literatura tem descrito que os nutrientes disponibilizados à matriz afetam o peso, a qualidade e a imunidade do neonato, e influenciam seu desempenho produtivo^{1,2,3,4}. Qiao⁵ apontou que a composição lipídica da dieta da matriz merece atenção, especialmente a exigência de ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoleico, necessário para a manutenção da integridade de membrana celular, imunocompetência e desenvolvimento embrionário, e que afeta diretamente a qualidade do neonato.

O ácido linoleico conjugado (CLA) compreende o conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico⁶, encontrado principalmente na gordura do leite e na carne de ruminantes⁷. Em humanos, seu uso tem sido associado à redução da gordura corporal, riscos de câncer e doenças cardiovasculares, aumento da massa óssea e modulação da inflamação e da resposta imune⁸. O CLA pode estimular a síntese de imunoglobulinas e reduzir a produção de citocinas proinflamatórias⁹.

A capacidade do CLA de alterar o metabolismo lipídico¹⁰ também poderia ser interessante na produção de matrizes de corte, uma vez que a reprodução pode ser comprometida pelo maior acúmulo de gordura corporal¹¹. Contudo, é necessário considerar que o CLA altera também o perfil de ácidos graxos da gema do ovo, e, portanto, pode influenciar o processo de embriogênese e a fase neonatal¹².

Aydin et al.¹³ demonstraram que a inclusão de 0,5% de CLA na dieta de matrizes causou 100% de mortalidade embrionária em ovos férteis. Por outro lado, a suplementação de codornas com 0,25% de CLA não alterou a eclodibilidade dos ovos quando comparada à dieta controle¹⁴.

O nível de inclusão ainda mais baixo (0,03%) administrado diretamente *in ovo* por Azadegan et al.¹⁵ permitiu aumentar a eclodibilidade (90,5%), o ganho de peso, melhorar a conversão alimentar e a imunidade e reduzir o colesterol.

O CLA oferecido na dieta pode ser incorporado aos ácidos graxos de membranas celulares¹⁶. Por este motivo, infere-se que possa influenciar a qualidade das membranas, inclusive no intestino, alterando sua composição e capacidade de absorção.

Esse ácido graxo também interfere na atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase¹⁷, e aumenta a proporção de ácidos graxos saturados em relação à de insaturados

na gema¹⁸, o que pode alterar os nutrientes do conteúdo do saco vitelínico, tão importante para o desenvolvimento intestinal inicial.

Portanto, o principal motivo para a utilização de CLA na dieta de aves é melhorar a imunidade, e obter possível melhora no desempenho e desenvolvimento gastrointestinal. Contudo, deve-se trabalhar com níveis seguros de inclusão do CLA na dieta de matrizes, uma vez que a ocorrência de mortalidade embrionária, com conseqüente queda na eclodibilidade, depende da dose e da duração do fornecimento da dieta suplementada¹².

Assim, diante do exposto, objetivou-se com o presente estudo verificar o efeito da inclusão de CLA na dieta de matrizes pesadas sobre os parâmetros de incubação, desenvolvimento intestinal e dos órgãos de embriões e pintos neonatos, bem como a qualidade física destas aves à eclosão.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa que abrange o presente estudo foi aprovado pela CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais – da Universidade Federal de Goiás, sob o número de protocolo 011/2015.

Foram acompanhados dois lotes comerciais de matrizes de frango de corte (*Gallus gallus*), ambos com 58 semanas de idade e pertencentes à linhagem Cobb 500®. Os dois lotes receberam dieta comercial, contudo, em um deles houve suplementação de 0,042% de um produto comercial (Lutalin® - BASF), de acordo com as recomendações do fabricante, garantindo a suplementação de 0,025% de CLA (*trans*-10, *cis*-12) na dieta das matrizes, por um período de 26 dias. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos (dieta controle e dieta contendo 0,025% de CLA). A composição das dietas experimentais é apresentada na Tabela 1.

Considerando que a formação da gema leva aproximadamente 21 dias, as aves foram suplementadas por 26 dias, período suficiente para a indução de modificações na gema por meio da dieta. Após esse período, 820 ovos, 410 por tratamento, foram coletados aleatoriamente no dia da postura e passaram por sanitização seca, sendo fumigados com paraformol.

Dentre o total de 820 unidades, foram selecionados 540 ovos, ou seja, 240 por tratamento, sendo escolhidos apenas os que apresentaram casca limpa e íntegra e forma elíptica. Em seguida, todos os que atenderam satisfatoriamente às condições de seleção foram pesados para obtenção da média de peso e escolha dos que seriam incubados. Ao final da seleção, os ovos apresentaram peso médio de 70,30g ± 4,83g.

Os ovos permaneceram armazenados sob a temperatura de 20°C por um período de 66 horas, sendo posteriormente pré-aquecidos por 6 horas a 26°C, antes de serem transferidos para as incubadoras, completando assim 72 horas de armazenamento.

Os ovos, numerados conforme os tratamentos, foram distribuídos em duas incubadoras (modelo MA01DA – Gaiolas Almeida, Aparecida de Goiânia, GO) com capacidade para 270 ovos, com três bandejas cada e capacidade de acomodar 90 ovos por bandeja, sendo a metade (45 ovos) preenchida por cada tratamento. A partir do momento da incubação, adotou-se o delineamento em blocos casualizados, considerando a incubadora utilizada como critério de determinação dos blocos.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais (%) com base na matéria natural

INGREDIENTES	Controle	CLA
Milho	68,179	68,128
Farelo de soja	17,416	17,425
Calcário	7,876	7,876
Caulim	4,000	4,000
Farinha de carne e ossos	1,500	1,5000
Sal comum	0,223	0,223
Fosfato bicálcico	0,200	0,200
Bicarbonato de sódio	0,150	0,150
Suplemento mineral ¹	0,150	0,150
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
Colina	0,082	0,082
DL-metionina	0,080	0,080
L-treonina	0,030	0,030
Antioxidantes ³	0,016	0,016
CLA ⁴	-	0,042
Enzima ⁵	0,003	0,003
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2736	2734
Proteína bruta (%)	13,90	13,90
Ácido linoleico (%)	2,50	2,57
Lisina digestível (%)	0,60	0,60
Metionina + cistina (%)	0,47	0,46
Treonina digestível (%)	0,50	0,50
Cálcio (%)	3,29	3,29
Fósforo disponível (%)	0,20	0,20
Sódio (%)	0,34	0,34

¹Suplemento mineral - níveis de garantia por quilograma de produto: Manganês 80.000 mg, Zinco 70.000 mg, Ferro 40.000 mg, Cobre 8.000 mg, Iodo 1.000 mg; ²Suplemento vitamínico - níveis de garantia por quilograma do produto: vitamina E 110.000 mg, vitamina A 14.000 UI, vitamina D3 3.000 UI, vitamina K3 6.000 mg, vitamina B1 3.000 mg, vitamina B2 12.000 mg, vitamina B6 6.000 mg, vitamina B12 30 mg, niacina 60.000 mg, ácido pantotênico 20.000 mg, ácido fólico 4.000 mg, biotina 300 mg; ³Etoxiqum 66,6%, BHA 99% e Ácido cítrico 99,5%. ⁴CLA (Lutalin®). ⁵Enzima fitase (Natuphos® 10.000).

As incubadoras possuíam sistema para viragem automática dos ovos a cada duas horas e painel para controle da temperatura e monitoramento da umidade relativa. Os ovos

foram mantidos sob temperatura constante de 37,7°C e umidade por volta de 60%, verificadas constantemente com o auxílio de termohigrômetros.

No 18º dia de incubação, durante a transferência para as bandejas de eclosão, os ovos foram pesados e acondicionados em sacos de filó (12 x 20 cm), possibilitando identificar após a eclosão a ave correspondente a cada ovo numerado. Na ocasião, foram selecionados ao acaso cinco ovos de cada tratamento, para realização de necropsia do embrião e pesagem das aves - com e sem o saco vitelínico, e dos órgãos, com auxílio de balança digital. Calculou-se o peso relativo da moela + proventrículo, fígado, coração e pâncreas, considerando a seguinte fórmula: peso relativo = (100 x peso do órgão) / peso da ave. O peso relativo e o comprimento de intestino total e delgado também foram avaliados. Além disso, fragmentos do duodeno, jejuno e íleo foram coletados e fixados em solução de formalina a 10% tamponada, para posterior confecção de lâminas histológicas.

A partir do momento da eclosão dos cinco primeiros pintos, realizou-se o acompanhamento dos nascimentos, com retirada das aves completamente secas das incubadoras a cada cinco horas, até que as eclosões cessassem por completo, o que ocorreu às 523 horas de incubação.

Os ovos não eclodidos foram recolhidos para posterior realização do embriodiagnóstico, sendo para tal classificados em: inférteis, com morte embrionária de 0 a 4 (Fase I), 5 a 17 (Fase II) ou 18 a 21 dias de incubação (Fase III), bicados não-eclodidos, contaminados, malformados, trincados e em má posição, de acordo com os critérios estabelecidos por Plano e Di Matteo¹⁹.

Foram avaliadas as seguintes variáveis relacionadas à incubação: peso do ovo na incubação, peso do ovo na transferência, porcentagem de perda de peso do ovo na transferência em relação ao ovo incubado, peso do pinto neonato e relação peso do pinto neonato/peso do ovo incubado (%). As porcentagens de fertilidade, determinada pela quantidade de ovos férteis em relação aos ovos incubados, e eclodibilidade, determinada pela quantidade de ovos eclodidos em relação aos ovos férteis, bem como a janela média de nascimento, a porcentagem de nascimentos em cada intervalo de 5 horas e os resultados obtidos no embriodiagnóstico também foram calculados.

O comprimento e qualidade do pinto neonato também foram avaliados. A qualidade dos pintos neonatos foi determinada segundo o procedimento recomendado por Tona et al.²⁰, no qual se avalia a atividade, penugem e aparência, olhos, pernas, canela, área do umbigo, membrana remanescente e resíduo vitelínico, para obtenção de um escore com

escala total de 100. O comprimento foi avaliado com fita métrica, considerando-se a medida da extremidade do bico até a extremidade do dedo mais longo, excluindo-se a unha.

Cada ovo/pinto foi considerado como uma repetição, exceto para a análise das variáveis fertilidade, eclodibilidade e resultados do embriodiagnóstico, em que cada repetição foi composta por uma bandeja da incubadora.

Após a verificação do comprimento e da qualidade, quatro aves por tratamento foram amostradas aleatoriamente entre o total de neonatos a cada cinco horas e eutanasiadas por deslocamento cervical. Procedeu-se à necropsia para respectiva pesagem das aves com e sem o saco vitelínico, avaliação do peso relativo dos órgãos previamente citados, avaliação do peso relativo e comprimento de intestino total e delgado e coleta de fragmentos de duodeno, jejuno e íleo para posterior processamento histológico.

Os fragmentos foram fixados em solução de formalina a 10% tamponada, processados conforme a metodologia descrita por Luna²¹ e coradas com Hematoxilina-Eosina (HE). Para cada fragmento coletado, uma lâmina histológica foi confeccionada. Após este processo, as imagens foram obtidas em microscópio Leica DM550, e digitalizadas para o computador com o auxílio da câmera de vídeo Leica ICC50. Utilizou-se a objetiva de 4x para a captura das imagens das vilosidades intestinais, objetiva de 10x para as criptas, e o software Image J para verificação dos índices histomorfométricos (altura de vilosidade e profundidade de cripta). Foram avaliadas 20 vilosidades e 20 criptas intestinais por lâmina. Foram confeccionadas, por tratamento, para cada segmento, 5 lâminas de embriões e 4 lâminas de neonatos.

Os dados das variáveis quantitativas foram submetidos à análise de variância, a 5% de probabilidade. Para a qualidade do pinto neonato, por tratar-se de avaliação não-paramétrica, e para a janela média de nascimento, comprimento da ave ao nascer e relação peso do pinto neonato/peso do ovo incubado, cujos resíduos não apresentaram distribuição normal de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, foi utilizado o teste de Mann-Whitney a 5%. Para a análise do embriodiagnóstico, aplicou-se o teste exato de Fisher ($P < 0,05$). Todas as análises foram realizadas com o uso do software R²².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito da suplementação de CLA (Tabela 2) para as matrizes na porcentagem de ovos férteis ($P=0,8576$) ou eclodidos ($P=0,9325$). Estes resultados diferem dos observados por Cherian et al.²³ que notaram redução de 50% na eclodibilidade dos ovos de matrizes que receberam 1% de CLA em substituição ao óleo de soja. Muma et al.²⁴ e

Aydin e Cook²⁵, por sua vez, encontraram morte embrionária em 100% dos ovos férteis quando as matrizes foram suplementadas com 0,5% de CLA em substituição ao óleo de soja. Estudos desenvolvidos em codornas japonesas, Aydin et al.²⁶ também mostraram que o nível de 0,5% de CLA em substituição ao óleo de soja reduziu a eclodibilidade, mas sem alterar a porcentagem de ovos férteis. Latour et al.²⁷ concluíram que o fornecimento da mesma quantidade às matrizes não alterou a fertilidade e a eclodibilidade dos ovos, embora tenha sido capaz de promover mudanças na composição de ácidos graxos no fígado e no conteúdo do saco vitelínico dos pintos neonatos.

Sabe-se que o CLA tem a capacidade de alterar o metabolismo lipídico¹⁰. Mudanças no metabolismo do colesterol no fígado da matriz podem afetar a habilidade materna para formação de VLDL²⁸, uma dos principais precursores da gema, incorporado pelos folículos em desenvolvimento²⁹.

A gema contém lipídios, proteínas, vitaminas, minerais e outros micronutrientes essenciais, e é a principal fonte de nutrientes para o embrião em desenvolvimento³⁰. A inclusão de CLA na dieta pode reduzir a atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase³¹ e alterar a relação entre o conteúdo de ácidos graxos saturados e insaturados da gema, causando morte embrionária¹⁴.

No presente estudo, entretanto, é provável que o nível de inclusão estabelecido, de 0,025%, não tenha alterado essa relação ao ponto de prejudicar o desenvolvimento embrionário, garantindo a assimilação dos ácidos graxos presentes na gema pelo embrião.

Uma das razões para a baixa eclodibilidade e baixa fertilidade pode estar relacionado à idade das galinhas reprodutoras utilizadas. Aves mais velhas tendem a apresentar menor fertilidade³². Mudanças nas glândulas armazenadoras de espermatozoides, presentes no oviduto da galinha, podem ocorrer à medida que a ave envelhece, alterando o número de espermatozoides que podem ser estocados e resultando em menor quantidade de esperma no local de fertilização³³.

De qualquer modo, as porcentagens de eclodibilidade encontradas para ambos os tratamentos não são consideradas ideais. Uma possível causa para o ocorrido seria a situação a que os ovos foram expostos na fase final, já que para a avaliação da janela de nascimento era necessário abrir as incubadoras a cada intervalo de cinco horas e retirar as bandejas para averiguação dos ovos eclodidos, submetendo os ovos a condições de temperatura e umidade diferentes das proporcionadas pelas incubadoras, além de sua manipulação, que por mais cuidadosa que seja, pode interferir no resultado final.

TABELA 2 – Fertilidade e eclodibilidade de ovos oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis (%)	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Fertilidade	85,0	85,7	0,857	6,90
Eclodibilidade	72,50	72,08	0,932	11,46

Na Tabela 3 é apresentada a porcentagem de nascimentos dos pintos em intervalos de cinco horas e a janela de nascimento, expressa em horas. Não houve diferença estatística entre os tratamentos ($P > 0,05$).

São escassos os precedentes na literatura que relatem a influência do CLA na duração do período de incubação. Contudo, com base na constatação de Shanawany³⁴, de que o período total de incubação necessário para a formação completa do embrião é dependente das diferenças de conteúdo dos ovos, o CLA poderia de alguma maneira influenciar o início e duração da janela de nascimento. Segundo Watkins³⁵, é necessária a conversão metabólica dos ácidos graxos presentes na gema para as atividades dos tecidos embrionários, formação de membranas e células cerebrais e da retina. Esse autor descreveu que a síntese de eicosanoides que, por sua vez, são provenientes dos ácidos graxos, é importante na estimulação da diferenciação de mioblastos e condrócitos, e sabendo que a bicagem depende do desenvolvimento muscular do embrião, o tipo de ácido graxo pode afetar a hipóxia pré-natal (um estímulo para a bicagem).

TABELA 3 – Porcentagem de nascimentos de pintos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA, em intervalos de cinco horas e janela de nascimento em horas

Horas de incubação	Nascimentos (%)		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
478 h (45 h)	1,02	1,72	0,694	215,49
483 h (40 h)	4,40	2,99	0,588	117,58
488 h (35 h)	4,54	4,76	0,922	84,34
493 h (30 h)	10,28	8,77	0,668	62,22
498 h (25 h)	27,41	29,35	0,772	39,76
503 h (20 h)	23,58	28,82	0,326	27,52
508 h (15 h)	14,14	11,38	0,480	50,86
513 h (10 h)	7,15	7,12	0,992	80,48
518 h (5 h)	5,21	4,44	0,816	115,20
523 h (0 h)	2,23	1,61	0,662	122,98
Janela média (horas)*	21,50	21,73	0,863	40,54

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney a 5%.

No presente estudo, a janela de nascimento teve início às 478 horas e término às 523 horas de incubação, totalizando 45 horas. Na avicultura comercial, geralmente as aves são

removidas dos nascedouros após 504 horas de incubação, o que é considerado ideal. Entretanto, o intervalo normal de nascimento do primeiro e do último pinto é maior que 48 horas³⁶.

Os resultados da janela de nascimento são ilustrados na Figura 1, na qual é possível observar a curva que expressa a distribuição dos nascimentos ao longo do tempo.

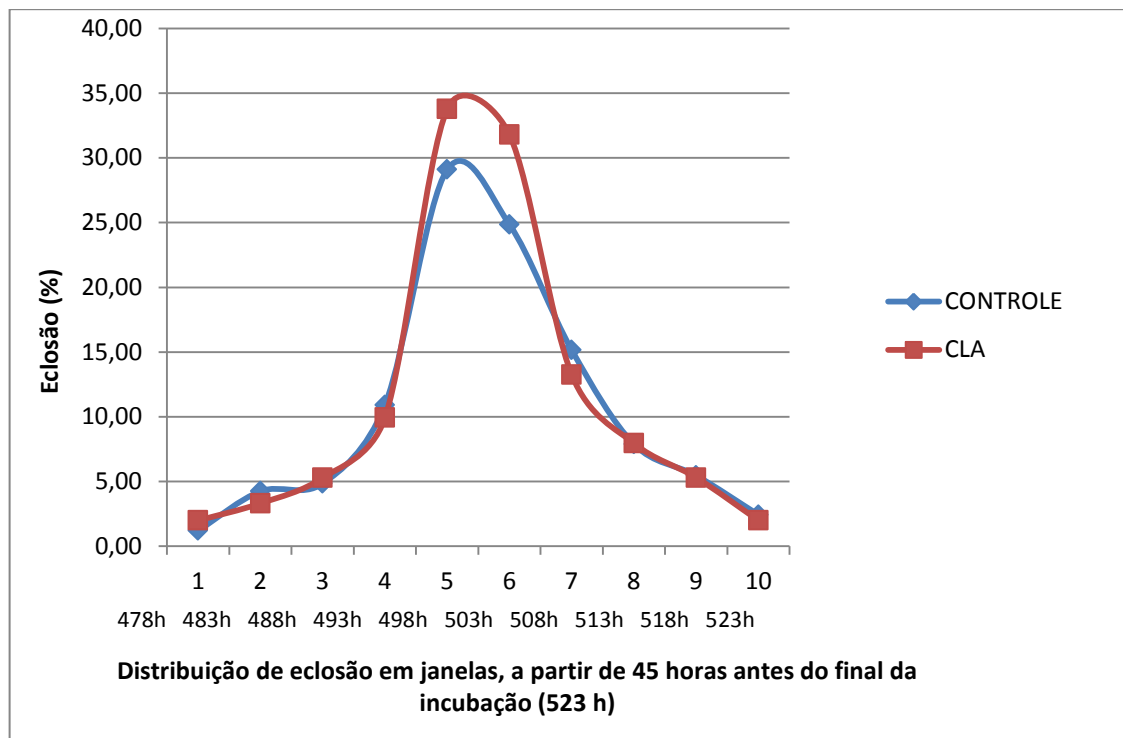


FIGURA 1 – Distribuição de nascimento dos pintainhos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA

Desvio-padrão da curva Controle: $\sigma = 9,79$; desvio-padrão da curva CLA: $\sigma = 11,58$.

Calil³⁷ afirmou que a melhor janela de nascimento é aquela cuja base é mais estreita, indicando menor intervalo de primeiros e últimos nascidos, e o pico é mais alto, representando maior concentração de nascimentos e maior simetria. Com base nesta informação, é possível afirmar que mesmo não havendo diferença nos intervalos de nascimento, a curva CLA apresentou melhor comportamento por ter maior pico de nascimentos.

Além disso, o teste de normalidade dos dados que geraram cada curva do gráfico exposto na Figura 1 resultou em $W=0,851$ ($P=0,060$) para o tratamento controle e $W=0,760$ ($P=0,004$) para o tratamento CLA, indicando que apenas a curva CLA apresentou distribuição normal dos dados. O desvio-padrão, por sua vez, foi de $SD=9,593$ para o tratamento controle, e $SD=11,787$, para o tratamento CLA.

É desejável que a curva de nascimentos seja mais estreita, pois assim as primeiras aves nascidas permanecerão menos tempo no nascedouro e serão mais rapidamente alojadas. Batal et al.³⁸ relataram que as aves permanecem em jejum entre o nascimento e alojamento, e quando este período é prolongado há comprometimento e retardo no uso da gema residual, podendo prejudicar o desempenho³⁹, e o desenvolvimento gastrointestinal⁴⁰ e do sistema imunológico.

Ao avaliar os resultados referentes ao embriodiagnóstico dos ovos não eclodidos, de matrizes suplementadas ou não com CLA, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre os dois tratamentos (Tabela 4).

TABELA 4 – Embriodiagnóstico (%) dos ovos não eclodidos, em relação ao total de ovos incubados, oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Diagnóstico (%)	Tratamentos		Valor de P
	Controle	CLA	
Ovos inférteis	17,39	16,95	1
Mortalidade fase I (0-4d)	10,04	9,00	0,868
Mortalidade fase II (5-17d)	11,65	11,65	1
Mortalidade fase III (18-21d)	0,43	0,87	1
Bicados não eclodidos	2,67	3,13	1
Contaminados	0,00	0,87	0,498
Malformações	0,00	0,00	1
Trincados	1,32	1,32	1
Má posição	0,00	0,00	1

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Exato de Fisher.

Para ambos os tratamentos, não foram constatados embriões com malformações ou mau posicionamento dentro do ovo. A idade avançada das matrizes pode ter contribuído para o número de ovos inférteis e para a mortalidade embrionária. McDaniel et al.⁴¹ encontraram maior taxa de mortalidade embrionária e redução no desempenho de incubação, atribuído à pior qualidade de casca em decorrência com a idade da matriz.

A esteroil-CoA dessaturase é uma enzima que catalisa a introdução de duplas ligações na formação dos ácidos graxos insaturados⁴². Uma vez que o CLA tem a capacidade de reduzir a atividade desta enzima³¹, esperava-se que pudesse ocorrer aumento significativo da mortalidade embrionária. Todavia, o nível de inclusão utilizado não foi suficiente para provocar alterações que pudessem interferir no desenvolvimento do embrião, mostrando-se seguro para a suplementação de matrizes.

Observaram-se maiores taxas de mortalidade nas fases II e I, respectivamente (Tabela 4). As principais causas de mortalidade embrionária inicial são atribuídas a problemas no tempo de armazenamento dos ovos, condições da sala de armazenagem, idade da matriz,

baixa frequência de coleta de ovos, frio intenso, mudanças bruscas de temperatura e/ou umidade, falhas no processo de desinfecção, qualidade da casca, deficiência nutricional e doenças no lote. Do 5º ao 17º dia, a mortalidade se deve à nutrição da matriz, contaminação dos ovos, casca muito fina, temperatura e umidade inadequadas, falta de oxigênio ou excesso de dióxido de carbono na sala de incubação e viragem inadequada dos ovos¹⁹.

O peso dos ovos, registrado desde a incubação, e também do pinto neonato (Tabela 5) não diferiram entre si ($P>0,05$). Os ovos incubados foram homogeneizados de acordo com o peso para evitar a influência do peso inicial nos valores registrados.

TABELA 5 – Parâmetros de incubação de ovos oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso do ovo na incubação (g)	70,39	70,02	0,226	3,92
Peso do ovo na transferência (g)	64,47	64,15	0,293	4,27
Perda de peso do ovo na transferência (%)	8,43	8,26	0,154	12,69
Peso do pinto neonato (g)	51,28	51,22	0,825	5,15
Relação peso PN / PO incubado (%)*	73,15	72,88	0,078	3,16

PN = Pinto neonato; PO = Peso do ovo.

Toda a perda de peso do ovo pode ser atribuída à perda de água. A quantidade de perda de água no momento da transferência não é necessariamente fixa⁴³. Em oposição aos resultados observados, Leone et al.⁴⁴ encontraram menor conteúdo de água em embriões com 13 a 19 dias de incubação, quando as matrizes receberam CLA em substituição ao óleo de canola.

Pesquisas têm mostrado que a nutrição da matriz é uma das responsáveis pela qualidade do pinto ao nascer^{2,45, 46}. Já o tamanho do pinto neonato também é afetado por diversos fatores, entre eles os níveis nutricionais do ovo, condições de incubação e tamanho do ovo⁴⁷. Contudo, no presente estudo, o comprimento e o escore de qualidade do pinto neonato não foram afetados ($P>0,05$) pela suplementação da matriz com CLA (Tabela 6), embora esse ácido graxo tenha a capacidade de alterar a composição da gema^{48,44} e, conseqüentemente, os nutrientes disponibilizados ao embrião em desenvolvimento.

TABELA 6 – Comprimento e qualidade física de pintainhos oriundos de ovos de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Tratamentos		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Comprimento (cm)	18,01	18,06	0,328	3,28
Escore de qualidade	87,15	88,36	0,543	17,53

Ao analisar os resultados referentes ao peso relativo de órgãos de embriões provenientes de matrizes suplementadas com CLA (Tabela 7), verificou-se que embriões oriundos de matrizes não suplementadas apresentaram maior peso corporal ($P=0,050$) e menor peso relativo de fígado ($P=0,028$). Ao nascimento, não houve efeito da suplementação da matriz no peso relativo de órgãos, mostrando que a diferença estabelecida na embriogênese não se manteve nos neonatos (Tabela 8).

TABELA 7 - Peso relativo (%) de órgãos de embriões com 18 dias de incubação provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Dieta da matriz		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso do embrião (g)	52,66 a	47,51 b	0,050	6,75
Peso líquido ¹ (g)	33,10	29,33	0,149	11,55
PR moela + proventrículo	2,29	2,71	0,211	18,73
PR fígado	0,873b	1,070 a	0,028	13,72
PR coração	0,440	0,501	0,236	15,44
PR pâncreas	0,03	0,03	1,000	22,22

¹Peso corporal do embrião sem o saco vitelínico; PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Nos resultados obtidos por Latour et al.⁴⁹, a suplementação de matrizes com CLA não causou alteração no peso dos embriões e dos pintos neonatos. Cherian et al.²³ também não observaram diferença da suplementação materna de CLA no peso da carcaça de pintos neonatos, embora tenha ocorrido diminuição do conteúdo de gordura da mesma e do fígado. De acordo com Aydin e Cook¹⁴, o CLA altera a composição da gema do ovo ao inibir a atividade da enzima estearoil-CoA desaturase, responsável pela inserção de duplas ligações em cadeias de ácidos graxos. Isso poderia comprometer a utilização da gema e o desenvolvimento e viabilidade do embrião.

TABELA 8 - Peso relativo (%) de órgãos de pintos neonatos provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Variáveis	Dieta da matriz		Valor de P	CV (%)
	Controle	CLA		
Peso corporal (g)	51,26	50,34	0,146	5,30
Peso líquido ¹ (g)	42,43	41,39	0,064	5,60
PR moela + proventrículo	4,78	4,78	0,990	14,49
PR fígado	1,99	1,94	0,182	8,45
PR coração	0,548	0,551	0,881	12,29
PR pâncreas	0,066	0,069	0,387	25,53

¹Peso corporal da ave sem o saco vitelínico; PR = Peso relativo.

Há várias evidências de que o CLA pode afetar o metabolismo hepático. Além disso, a menor deposição de gordura em tecidos adiposos, causada pelo CLA, pode aumentar os

níveis de lipídios no sangue, seguida pela deposição de gordura em outros tecidos, como no fígado⁵⁰. De fato, Kim et al.⁵¹ concluíram que a suplementação de CLA induziu à lipogênese no fígado de frangos de corte. DeLany et al.⁵² relataram maior peso de fígado e coração em ratos suplementados, devido à maior deposição lipídica, e atribuíram esta ocorrência à maior entrega de ácidos graxos ao fígado causada pelo CLA dietético. É possível que o acúmulo de lipídios no fígado, aliado ao aumento do trabalho deste órgão para metabolizar os ácidos graxos redirecionados do tecido adiposo, em resposta ao CLA, sejam responsáveis pelo seu maior peso.

Ao avaliar os valores referentes à biometria intestinal dos embriões aos 18 dias de incubação, ao nascimento (Tabela 9), não se observou, em nenhuma das idades, efeito dos tratamentos sobre as variáveis avaliadas ($P > 0,05$). Portanto, a suplementação da matriz não foi, inicialmente, capaz de influenciar a biometria intestinal da progênie.

TABELA 9 - Biometria intestinal de embriões aos 18 dias de incubação e pintos neonatos, provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Peso relativo intestino total (mg)	Peso relativo intestino delgado (mg)	Comprimento Intestino total (cm)	Comprimento intestino delgado (cm)
Embrião aos 18 dias de incubação				
Controle	841	572	21,19	19,82
CLA	924	254	20,60	18,57
Valor de P	0,137	0,446	0,640	0,355
CV (%)	8,72	14,73	8,86	10,20
Neonato				
Controle	2,56	2,38	34,48	31,74
CLA	2,57	2,31	34,71	31,88
Valor de P	0,934	0,516	0,755	0,837
CV (%)	21,60	18,69	9,23	9,41

Embriões de matrizes suplementadas apresentaram menor profundidade de cripta duodenal ($P < 0,001$) e maior altura de vilos de jejuno ($P < 0,001$). O fornecimento de CLA à matriz resultou em menor profundidade de cripta do duodeno ($P = 0,003$) e jejuno ($P < 0,001$), e em menor altura de vilos de íleo ($P = 0,003$) da progênie, após a eclosão (Tabela 10).

Em diferentes trabalhos de pesquisa, inclusive no presente estudo, foram apresentados resultados diversificados quanto ao real efeito do CLA sobre o desenvolvimento histológico intestinal. A exposição precoce a ácidos graxos das famílias ômega-3 e 6 pode modular a composição em ácidos graxos poli-insaturados de tecidos e membranas celulares de pintos, inclusive no intestino delgado⁵³. Além de ajudar a manter a integridade estrutural de

membranas celulares⁵⁴, há evidências de que o CLA possa modular a expressão de proteínas no estômago de ratos, causando efeito prebiótico em espécies bacterianas do intestino⁵⁵.

TABELA 10 - Altura de vilo e profundidade de cripta (μm) do intestino de embriões aos 18 dias de incubação e pintos neonatos, provenientes de matrizes suplementadas com CLA

Tratamento	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta
<i>Embrião aos 18 dias de incubação</i>						
Controle	52	33 a	49 b	27	44 b	21
CLA	48	27 b	52 a	26	68 a	21
Valor de P	0,100	<0,001	<0,001	0,156	0,919	0,802
CV (%)	21,88	25,00	14,18	18,03	17,76	12,88
<i>Neonato</i>						
Controle	208 a	66 a	120	42 a	81 a	49
CLA	206 b	61 b	113	47 b	72 b	52
Valor de P	0,712	0,003	0,091	<0,001	0,003	0,068
CV (%)	10,96	14,45	16,40	15,26	20,62	14,64

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P < 0,05$).

CONCLUSÃO

A suplementação de matrizes na ração com 0,025% de CLA não influencia os parâmetros de incubação, o peso e a qualidade física dos pintos à eclosão, mas aumenta o peso relativo de fígado dos embriões e altera a histomorfometria dos segmentos do intestino delgado de embriões e neonatos.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Meija L, McDaniel CD, Corzo A. Dietary influence of digestible lysine concentration on Cobb 500 hen broiler breeder reproductive performance. *Poult Sci* 2012; 91:426-31.
2. Kidd MT, Araujo L, Araujo C, McDaniel CD, McIntyre D. A study assessing hen and progeny performance through dam diet fortification with a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product. *J Appl Poult Res* 2013; 22:872-7.
3. Haq A, Bailey CA, Chinnah A. Effect of β -carotene, canthaxanthin, lutein, and vitamin E on neonatal immunity of chicks when supplemented in the broiler breeder diets. *Poult Sci* 1996; 75:1092-7.
4. An Shengying, Liu G, Guo Y, Sun Q. Effects of maternal and posthatch dietary oils and vitamin E on antioxidant capability and muscle quality of the progeny broilers. *J Poult Sci* 2012, 49:191-5.

5. Qiao HG. Feeding broiler breeders for chick quality is the premise of good start-up of broiler performance [internet]. 2008. [acesso em 2015 ago 15]. Disponível em: <http://www.championfeeds.com/downloads/documentloader.aspx?id=1186>
6. Herzallah S. Enrichment of conjugated linoleic acid (CLA) in hen eggs and broiler chickens meat by lactic acid bacteria. *Brit Poult Sci.* 2013; 54(6):747-752.
7. Preuss MB, Rohlfes ALB, Baccar NM, Marquardt L, Oliveira MSR, Schneider RCS. Ácido linoleico conjugado: uma breve revisão. *Rev Jov Pesq.* 2013; 3(2):134-146.
8. Dilzer A, Park Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012; 52(6):488-513.
9. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-1206.
10. Santos-Zago LF, Botelho AP, Oliveira AC. Os efeitos do ácido linoleico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro. *Rev Nutr.* 2008; 21(2):195-221.
11. Sakomura NK, Santos AL, Freitas ER, Rabello CBV. Programas de alimentação para matrizes pesadas após o pico de postura, com base em modelos para prever a exigência energética. *R Bras Zootec* 2004; 33(5):1197-208.
12. Choi Y-H. Conjugated linoleic acid as a key regulator of performance, lipid metabolism, development, stress and immune functions, and gene expression in chickens. *Asian-Aust J Anim Sci.* 2009; 3:448-458.
13. Aydin R, Pariza MW, Cook ME. Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J Nutr.* 2001; 131:800-6.
14. Aydin R, Cook ME. The effect of dietary conjugated linoleic acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. *Poult Sci.* 2004, 83:2016-22.
15. Azadegan M, Hassanabadi A, Mirghelenj SA, Kermanshahi H. Effect of in ovo injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broilers chickens. *Span J Agric Res.* 2014; 12(2): 455-61.
16. Marcolla CS. Efeitos do ácido linoleico conjugado e da luteína na resposta imune de frangos de corte submetidos a desafio imunológico. *Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI Salão de Iniciação Científica da UFRGS; Porto Alegre. Porto Alegre: UFRGS; 2014.*
17. Lee KN, Parize MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 248(3):817-821.
18. Hur SJ, Kang GH, Jeong JY, Yang HS, Há YL, Park GB, Joo ST. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid characteristics of egg yolk. *Asian_aust J Anim Sci.* 2003; 16(8):1165-1170.
19. Plano CM, Di Matteo AM. Atlas de patologia de la incubación del pollo. Madrid: Pfizer Salud Animal; 2008.

20. Tona K, Bamelis F, Ketelaere BD, Bruggeman V, Moraes VMB, Buyse J, Onagbesan O, Decuypere E. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult Sci.* 2003; 82:736-741.
21. Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology.* 3d. New York: McGraw-Hill; 1968.
22. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing.* 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
23. Cherian G, W Ai, Goeger MP. Maternal dietary conjugated linoleic acid alters hepatic triacylglycerol and tissue fatty acids in hatched chicks. *Lipids.* 2005; 40(2):131-136.
24. Muma E, Palander S, Näsi M, Pfeiffer A-M, Keller T, Grünari JM. Modulation of conjugated linoleic acid-induced loss of chicken egg hatchability by dietary soybean oil. *Poult Sci* 2006; 85:712-20.
25. Aydin R, Cook ME. The influence of conjugated linoleic acid enriched tallow on egg hatchability and quality in chicken. *Int J Poult Sci.* 2005; 4(8):536-42.
26. Aydin R, Karaman M, Toprak HHC, Ozugur AK, Aydin D, Cicek T. The effect of long - term feeding of conjugated linoleic acid on fertility in Japanese quail. *S African J Anim Sci.* 2006; 36(2):99-104.
27. Latour MA, Devitt AA, Meunier RA, Stewart JJ, Watkins BA. Effects of conjugated linoleic acid. 1. Fatty acid modification of yolks and neonatal fatty acid metabolism. *Poult Sci.* 2000; 79:817-821.
28. Rondón EOO, Murakami AE. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. *Acta Scient.* 1998; 20(3):373-82.
29. Gorman KB, Esler D, Walzem RL, Williams TD. Plasma yolk precursor dynamics during egg production by female greater scaup (*Aythya marila*): Characterization and indices of reproductive state. *Physiol Biochem Zool* 2009; 82(4):372-81.
30. Bauer R, Plieschnig JA, Finkes T, Riegler B, Hermann M, Schneider WJ. The developing chicken yolk sac acquires nutrient transport competence by an orchestrated differentiation process of its endodermal epithelial cells. *J Biol Chem.* 2013; 288(2):1088-1098.
31. Lee KN, Pariza MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic Stearoyl-CoA Desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 248: 817-21.
32. Silva MC, Noleto RA, Vaz RGMV, Costa ES, Sousa LF, Rodrigues KF, Sousa JPL, Cruz LA, Fonseca FLR. Gravidade específica de ovos de matrizes pesadas com diferentes idades no rendimento de incubação e no peso dos pintos pós-eclosão. *Rev Bras Saúde Prod Anim.* 2016; 17(2):214-221.
33. Fairchild BD, Christensen VL, Grimes JL, Wineland MJ, Bagley LG. Hen age and relationship with embryonic mortality and fertility in commercial turkeys. *J Appl Poult Res* 2002; 11:260-5.

34. Shanawany MM. Inter-relationship between egg weight, parental age and embryonic development. *Br Poult Sci* 1984; 25(4):449-55.
35. Watkins BA. Biochemical and physiological aspects of polyunsaturates. *Poult Avian Biol Rev.* 1995; 6(1):1-18.
36. Sklan D, Noy Y, Hoyzman A, Rozemboim I. Decreasing weight loss in the hatchery by feeding chicks and poults in hatching trays. *J Appl Poult Res.* 2000, 9:142-8.
37. Calil TAC. O controle da janela de nascimento [internet]. 2010. [acesso em 2015 out 12]. Disponível em: www.avisite.com.br/cet/img/20100806_janela.pdf
38. Batal AB, Parsons CM. Effect of fasting versus feeding oasis after hatching on nutriente utilization in chicks. *Poult Sci.* 2002; 81:853-859.
39. Ganjali H, Raji AR, Zarghi H. Effect of post hatch delayed access to ffeed on performance, GIT physical and histological development and yolk absorption in Young broiler chicks. *Biomed Pharmacol J.* 2015; 8(2):945-955.
40. Tabedian AS, Samie A, Pourreza J, Sadeghi GH. Effect of fasting or post-hatch diet's type on cjick development. *J Anim Vet Advances.* 2010; 9(2):406-413.
41. McDaniel GR, Roland DA, Coleman MA. The effect of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality. *Poult Sci.* 1979; 58(1):10-3.
42. Attie AD, Krauss RM, Gray-Keller, Brownlie A, Miyazaki M, Kastelein JJ, Lusi AJ, Stalenhoef AFH, Stoehr JP, Hayden MR, Ntambi JM. Relationship between stearyl-CoA desaturase activity and plasma triglycerides in human and mouse hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 2002; 43:1899-907.
43. Decuypere E, Banwell R, Hemeryck P, Moro D. Desafios do processo de incubação. In: Macari M, Gonzales E, Patrício IS, Nääs IA, Martins PC. *Manejo da incubação.* Jaboticabal: FACTA; 2013. 3.ed. p.299-314.
44. Leone VA, Worzalla SP, Cook ME. Evidence that maternal conjugated linoleic acid negatively affects lipid uptake in a late-stage chick embryos resulting in increased embryonic mortality. *Poult Sci.* 2010; 89:621-32.
45. ZhangW, Zhang KY, Ding ZM, Bai Sp, Hernandez JM, Yao B, Zhu Q. Influence of canthaxanthin on broiler breeder reproduction, chick quality, and performance. *Poult Sci* 2011; 90(7):1516-22.
46. Kidd MT. A treatise on chicken dam nutrition that impacts on progeny. *J World's Poult Sci* 2003; 59(4):475-94.
47. Almeida JG, Dahlke F, Maiorka A, Faria Filho DE, Oelk CA. Efeito da idade da matriz no tempo de eclosão, tempo de permanência do neonato no nascedouro e o peso do pintainho. *Arch Vet Sci.* 2006; 11(1):45-49.
48. Aydin R, Pariza MW, Cook M. Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J. Nutr.* 2001, 131(3):800-6.

49. Latour MA, Devitt AA, Meunier RA, Stewart JJ, Watkins BA. Effects of conjugated linoleic acid. 2. Embryonic and neonatal growth and circulating lipids. *Poult. Sci.* 2000, 79:822-6.
50. Larsen TM, Toubro S, Astrup A. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. *J. Lipid Res.* 2003, 44:2234-41.
51. Kim JH, Jeong WS, Kim IH, Kim HJ, Kim SH, Kang GH, Lee HG, Yoon HG, Ham HJ, Kim YJ. J. Effect of an oil byproduct from conjugated linoleic acid (CLA) purification on CLA accumulation and lipogenic gene expression in broilers. *Agric. Food. Chem.* 2009, 57(6):2397-404.
52. DeLany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, Westi DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduce body fat content in mice without affecting energy intake. *Am. J. Physiol.* 1999, 276(45):1172-1179.
53. Neumann P. Evaluation of membrane fatty acid composition and transport of lipid nutrients into the chick embryo. B.S. (Hons. thesis). Oregon State University. 2015.
54. Aluko RE. Functional foods and nutraceuticals. Winnipeg:Springer; 2012.
55. Chaplin A, Parra P, Serra F, PALOU A. Conjugated Linoleic Acid Supplementation under a High-Fat Diet Modulates Stomach Protein Expression and Intestinal Microbiota in Adult Mice. *Plos ONE* 2015, 10(4).

CAPÍTULO 4 - DESEMPENHO, DESENVOLVIMENTO GASTROINTESTINAL E PESO RELATIVO DE ÓRGÃOS DE PINTOS DE CORTE ORIUNDOS DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E SUPLEMENTADOS NA FASE PÓS-ECLOSÃO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desempenho, o desenvolvimento gastrointestinal e dos órgãos da progênie de matrizes suplementadas com CLA e suplementada após a eclosão. Foram incubados 540 ovos de dois lotes de matrizes suplementadas na ração com CLA (0 ou 0,025%), em duas incubadoras. Dietas pós-eclosão (0 ou 0,025% de CLA) foram fornecidas por 12 horas, e 320 pintos foram alojados em delineamento inteiramente casualizado e esquema 2x2 (CLA materno x CLA pós-eclosão), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de 10 aves cada. Após o período de 12 horas pós-eclosão e aos sete dias de idade, avaliaram-se o desenvolvimento intestinal, o peso relativo (PR) de órgãos e o desempenho pré-inicial. Aplicou-se análise de variância ($P < 0,05$). A suplementação da matriz e da progênie aumentou o peso corporal (PC) após 12 horas, e reduziu o PR de pâncreas aos sete dias. Os PR de moela+proventrículo e fígado foram maiores quando houve apenas uma fonte de suplementação, aos sete dias. A suplementação pós-eclosão aumentou os comprimentos de intestino total e delgado (ID), e a suplementação materna aumentou o comprimento de ID. Os PR de intestino total e ID foram menores quando não houve suplementação. O CLA, oferecido às matrizes ou à progênie, influenciou a histomorfometria intestinal em todas as idades avaliadas. A suplementação da matriz garantiu maior PC e ganho de peso aos sete dias. Conclui-se que o CLA oferecido à matriz e à progênie altera o desenvolvimento gastrointestinal e dos órgãos. Considerando o desempenho, recomenda-se a suplementação da matriz com CLA.

Palavras-chave: Ácido graxo poli-insaturado; histomorfometria intestinal, nutrição pós-eclosão.

CHAPTER 4 – PERFORMANCE, GASTROINTESTINAL DEVELOPMENT AND ORGANS RELATIVE WEIGHT OF BROILER CHICKS FROM BREEDERS SUPPLEMENTED WITH CONJUGATED LINOLEIC ACID, SUPPLEMENTED IN THE POST-HATCHING PHASE

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the performance, gastrointestinal and organs development of the progeny from broiler breeders supplemented with CLA and supplemented in the post-hatching phase. A total of 540 eggs from two breeder flocks supplemented with CLA (0 or 0.025%) were incubated in two hatchers. Post-hatch diets (0 or 0.025% of CLA) were provided for 12 hours, and 320 chicks were housed in a completely randomized design and 2x2 scheme (maternal CLA x post-hatch CLA), totalizing four treatments and eight replicates of 10 birds each. After the period of 12 hours after hatching and at 7 days old, intestinal development, organs relative weight (RW) and pre-starter performance were evaluated. Analysis of variance ($P < 0.05$) was applied. The supplementation of the breeder and progeny increased body weight (BW) after 12 hours, and reduced pancreas RW at 7 days. The gizzard+proventriculus and liver RW increased when only one source of supplementation was provided, at seven days. Post-hatch supplementation increased total and small intestine (SI) lengths, and maternal supplementation increased SI length. Total intestine and SI RW were lower when there was no supplementation. The CLA, offered to the breeders or the progeny, influenced intestinal histomorphometry at all evaluated ages. Breeder supplementation led to higher BW and weight gain at seven days. In conclusion, CLA offered to the breeder and the progeny alters the gastrointestinal and organs development. Considering the performance, it is recommended to supplement the breeder with CLA.

Keywords: Intestinal histomorphometry, polyunsaturated fatty acid, post-hatch nutrition.

INTRODUÇÃO

Na fase embrionária, a ave depende dos nutrientes contidos no ovo para seu desenvolvimento. Diferente do que acontece em mamíferos, não há contato materno, e por isso deve-se buscar a produção de ovos com o máximo de nutrientes disponíveis ao embrião. Assim, a nutrição da matriz apresenta importância fundamental nas características expressas pela progênie. Não somente nutrientes, mas também imunoglobulinas, responsáveis pela imunidade passiva, são transferidas pela matriz.

Para garantir a qualidade da progênie, também é necessário atentar para o provimento de alimentação exógena tão logo seja possível. O conteúdo do saco vitelínico é capaz de fornecer proteínas e energia imediatas ao pinto neonato, mas não é suficiente para que intestino e o sistema imunológico se desenvolvam adequadamente. Além disso, tê-lo como única fonte de nutrientes pode prejudicar o ganho de peso corporal¹.

Após a eclosão, ocorre uma mudança abrupta da fonte de nutrientes para a ave e a colonização do trato gastrointestinal. A ingestão de alimento determina o desenvolvimento da mucosa do intestino e estruturas associadas², a secreção de enzimas digestivas e a microbiota local.

Para evitar os prejuízos do jejum pós-eclosão ao desenvolvimento do sistema imune e do trato gastrointestinal e ao desempenho produtivo dos pintos, dietas pós-eclosão vêm sendo formuladas. Durante esse período determinante para o sucesso de toda a produção, o fornecimento de suplementos com propriedades benéficas às aves também constitui estratégia a ser considerada. Boersma et al.³ encontraram maior peso corporal em aves que receberam suplemento nutricional hidratado na fase pós-eclosão. Pintos alimentados com suplemento nutricional pós-eclosão obtiveram melhor peso e ganho de peso na fase inicial⁴.

Para Makkar et al.⁵, a suplementação pós-eclosão com membranas de casca de ovo resultou em melhor desempenho, imunidade e aumentou a resistência das aves a endotoxinas produzidas por *Salmonella*. Cengiz et al.⁶ observaram maior desenvolvimento intestinal, com maior altura de vilo e maior profundidade de cripta em pintos aos dez dias de idade, quando não houve jejum pós-eclosão e eles foram suplementados com *blends* de ácidos orgânicos. Melhor qualidade intestinal também foi observada em frangos em idade de abate, quando estes receberam simbióticos após a eclosão⁷.

O CLA é um ácido graxo poli-insaturado natural, que pode ser encontrado principalmente na gordura do leite e na carne de ruminantes⁸, e compreende o grupo de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico⁹. Uma sugestão é que ele possa favorecer o crescimento e provavelmente, a eficiência alimentar em roedores¹⁰. O CLA

também pode melhorar a eficiência alimentar em suínos^{11,12,13} e tem sido relacionado a propriedades imunomoduladoras¹⁴.

Quando desafiado, o animal mobiliza nutrientes para a defesa do organismo. É possível que animais suplementados com CLA possam reponder aos desafios com maior eficiência, evitando que nutrientes que seriam direcionados ao desenvolvimento e produção sejam utilizados para defesa do organismo.

O CLA oferecido na dieta pode ser incorporado aos ácidos graxos de membranas celulares¹⁵. Esse ácido graxo também interfere na atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase¹⁶, e aumenta a proporção de ácidos graxos saturados em relação à de insaturados na gema¹⁷, o que pode alterar os nutrientes do conteúdo do saco vitelínico, tão importante para o desenvolvimento intestinal inicial. Martins et al.¹⁸ demonstraram que a utilização de 0,025% de CLA altera o perfil de ácidos graxos na gema, contudo, sem modificar a relação ácidos graxos saturados: insaturados.

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação com CLA na dieta de matrizes de frango de corte e na ração pós-eclosão da progênie sobre o peso relativo de órgãos, a biometria intestinal e a histomorfometria de segmentos do intestino delgado dos pintos até os sete dias de idade, bem como o desempenho pré-inicial dessas aves.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo compõe o projeto de pesquisa protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da UFG, sob o número 011/2015, e aprovado no dia 03/04/2015. Foram distribuídos, em duas incubadoras, ovos provenientes de dois lotes comerciais de matrizes de frangos de corte (*Gallus gallus*), pertencentes à linhagem Cobb 500[®], com 58 semanas de idade. Durante 26 dias, um dos lotes foi suplementado com 0,042% do produto comercial (Lutalin[®] - BASF), para garantir, conforme as recomendações do fabricante, 0,025% de inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA; *trans*-10, *cis*-12) na dieta das matrizes.

A composição das dietas experimentais para matrizes é apresentada na Tabela 1.

Considerando que a formação da gema leva aproximadamente 21 dias, as aves foram suplementadas por 26 dias, período suficiente para a indução de modificações na gema por meio da dieta. Após esse período, 820 ovos, 410 por tratamento, foram coletados aleatoriamente no dia da postura e passaram por sanitização seca, sendo fumigados com paraformol. Os ovos foram encaminhados à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, onde foram selecionados 270 ovos por tratamento para

incubação, considerando-se a integridade da casca, a apresentação de forma elíptica, e o peso médio de $70,30g \pm 4,83g$. Os ovos foram armazenados a $20^{\circ}C$ por 66 horas, e em seguida, pré-aquecidos a $26^{\circ}C$ por 6 horas, completando 72 horas de armazenamento antes de serem incubados.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais para matrizes (%) com base na matéria natural

INGREDIENTES	Controle	CLA
Milho	68,179	68,128
Farelo de soja	17,416	17,425
Calcário	7,876	7,876
Caulim	4,000	4,000
Farinha de carne e ossos	1,500	1,5000
Sal comum	0,223	0,223
Fosfato bicálcico	0,200	0,200
Bicarbonato de sódio	0,150	0,150
Suplemento mineral ¹	0,150	0,150
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
Colina	0,082	0,082
DL-metionina	0,080	0,080
L-treonina	0,030	0,030
Antioxidantes ³	0,016	0,016
CLA ⁴	-	0,042
Enzima ⁵	0,003	0,003
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2736	2734
Proteína bruta (%)	13,90	13,90
Ácido linoleico (%)	2,50	2,57
Lisina digestível (%)	0,60	0,60
Metionina + cistina (%)	0,47	0,46
Treonina digestível (%)	0,50	0,50
Cálcio (%)	3,29	3,29
Fósforo disponível (%)	0,20	0,20
Sódio (%)	0,34	0,34

¹Suplemento mineral - níveis de garantia por quilograma de produto: Manganês 80.000 mg, Zinco 70.000 mg, Ferro 40.000 mg, Cobre 8.000 mg, Iodo 1.000 mg; ²Suplemento vitamínico - níveis de garantia por quilograma do produto: vitamina E 110.000 mg, vitamina A 14.000 UI, vitamina D3 3.000 UI, vitamina K3 6.000 mg, vitamina B1 3.000 mg, vitamina B2 12.000 mg, vitamina B6 6.000 mg, vitamina B12 30 mg, niacina 60.000 mg, ácido pantotênico 20.000 mg, ácido fólico 4.000 mg, biotina 300 mg.. ³Etoxiqum 66,6%, BHA 99% e Ácido cítrico 99,5%. ⁴CLA (Lutalin®). ⁵Enzima fitase (Natuphos® 10.000).

Após serem enumerados, de acordo com os tratamentos, os ovos foram distribuídos em duas incubadoras (modelo MA01DA – Gaiolas Almeida, Aparecida de Goiânia - GO) com capacidade para 270 ovos, com três bandejas cada e capacidade de acomodar 90 ovos por bandeja, sendo a metade (45 ovos) preenchida por cada tratamento. As incubadoras possuíam sistema para viragem automática dos ovos a cada duas horas e painel para controle da temperatura e monitoramento da umidade relativa. Os ovos foram mantidos a

temperatura constante de 37,7°C e umidade por volta de 60%, verificadas constantemente com o auxílio de termohigrômetros.

A partir do momento da eclosão dos cinco primeiros pintos, realizou-se o acompanhamento dos nascimentos, com retirada das aves completamente secas das incubadoras a cada cinco horas, até que as eclosões cessassem por completo, o que ocorreu às 523 horas de incubação.

Após o nascimento, todas as aves receberam dietas pós-eclosão trituradas (3g por ave), acrescidas ou não de 0,025% de CLA, para consumo por 12 horas, antes do alojamento. Assim como para as matrizes, a suplementação pós-eclosão também foi realizada utilizando 0,042% de um produto comercial (Lutalin[®] - BASF), para garantir, conforme as recomendações do fabricante, 0,025% de inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA; *trans*-10, *cis*-12). As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as recomendações estabelecidas por Rostagno et al.¹⁹. Além da ração, os pintos também receberam água à vontade, para evitar desidratação e comprometimento de sua qualidade.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, com adição de CLA à dieta das matrizes e/ou à dieta pós-eclosão (dieta da matriz – controle ou 0,025% de CLA; dieta pós-eclosão – controle ou 0,025% de CLA), totalizando 4 tratamentos.

As variáveis avaliadas incluíram o peso relativo dos órgãos, peso relativo e comprimento do intestino total e delgado, e determinação da altura de vilo e profundidade de cripta dos segmentos do intestino delgado após o período de suplementação pós-eclosão e aos sete dias de idade. Além disso, determinou-se o desempenho pré-inicial dos pintos.

Antes do alojamento, cinco aves por tratamento foram eutanasiadas e pesadas com e sem o saco vitelínico. Fígado, coração, moela+proventrículo e pâncreas foram pesados para determinação do peso relativo, calculado por meio da seguinte fórmula: peso relativo = (100 x peso do órgão) / peso da ave.

Também verificou-se o peso e o comprimento de intestino total e delgado, com coleta de fragmentos do duodeno, jejuno e íleo.

As aves foram então alojadas em baterias de aço galvanizado, contendo comedouros e bebedouros do tipo linear, aquecidas por lâmpada incandescente de 100 volts. Foram utilizadas 240 aves, distribuídas em 4 tratamentos e 6 repetições de 10 aves cada.

Após o alojamento, todas as aves passaram a receber a dieta pré-inicial comum, sem suplementação de CLA. A ração pós-eclosão controle e a ração pré-inicial apresentavam

a mesma formulação, diferindo apenas quanto à forma física, sendo a ração pós-eclosão triturada e a pré-inicial farelada. A composição das rações é expressa na Tabela 2.

TABELA 2 – Composição das dietas experimentais fornecidas à progênie (%), com base na matéria natural

INGREDIENTES	TRATAMENTO	
	Controle	CLA
Milho		52,00
Farelo de soja		38,90
Óleo de soja		2,50
Fosfato bicálcico		2,00
Amido	1,54	1,50
Calcário		1,08
Sal comum		0,57
L-Lisina		0,40
DL-Metionina		0,40
L-Treonina		0,20
Premix mineral e vitamínico ¹		0,40
CLA ²	0,00	0,04
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Proteína bruta (%)		22,46
Energia metabolizável (kcal/kg)		2950
Cálcio (%)		1,00
Fósforo disponível (%)		0,48
Ácido linoleico (%)		2,60
Lisina digestível (%)		1,41
Metionina digestível (%)		0,69
Metionina + cistina digestível (%)		0,98
Treonina digestível (%)		0,94
Cloro (%)		0,39
Potássio (%)		0,86
Sódio (%)		0,24
CLA trans-10, cis-12 (%)	0,00	0,02

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg): Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg.

²Lutalin (BASF®)

Aos sete dias de idade, novamente duas aves por repetição foram eutanasiadas por deslocamento cervical para verificação do peso corporal, pesagem de órgãos e intestino, verificação do comprimento de intestino e coleta de fragmentos do duodeno, jejuno e íleo.

Os fragmentos foram fixados em solução de formalina a 10% tamponada, processados conforme a metodologia descrita por Luna²⁰ e coradas com Hematoxilina-Eosina (HE). Para cada fragmento coletado, uma lâmina histológica foi confeccionada. Após este processo, as imagens foram obtidas em microscópio Leica DM550, e digitalizadas para o

computador com o auxílio da câmera de vídeo Leica ICC50. Utilizou-se a objetiva de 4x para a captura das imagens das vilosidades intestinais, objetiva de 10x para as criptas, e o software Image J para verificação dos índices histomorfométricos (altura de vilosidade e profundidade de cripta). Foram avaliadas 20 vilosidades e 20 criptas intestinais por lâmina. Foram confeccionadas, por tratamento, para cada segmento, 5 lâminas após o período pós-eclosão e 12 lâminas aos sete dias de idade.

Para avaliação do desempenho, as aves foram pesadas antes do período de 12 horas, e as aves e as dietas foram pesadas antes do alojamento e aos sete dias, para cálculo do peso corporal médio, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade criatória.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$), utilizando o software R²¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3, observa-se que, após 12 horas de suplementação pós-eclosão, houve interação dos fatores para peso corporal ($P < 0,001$) e peso relativo do pâncreas ($P = 0,026$). O desdobramento é apresentado na Tabela 4.

TABELA 3 - Peso relativo (%) em relação ao peso corporal de órgãos de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Tratamentos (Dietas)	Peso corporal (g)	Peso líquido ¹ (g)	PR ² moela + proventrículo	PR ² fígado	PR ² coração	PR ² pâncreas
MATRIZ						
Controle	47,02 b	44,72	10,48	3,43	0,82	0,28
CLA	51,51 a	45,69	11,07	3,55	0,89	0,29
PÓS-ECLOSÃO						
Controle	47,11 b	45,74	10,46	3,40	0,88	0,27
CLA	51,42 a	44,68	11,09	3,58	0,83	0,29
Valor de P						
Dieta Matriz	<0,001	0,647	0,417	0,499	0,335	0,503
Dieta Pós-eclosão	<0,001	0,616	0,387	0,338	0,469	0,360
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	<0,001	0,376	0,351	0,974	0,433	0,026
CV (%)	1,00	9,99	14,35	11,67	16,56	14,44

¹Peso corporal da ave sem o saco vitelínico; ²PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P < 0,05$).

Pintos provenientes de matrizes suplementadas, também suplementados na fase pós-eclosão, apresentaram maior peso corporal e o menor peso foi obtido em pintos não

suplementados oriundos de matrizes também não suplementadas (Tabela 4). Demonstra-se, com isso, que a combinação da suplementação da matriz e da progênie conduziu ao melhor resultado. O CLA tem a habilidade de estimular o desenvolvimento do trato gastrointestinal²², o que é importante nos estágios iniciais de vida dos pintos, pois refletem a capacidade de aproveitamento dos nutrientes e o desempenho ao longo da criação.

TABELA 4 – Desdobramento das interações significativas em pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
Peso corporal	Controle	43,47 Bb	50,58 Ba
	CLA	50,76 Ab	52,27 Aa
PR ¹ pâncreas	Controle	0,294 Aa	0,262 Ba
	CLA	0,256 Ab	0,327 Aa

¹PR = Peso relativo (%).

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

O mesmo comportamento foi observado para a variável peso relativo de pâncreas, que foi maior em aves provenientes de matrizes suplementadas e que também receberam o CLA na dieta (Tabela 4). O presente trabalho corrobora os resultados de Noto et al.²³, que provaram, em ratos, a capacidade do CLA em preservar a função pancreática.

Aos sete dias de idade (Tabela 5), houve interação da dieta da matriz e da dieta pós-eclosão para os pesos relativos de moela + proventrículo (P<0,001), de fígado (P=0,002) e de pâncreas (P=0,002). O desdobramento é apresentado na Tabela 6.

O fornecimento de CLA às matrizes e aos pintos resultou em menor peso relativo de moela + proventrículo. O peso relativo deste órgão também foi reduzido em pintos não suplementados oriundos de matrizes também não suplementadas, se comparados à progênie de matrizes que receberam o ácido graxo. Aos sete dias de idade, a progênie de matrizes que receberam o produto, porém não suplementada diretamente de CLA, apresentou maiores pesos relativos de fígado e de pâncreas (Tabelas 6). A literatura mostra que o CLA tem a capacidade de aumentar o peso de fígado, devido ao maior depósito de gordura neste órgão^{24,25,26}.

Os resultados expressos na Tabela 6 indicam possível limitação na capacidade de sua utilização pelos pintos aos sete dias de idade, capacidade essa, modulada pela disposição lipídica ainda presente do saco da gema e pela metabolização hepática.

TABELA 5 - Peso relativo (%) de órgãos de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Tratamentos (Dietas)	PR ¹ moela + proventrículo	PR ¹ fígado	PR ¹ coração	PR ¹ pâncreas
MATRIZ				
Controle	8,00 a	3,77 a	1,000	0,453
CLA	7,42 b	3,57 b	0,966	0,465
PÓS-ECLOSÃO				
Controle	7,55	3,60	0,969	0,450
CLA	7,88	3,74	1,004	0,468
Valor de P				
Dieta Matriz	0,037	0,023	0,336	0,525
Dieta Pós-eclosão	0,229	0,104	0,419	0,327
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	<0,001	0,002	0,652	0,002
CV (%)	11,67	7,67	14,83	13,42

¹PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

É possível que a suplementação conjunta – tanto na matriz quanto no neonato – tenha causado o acúmulo de CLA no organismo, ultrapassando a recomendação designada pelos fabricantes do suplemento, e conduzido ao menor peso dos órgãos avaliados, embora o peso de fígado não tenha aumentado, não indicando sobrecarga do mesmo.

TABELA 6 - Desdobramento das interações significativas para peso relativo (%) de órgãos de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
PR¹ moela + proventrículo	Controle	7,22 Ab	8,78 Aa
	CLA	7,88 Aa	6,97 Bb
PR¹ fígado	Controle	3,57 Ab	3,98 Aa
	CLA	3,64 Aa	3,51 Ba
PR¹ pâncreas	Controle	0,425 Ab	0,505 Aa
	CLA	0,475 Aa	0,432 Ba

¹PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

Após o período de 12 horas, não houve efeito da dieta da matriz e da progênie sobre as variáveis avaliadas (Tabela 7). Aos sete dias de idade, a suplementação pós-eclosão aumentou os comprimentos de intestino total e delgado (P=0,005 e P=0,004, respectivamente), e o CLA aumentou o comprimento de intestino delgado (P=0,014). Houve interação dos fatores para os pesos relativos de intestino total (P<0,001) e delgado (P=0,008)

(Tabela 8). Em ambos os casos, o peso relativo foi menor quando não houve nenhuma fonte de suplementação; entretanto, o duplo fornecimento de CLA também não proporcionou os melhores valores, sendo, de acordo com tais resultados, mais indicada a suplementação apenas da matriz ou do neonato (Tabela 9).

TABELA 7 - Biometria intestinal de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Tratamentos	Peso relativo intestino total (g)	Peso relativo intestino delgado (g)	Comprimento Intestino total (cm)	Comprimento intestino delgado (cm)
MATRIZ				
Controle	6,39	4,34	53,05	49,51
CLA	6,68	4,99	50,70	47,65
PÓS-ECLOSÃO				
Controle	6,32	4,34	51,55	48,01
CLA	6,75	4,98	52,20	49,15
Valor de P				
Dieta Matriz	0,625	0,186	0,314	0,388
Dieta Pós-eclosão	0,464	0,192	0,777	0,594
Dieta Matriz x dieta pós-eclosão	0,291	0,787	0,476	0,445
CV (%)	19,80	22,54	9,75	9,65

TABELA 8 - Biometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Tratamentos	Peso relativo intestino total (g)	Peso relativo intestino delgado (g)	Comprimento intestino total (cm)	Comprimento intestino delgado (cm)
MATRIZ				
Controle	8,19	6,20	88,91	83,05 b
CLA	8,44	6,27	92,70	87,75 a
PÓS-ECLOSÃO				
Controle	8,01 b	6,01 b	87,68 b	82,61 b
CLA	8,62 a	6,46 a	93,93 a	88,18 a
Valor de P				
Dieta Matriz	0,279	0,715	0,084	0,014
Dieta Pós-eclosão	0,010	0,017	0,005	0,004
Dieta Matriz x dieta pós-eclosão	<0,001	0,008	0,699	0,751
CV (%)	9,04	9,55	8,19	7,32

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05).

Ao final da fase pré-inicial, são claras as evidências do efeito benéfico do CLA sobre a biometria intestinal. No sétimo dia, ainda houve influência da suplementação isolada da matriz sobre o comprimento de intestino delgado (P=0,01). Contudo, nessa fase, a suplementação pós-eclosão apresentou resultados mais positivos do que o proporcionado pela

dieta materna, pois houve melhora para todas as variáveis avaliadas, com a utilização do CLA.

TABELA 9 - Desdobramento das interações significativas da biometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
PR intestino total	Controle	7,38Bb	9,00Aa
	CLA	8,64Aa	8,24Ba
PR ¹ intestino delgado	Controle	5,72Bb	6,69Aa
	CLA	6,30Aa	6,24 Aa

¹PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

Vários relatos na literatura sugerem, de diferentes formas, a capacidade do CLA em promover o desenvolvimento do intestino. Chanuwat et al.²⁷ provaram que o CLA foi capaz de manter a contagem total de bactérias produtoras de ácido lático no intestino, havendo redução em pintos não suplementados. Além disso, demonstraram que o íleo apresentou a contagem mais elevada durante o período de suplementação. Bergamo et al.²⁸ relataram a capacidade do CLA em proteger a mucosa intestinal. Murphy et al.²⁹ ainda apontaram que a exposição ao CLA promoveu alteração da expressão de genes relacionados ao transporte de cálcio intestinal. A supressão da colite e a atividade anticarcinogênica em função da produção de CLA por bactérias probióticas intestinais também foram descritas na literatura^{11, 30}.

Após 12 horas de suplementação pós-eclosão, pintos oriundos de matrizes suplementadas apresentaram maior altura de vilo de jejuno ($P=0,054$). Pintos alimentados com ração pós-eclosão contendo CLA apresentaram maior profundidade de cripta de duodeno ($P<0,001$) e menor altura de vilo de íleo ($P<0,001$) (Tabela 10).

Houve interação para profundidade de cripta do jejuno e do íleo, ambas significativas a $P<0,001$ (Tabela 10). Maior profundidade de cripta do jejuno foi observada quando houve suplementação apenas da matriz ou apenas na dieta pós-eclosão, e maior profundidade de cripta ileal foi observada quando não houve nenhuma suplementação ou quando matrizes e neonatos foram suplementados (Tabela 11).

Quando ofertado à matriz, o CLA pode alterar o perfil de ácidos graxos da gema dos ovos e do saco vitelínico da progênie, modificando também a relação de ácidos graxos saturados: insaturados. Essa alteração pode levar à morte embrionária, uma vez que o organismo do embrião pode não ser capaz de assimilar os ácidos graxos disponíveis para seu

desenvolvimento³¹. Mesmo não sendo suficiente para causar mortalidade embrionária, o nível de CLA utilizado pode ter alterado o perfil de ácidos graxos e, conseqüentemente, influenciado o desenvolvimento intestinal, pois o mesmo depende dos nutrientes presentes na gema residual, sendo a assimilação de ácidos graxos prioridade quando comparada a outros nutrientes, como glicose e metionina³². A exposição precoce a ácidos graxos das famílias ômega-3 e 6 pode modular a composição em ácidos graxos poli-insaturados de tecidos e membranas celulares de pintos, inclusive no intestino delgado³³.

TABELA 10 - Altura de vilo e profundidade de cripta (μm) do intestino de pintos provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Tratamento	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta
MATRIZ						
Controle	420	84	177 b	62	141	75
CLA	431	83	186 a	61	146	75
PÓS-ECLOSÃO						
Controle	428	78 b	182	66 a	151 a	73 b
CLA	424	89 a	181	58 b	136 b	77 a
Valor de P						
Dieta Matriz	0,224	0,221	0,054	0,290	0,178	0,869
Dieta Pós-eclosão	0,647	<0,001	0,805	<0,001	<0,001	0,006
Dieta Matriz x dieta pós-eclosão	0,540	0,243	0,334	<0,001	0,623	<0,001
CV (%)	8,68	14,21	10,29	12,85	13,72	10,26

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P < 0,05$).

TABELA 11 – Desdobramento das interações significativas da histomorfometria intestinal de pintos de corte provenientes de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Dieta da matriz \ Dieta pós-eclosão	Controle	CLA
	Profundidade de cripta do jejuno	
Controle	62 Ba	63 Aa
CLA	70 Aa	53 Bb
Profundidade de cripta do íleo		
Controle	80 Aa	71 Bb
CLA	74 Ba	76 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

Aos sete dias de idade, pintos de matrizes suplementadas apresentaram menor profundidade de cripta do íleo ($P=0,001$). A progênie suplementada apresentou menor profundidade de cripta do duodeno ($P=0,004$). Houve interação dos fatores para profundidade de cripta do jejuno ($P=0,008$) e altura de vilo íleal ($P=0,006$) (Tabela 12).

TABELA 12 - Altura de vilos e profundidade de cripta (μm) do intestino de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Tratamento	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta	Vilo	Cripta
MATRIZ						
Controle	648	213	417	209	297 a	170 b
CLA	658	220	418	195	286 b	183 a
PÓS-ECLOSÃO						
Controle	656	223 a	415	212	286 b	175
CLA	650	210 b	420	192	297 a	178
Valor de P						
Dieta Matriz	0,393	0,112	0,834	<0,001	<0,001	0,001
Dieta Pós-eclosão	0,579	0,004	0,429	<0,001	<0,001	0,483
Dieta Matriz x dieta pós-eclosão	0,325	0,549	0,343	0,008	0,006	0,716
CV (%)	8,69	14,01	8,93	12,19	6,31	17,37

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P < 0,05$).

Foram encontradas criptas de jejuno mais profundas em quando não houve nenhuma fonte de suplementação. Pintos suplementados oriundos de matrizes não suplementadas apresentaram menor altura de vilos ileais (Tabela 13).

Dierick et al.³⁴ descreveram a capacidade dos ácidos graxos da dieta em aumentar a altura de vilos em leitões recém-desmamados. No presente estudo, todos os segmentos do intestino delgado foram histologicamente influenciados pelo uso de CLA. Nosrati et al.³⁵ e Wang et al.³⁶ investigaram os efeitos do CLA na histomorfometria intestinal e observaram sua capacidade em aumentar a altura de vilos no intestino delgado e a profundidade de criptas no duodeno e jejuno.

TABELA 13 – Desdobramento das interações significativas da histomorfometria intestinal de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA, suplementados durante a fase pós-eclosão

Dieta da matriz \ Dieta pós-eclosão	Controle	CLA
	Profundidade de cripta do jejuno	
Controle	223 Aa	195 Ab
CLA	201 Ba	189 Ab
Altura de vilos do íleo		
Controle	294 Aa	300 Aa
CLA	277 Bb	295 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

No presente estudo e também em outros trabalhos de pesquisa, foram observados resultados diversificados quanto ao real efeito do CLA sobre o desenvolvimento histológico intestinal. Como apontado por Adabi et al.³⁷, caso os resultados fossem mais claros quanto à

capacidade dos ácidos graxos poli-insaturados em estimular significativamente as adaptações morfológicas das vilosidades, haveria importantes contribuições para a indústria de nutrição avícola e eficiência de produção.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram as conclusões estabelecidas por Fernandes et al.³⁸ que afirmaram que a suplementação da dieta da matriz com nutrientes específicos pode resultar em alterações positivas na progênie, entretanto, a suplementação conjunta da progênie pode ser necessária para melhorar o desempenho e características e carcaça, entre outros.

Na Tabela 14, encontram-se os resultados referentes ao desempenho dos pintainhos aos sete dias de idade, havendo efeito significativo da dieta da matriz sobre o peso corporal ($P=0,016$) e o ganho de peso ($P=0,013$). Tratamentos cuja dieta da matriz continha CLA apresentaram melhores resultados.

De forma semelhante, a suplementação materna de CLA aumentou o crescimento da progênie aos 21 dias de idade, conforme pesquisa realizada por Leone et al.³⁹. An et al.²⁵ não observaram alteração do ganho de peso em pintos em função da inclusão de CLA na dieta, enquanto Nosrati et al.³⁵ concluíram que a suplementação de pintos com CLA não alterou o consumo de ração.

TABELA 14 - Desempenho de pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Tratamentos (Dietas)	Peso corporal aos 7 dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
MATRIZ					
Controle	164,6 b	120,3	118,1 b	1,013	100,0
CLA	172,6 a	126,1	126,3 a	0,979	100,0
PÓS-ECLOSÃO					
Controle	168,6	123,4	122,3	1,000	100,0
CLA	168,2	123,1	122,2	0,990	100,0
Valor de P					
Dieta Matriz	0,016	0,203	0,013	0,222	1,000
Dieta Pós-eclosão	0,892	0,941	0,975	0,662	1,000
Dieta Matriz x Dieta Pós-eclosão	0,817	0,624	0,743	0,984	1,000
CV (%)	4,66	8,02	6,03	6,71	0,00

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Tendo em vista o incremento observado para desempenho dos pintos neonatos provenientes de matrizes suplementadas, a utilização do CLA em dietas de reprodutoras pode ser recomendado.

CONCLUSÃO

O fornecimento de CLA às matrizes garante melhor desempenho pré-inicial da progênie. A suplementação conjunta de matrizes e progênie aumenta o peso relativo dos órgãos após as 12 horas de suplementação pós-eclosão, porém os reduz aos sete dias de idade, e também favorece o desenvolvimento intestinal macroscopicamente.

Com base nos resultados referentes ao desempenho, recomenda-se a suplementação da matriz com CLA.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Panda AK, Shyam Sunder G, Rama Rao SV, Raju MVLN. Early nutrition enhances growth and speeds up gut development. *World Poult* 2006, 22(4):15-6.
2. Santin E, Maiorka A, Macari M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J Appl Poult Res*. 2001; 10:236-244.
3. Boersma SI, Robinson FE, Renema RA, Fasenko GM. Administering oásis hatching supplement prior to chick placement increases initial growth with no effect on body weight uniformity of female broiler breeders after three weeks of age. *J. Appl. Poult. Res*. 2003, 12:428-34.
4. Henderson SN, Vicente JL, Pixley CM, Hargis BM, Tellez G. Effect of early nutritional supplement on broiler performance. *Int. J. Poult. Sci*. 2008, 7(3):211-4.
5. Makkar SK, Rath NC, Packialakshmi B, Zhou ZY, Huff GR, Donoghue AM. Nutritional supplement of hatchery eggshell membrane improves poultry performance and provides resistance against endotoxin stress. *Plos ONE* 2016, 11(7):1-15.
6. Cengiz O, Koksall BH, Tatli O, Sevim O, Avci H, Epikmen T, Beyaz D, Buyukyoruk S, Boyacioglu M, Uner A, Onol AG. Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health. *Vet. Med*. 2012, 10:515-28.
7. Calik A, Ceylan A, Ekim B, Adabi SG, Dilber F, Bayraktaroglu AG, Tekinay T, Özen D, Sacakli P. The effect of intra-amniotic and posthatch dietary symbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. *Poult. Sci*. 2016, 0:1-15.
8. Preuss MB, Rohlfes ALB, Baccar NM, Marquardt L, Oliveira MSR, Schneider RCS. Ácido linoleico conjugado: uma breve revisão. *Revista Jovens Pesquisadores*. 2013; 3(2):134-146.

9. Herzallah S. Enrichment of conjugated linoleic acid (CLA) in hen eggs and broiler chickens meat by lactic acid bacteria. *Brit. Poult. Sci.* 2013, 54(6):747-52.
10. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Proq. Lipid Res.* 2001, 40(4):283-98.
11. Bassaganya J, Bregendahl K, Wannemuehler M, Hontecillas R. Effects of feeding conjugated linoleic acid to nursery pigs of low – and high-health status on growth and immune competence. *Swine Research Report* 1998, 4p.
12. Stanimirovic M, Petrujkic B, Delic N, Djelic N, Stevanovic J, Stanimirovic Z. Dietary conjugated linoleic acid influences the content of stearic acid in porcine adipose tissue. *Vet Med* 2012, 57(2):92-100.
13. Kastelic M, Kompan D. The effect of conjugated linoleic acid on the growth of weaned piglets. *Acta Agric. Slov.* 2006, 2:133-40.
14. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-1206.
15. Marcolla CS. Efeitos do ácido linoleico conjugado e da luteína na resposta imune de frangos de corte submetidos a desafio imunológico. *Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI Salão de Iniciação Científica da UFRGS; Porto Alegre. Porto Alegre: UFRGS; 2014.*
16. Lee KN, Parize MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 248(3):817-821.
17. Hur SJ, Kang GH, Jeong JY, Yang HS, Há YL, Park GB, Joo ST. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid characteristics of egg yolk. *Asian_aust J Anim Sci.* 2003; 16(8):1165-1170.
18. Martins PC, Santos JS, Montel LM, Ribeiro AR, Mesquita AA, Wermick B, Stringhini JH. Profile of fatty acids of egg yolks from broiler breeders supplemented with CLA. *EGGMEAT 2017: XVII European Symposium on the quality of eggs and egg products and XXIII European Symposium on the quality of poultry meat; Edinburgh. Edinburgh: WPSA; 2017.*
19. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. *Tabela brasileira para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional.* Viçosa: Editora UFV; 2011.
20. Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology.* 3d. New York: McGraw-Hill; 1968.
21. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing.* 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
22. Chaplin A, Parra P, Serra F, PALOU A. Conjugated Linoleic Acid Supplementation under a High-Fat Diet Modulates Stomach Protein Expression and Intestinal Microbiota in Adult Mice. *Plos ONE* 2015, 10(4).
23. Noto A, Zahradka P, Ryz NR, Yurkova N, Xie X, Taylor CG. Dietary conjugated linoleic acid preserves pancreatic function and reduces inflammatory markers in obese, insulin-resistant rats. *Metab. J.* 2007, 56(1):142-51.

24. DeLany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, Westi DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduce body fat content in mice without affecting energy intake. *Am. J. Physiol.* 1999, 276(45):1172-1179.
25. An BK, Shinn KH, Kobayashi Y, Tanaka K, Kang CW. Excessive dietary conjugated linoleic acid affects hepatic lipid content and muscular fatty acid composition in young chicks. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2003, 16(8):1171-6.
26. Du M, Ahn D. Dietary CLA affects lipid metabolism in broiler chicks. *Lipids* 2003, 38(5):505-11.
27. Chanuwat T, Wongsuthavas S, Smerjai B, Yuangklang C, Vasupen K. Effect of supplementation of conjugated linoleic acid in diets on growth performance and total lactic bacteria in small intestine of broiler. *J Agric Sci Technol A.* 2011; 1:1141-1143.
28. Bergamo P, Gogliettino M, Palmieri G, Cocca E, Maurano F, Stefanile R, Balestrieri M, Mazzarella, David C, Rossi M. Conjugated linoleic acid protects against gliadin-induced depletion of intestinal defenses. *Mol Nutr Food Res.* 2011; 55(S2):248-256.
29. Murphy EF, Hooiveld GJ, Muller M, Calogero RA, Cashman KD. *J Nutr.* 2007; 137:2359-2365.
30. Ewaschuck JB, Walker JW, Diaz H, Madsen KL. Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs in vitro and in vivo in mice. *J Nutr.* 2006; 136:1483-1487.
31. Aydin R, Cook ME. The effect of dietary conjugated linoleic acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. *Poult Sci.* 2004, 83:2016-22.
32. Lilburn MS, Loeffler S. Early intestinal growth and development in poultry. *Poult Sci.* 2015; 94:1569-1576.
33. Neumann P. Evaluation of membrane fatty acid composition and transport of lipid nutrients into the chick embryo. B.S. (Hons. thesis). Oregon State University. 2015.
34. Dierick NA, Decuypere JA, Degeyter I. The combined use of whole *Cuphea* seeds containing medium chain fatty acids and an exogenous lipase in piglet nutrition. *Arch Anim Nutr.* 2003; 57:49-63.
35. Nosrati M, Navidshad B, Malecky M. Effects of dietary conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids on the performance, carcass traits and small intestinal morphology of broiler chickens. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 2015, 5(2):411-6.
36. Wang T, Lim JN, Lee JS, Lee SB, Hwang JH, Jung US, Kim MJ, Hwang DY, Lee SR, Roh SG, Lee HG. Effects of dietary trans-9 octadecenoic acid, trans-11 vaccenic acid and cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in mice. *Mol Med Rep.* 2015; 12(2):3200-3206.
37. Adabi SG, Hajibabaei A, Casey NH, Bayraktaroglu AG. The effect of various dietary vegetable oil sources on villi morphology and liver aldehydes in young layers. *South Afr J Anim Sci.* 2016; 46(1):63-69.
38. Fernandes JIM, Murakami AE, Souza LMG, Ospina-Rojas IC, Rossi RM. Effect of arginine supplementation of broiler breeder hens on progeny performance. *Can J Anim Sci.* 2014; 94: 313-321.
39. Leone VA, Worzalla SP, Cook ME. Body compositional changes and growth alteration in chicks from hens fed conjugated linoleic acid. *Lipids* 2009, 44(5):437-47.

CAPÍTULO 5 - CONTAGEM LINFOCITÁRIA E BIOMETRIA EM ÓRGÃOS LINFOIDES, IMUNIDADE CELULAR E HUMORAL DA PROGÊNIE DE MATRIZES SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E SUPLEMENTADA NA FASE PÓS-ECLOSÃO

RESUMO

Objetivou-se avaliar a resposta imune de pintos suplementados com CLA, oriundos de matrizes também suplementadas. Adotou-se o delineamento em blocos casualizados, contendo dois tratamentos (0; 0,025% CLA para matrizes). Foram incubados 270 ovos por tratamento, considerando as duas incubadoras utilizadas como blocos. Os neonatos receberam dietas pós-eclosão suplementadas. Alojaram-se 320 pintos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema 2x2 (CLA materno, CLA pós-eclosão), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de 10 aves. Aos 18 dias de incubação, à eclosão, antes do alojamento e aos sete dias, avaliaram-se: peso relativo (PR) e contagem linfocitária (CL) de baço (Ba) e bursa (Bu), títulos de anticorpos e hipersensibilidade à fitohemaglutinina. Os dados foram submetidos a análise de variância. Antes do alojamento, pintos não suplementados apresentaram maior PRBa. Houve maior PRBu para a progênie suplementada, de matrizes não suplementadas. Aos sete dias, pintos suplementados de matrizes não suplementadas, apresentaram maior PRBa. Pintos não suplementados de matrizes suplementadas apresentaram maior PRBu. Neonatos de matrizes suplementadas apresentaram maior CLBu. A dupla suplementação elevou a CLBu antes do alojamento. Aos sete dias, pintos suplementados apresentaram maior reação à fitohemaglutinina 12 horas pós-inoculação. A suplementação da matriz promoveu maior reação, independente da dieta pós-eclosão, 24 horas pós-inoculação. O CLA pós-eclosão diminuiu a reação em pintos de matrizes não suplementadas. A suplementação da matriz elevou os títulos no saco vitelínico ao nascimento e antes do alojamento. A suplementação pós-eclosão aumentou os títulos no soro aos sete dias. Conclui-se que o CLA estimula a imunidade de pintos quando fornecido à matriz ou à progênie.

Palavras-chave: Ácido graxo poli-insaturado, imunidade passiva, imunonutrição

CHAPTER 5 - LYMPHOCYTES COUNTING AND BIOMETRY IN LYMPHOID ORGANS, AND CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY OF THE PROGENY OF BROILER BREEDERS SUPPLEMENTED WITH CONJUGATED LINOLEIC ACID AND SUPPLEMENTED IN THE POST-HATCHING PHASE

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the immune response of broiler chicks supplemented with CLA, originated from supplemented breeders. The completely randomized block design was adopted, containing two treatments (0; 0,025% CLA for breeders). There were incubated 270 eggs per treatment, considering the two utilized hatchers as blocks. Newly hatched chicks received supplemented post-hatching diets. A total of 320 chicks were housed in a completely randomized design, in a 2x2 arrangement (maternal CLA, post-hatch CLA), totalizing four treatments and eight replications of ten birds. At 18 days of incubation, at hatch, before housing and at seven days old, relative weights (RW) and lymphocyte count (LC) of spleen (Sp) and bursa (Bu), antibody titers and hypersensitivity to phytohemagglutinin were evaluated. Data were submitted to analysis of variance. Before housing, non-supplemented chicks presented higher SpRW. The BuRW was higher for the supplemented progeny, originated from non-supplemented breeders. At seven days, supplemented chicks from non-supplemented breeders presented higher SpRW. Non-supplemented chicks from supplemented breeders showed higher BuRW. Newly hatched chicks from supplemented breeders showed higher BuLC. Double supplementation increased BuLC before housing. At seven days, supplemented chicks showed higher reaction to phytohemagglutinin 12 hours post-inoculation. Breeder supplementation increased the reação, independent of post-hatching diet, 24 hours post-inoculation. Post-hatch CLA decreased the reaction in chicks from non-supplemented breeders. Breeder supplementation increased the titers in the yolk sac at hatch and before housing. Post-hatch supplementation increased serum titers at seven days old. In conclusion, CLA stimulates chick immunity when supplied to the breeder or to the progeny.

Keywords: Immunonutrition, passive immunity, polyunsaturated fatty acid.

INTRODUÇÃO

A imunidade passiva é caracterizada pela transferência de anticorpos de um indivíduo para outro¹. A imunização passiva natural ocorre por meio da transferência materna de imunoglobulinas à sua progênie², dependendo dos desafios ou das vacinações a que a matriz foi exposta. Por esse motivo, há correlação direta entre os níveis de imunoglobulinas encontrados na matriz e no neonato.

Em aves, as imunoglobulinas podem ser classificadas em três isotipos distintos: IgA, IgM e IgY, esta última considerada equivalente à IgG dos mamíferos, embora sua semelhança também com a IgE de mamíferos leve alguns estudiosos a classificá-la como intermediária de IgG e IgE³.

Após a eclosão, as reservas presentes no saco vitelínico contém imunoglobulinas, principalmente IgY⁴, principal isotipo transferido pela matriz à progênie. Sabendo que a quantidade destas biomoléculas adquiridas passivamente reflete a condição materna, desenvolver estratégias que melhorem a imunidade da matriz pode ser um meio de melhorar esta condição na progênie.

A composição da dieta é um dos fatores que podem influenciar as funções imunológicas; embora, com o avançar das pesquisas, esteja tornando-se claro que as necessidades nutricionais para a boa resposta imune nem sempre são as mesmas designadas para o crescimento da ave⁵.

Impactos positivos da dieta da matriz na imunidade da progênie foram primeiramente relatados em pesquisas com minerais traço e vitaminas⁵. Leandro et al.⁶ demonstraram que o tipo de programa alimentar ao qual a matriz pode ser submetida também pode influenciar a transferência de anticorpos para a progênie, assim como a meia-vida desses, além de alterar o desenvolvimento inicial dos tecidos linfoides.

A sobrevivência e a qualidade do neonato dependem de sua habilidade em responder efetivamente, apropriadamente, e no tempo adequado, a diferentes agentes estressores aos quais é submetido⁵. O embrião em desenvolvimento e o pinto neonato são completamente dependentes dos nutrientes depositados no ovo. Por esse motivo, o status fisiológico à eclosão é diretamente influenciado pela nutrição da matriz.

A redução da idade para comercialização do frango para abate reforça a importância da nutrição nas fases iniciais de vida. Atualmente, o papel da composição do conteúdo lipídico da dieta das matrizes não tem sido suficientemente considerado sobre a imunidade e resposta inflamatória da progênie. A exposição precoce a ácidos graxos das

classes ômega-3 e 6 pode influenciar a composição lipídica das membranas celulares e a produção de mediadores inflamatórios, além de influenciar seu metabolismo⁷.

O ácido linoleico conjugado (CLA) refere-se ao termo coletivo utilizado para designar os isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, nos quais as duplas ligações são conjugadas⁸. É naturalmente encontrado na carne e em derivados lácteos, e pode ser artificialmente produzido para fins experimentais, como suplemento dietético⁹.

O CLA pode influenciar o metabolismo lipídico, pois induz a β -oxidação, sobretudo no tecido adiposo, para obtenção de energia. Assim, o armazenamento de ácidos graxos é inibido¹⁰.

O CLA tem sido associado à melhora da imunidade inata e adaptativa, promovendo proliferação linfocitária, maior produção de interleucina-2 (IL-2), redução do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL-6)¹¹, e influenciando a síntese de eicosanoides¹².

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de matrizes pesadas com CLA e da suplementação na dieta pós-eclosão dos pintos sobre a imunidade da progênie, por meio de biometria e contagem de linfócitos em órgãos linfoides, resposta de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina e titulação de imunoglobulina G em amostras de soro e conteúdo do saco vitelínico.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo compõe o projeto de pesquisa protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da UFG, sob o número 011/2015, e aprovado no dia 03/04/2015. Foram incubados, em duas incubadoras, ovos provenientes de dois lotes comerciais de matrizes de frangos de corte (*Gallus gallus*), pertencentes à linhagem Cobb 500[®], com 58 semanas de idade.

Um dos lotes foi suplementado com 0,042% de um produto comercial (Lutalin[®] – BASF), para garantir, conforme as recomendações do fabricante, 0,025% de inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA) *trans*-10, *cis*-12 na dieta das matrizes. Considerando que a formação da gema leva aproximadamente 21 dias, as aves foram suplementadas por 26 dias, período suficiente para a indução de modificações na gema por meio da dieta. Inicialmente, foi adotado o delineamento em blocos casualizados, considerando a incubadora utilizada como critério de determinação do bloco, composto por dois tratamentos (0 e 0,025% de CLA na dieta da matriz). A composição das dietas experimentais para matrizes é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais para matrizes (%), com base na matéria natural

INGREDIENTES	Controle	CLA
Milho	68,179	68,128
Farelo de soja	17,416	17,425
Calcário	7,876	7,876
Caulim	4,000	4,000
Farinha de carne e ossos	1,500	1,5000
Sal comum	0,223	0,223
Fosfato bicálcico	0,200	0,200
Bicarbonato de sódio	0,150	0,150
Suplemento mineral ¹	0,150	0,150
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
Colina	0,082	0,082
DL-metionina	0,080	0,080
L-treonina	0,030	0,030
Antioxidantes ³	0,016	0,016
CLA ⁴	-	0,042
Enzima ⁵	0,003	0,003
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2736	2734
Proteína bruta (%)	13,90	13,90
Ácido linoleico (%)	2,50	2,57
Lisina digestível (%)	0,60	0,60
Metionina + cistina (%)	0,47	0,46
Treonina digestível (%)	0,50	0,50
Cálcio (%)	3,29	3,29
Fósforo disponível (%)	0,20	0,20
Sódio (%)	0,34	0,34

¹Suplemento mineral - níveis de garantia por quilograma de produto: Manganês 80.000 mg, Zinco 70.000 mg, Ferro 40.000 mg, Cobre 8.000 mg, Iodo 1.000 mg; ²Suplemento vitamínico - níveis de garantia por quilograma do produto: vitamina E 110.000 mg, vitamina A 14.000 UI, vitamina D3 3.000 UI, vitamina K3 6.000 mg, vitamina B1 3.000 mg, vitamina B2 12.000 mg, vitamina B6 6.000 mg, vitamina B12 30 mg, niacina 60.000 mg, ácido pantotênico 20.000 mg, ácido fólico 4.000 mg, biotina 300 mg.. ³Etoxiqum 66,6%, BHA 99% e Ácido cítrico 99,5%. ⁴CLA (Lutalin®). ⁵Enzima fitase (Natuphos® 10.000).

As variáveis avaliadas na progênie incluíram o peso de baço e bursa, a contagem linfocitária nesses órgãos e os títulos de anticorpos no soro e no conteúdo do saco vitelínico, determinados em embriões aos 18 dias de incubação e em neonatos.

As matrizes foram vacinadas com 1, 8, 13 e 22 semanas de idade, contra Doença de Newcastle, bronquite infecciosa, doença de Gumboro e reovirose (Poultvac i Maternavac[®] - FORT DODGE).

Após o período de suplementação das matrizes, 820 ovos, 410 por lote, foram aleatoriamente coletados, higienizados e encaminhados à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, e destes foram selecionados 270 ovos por tratamento para incubação, considerando-se a integridade da casca, a apresentação de forma elíptica, e o peso médio de 70,30g ± 4,83g. Os ovos foram armazenados a 20°C por 66 horas e, em seguida,

pré-aquecidos a 26°C por 6 horas, completando 72 horas de armazenamento antes de serem incubados.

Após serem enumerados, de acordo com os tratamentos, os ovos foram distribuídos em duas incubadoras (modelo MA01DA – Gaiolas Almeida, Aparecida de Goiânia - GO) com capacidade para 270 ovos, com três bandejas cada e capacidade de acomodar 90 ovos por bandeja, sendo a metade (45 ovos) preenchida por cada tratamento. As incubadoras possuíam sistema para viragem automática dos ovos a cada duas horas e painel para controle da temperatura e monitoramento da umidade relativa. Os ovos foram mantidos a temperatura constante de 37,7°C e umidade por volta de 60%, verificadas constantemente com o auxílio de termohigrômetros.

No 18º dia de incubação, durante a transferência para as bandejas de eclosão, foram selecionados aleatoriamente cinco ovos de cada tratamento, para realização de necropsia do embrião e coleta do conteúdo do saco vitelínico, que foi armazenado à temperatura de -20°C. Também foram coletados os órgãos linfoides (baço e bursa) para obtenção do peso relativo e para confecção de lâminas histológicas, com o objetivo de realizar a contagem de linfócitos.

Após a eclosão, foi realizada a colheita de sangue de 20 pintos por tratamento, por meio de punção cardíaca, e posterior centrifugação para obtenção das amostras de soro, que foram armazenadas à temperatura de -20°C. Após eutanásia destas aves, realizada por deslocamento cervical, procedeu-se à coleta do conteúdo do saco vitelínico e acondicionamento apropriado das amostras, coleta de baço e bursa para pesagem, e separação de baço e bursa para a confecção das lâminas histológicas.

Após o nascimento, todas as aves receberam dietas pós-eclosão trituradas (3g por ave), acrescidas ou não de 0,025% de CLA, para consumo por 12 horas, antes do alojamento. Assim como para as matrizes, a suplementação pós-eclosão também foi realizada utilizando 0,042% de um produto comercial (Lutalin® - BASF), para garantir, conforme as recomendações do fabricante, 0,025% de inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA; *trans*-10, *cis*-12). As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as recomendações estabelecidas por Rostagno et al.¹³. Além da ração, os pintos também receberam água *ad libitum*, para evitar desidratação e comprometimento de sua qualidade.

A partir de então, adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, com adição de CLA à dieta das matrizes e/ou à dieta pós-eclosão (dieta da matriz – controle ou 0,025% de CLA; dieta pós-eclosão – controle ou 0,025% de CLA), totalizando 4 tratamentos. As variáveis avaliadas foram as mesmas descritas para embriões e

neonatos, e foram realizadas após o período de suplementação pós-eclosão e aos sete dias de idade. Além, disso, determinou-se a reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA) aos sete dias de idade.

Antes do alojamento, cinco aves por tratamento foram submetidas à punção cardíaca para coleta de sangue e posterior obtenção do soro, e à eutanásia para coleta do conteúdo do saco vitelínico, com acondicionamento das amostras a -20°C, e coleta de baço e bursa para pesagem, e separação de baço e bursa para a confecção das lâminas histológicas.

As aves foram então alojadas em baterias de aço galvanizado, contendo comedouros e bebedouros do tipo linear, aquecidas por lâmpada incandescente de 100 volts. Foram utilizadas 240 aves, distribuídas em 4 tratamentos e 6 repetições de 10 aves cada.

Após o alojamento, todas as aves passaram a receber a mesma dieta controle, sem suplementação de CLA. As dietas pós-eclosão controle e pré-inicial apresentavam a mesma formulação, diferindo apenas quanto à forma física, sendo a ração pós-eclosão triturada e a pré-inicial farelada. A composição das rações é expressa na Tabela 2.

Aos sete dias, novamente duas aves por repetição foram submetidas à eutanásia para coleta de baço e bursa para pesagem, e separação de baço e bursa para a confecção das lâminas histológicas, sendo 10 aves por tratamento previamente submetidas à punção cardíaca para coleta de sangue e posterior obtenção do soro, com acondicionamento das amostras a -20°C.

Aos sete dias, também foram selecionadas duas aves por repetição para avaliação da reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA). Inoculou-se intradermicamente na prega interdigital 0,1mL de PHA (Vitrocell®) entre o 3º e 4º dígitos do pé direito. Como controle negativo, inoculou-se 0,1mL de solução fisiológica estéril entre o 3º e 4º dígitos do pé esquerdo. Com paquímetro digital, aferiu-se o espessamento da pele, em milímetros, em ambos os pés, antes da inoculação (H0) e 3, 6, 12 e 24 horas após. As respostas foram medidas pela espessura da pele nos tempos de inoculação menos a espessura verificada em H0, em ambos os pés. Em seguida, realizou-se o cálculo: Reação = resposta à PHA (pé direito) – resposta controle (pé esquerdo).

Os fragmentos de baço e bursa foram fixados em solução de formalina a 10% tamponada, processados conforme a metodologia descrita por Luna¹⁴ e as lâminas foram cordas com Hematoxilina-Eosina (HE). Após este processo, as imagens foram obtidas em microscópio Leica DM550, e digitalizadas para o computador com o auxílio da câmera de vídeo Leica ICC50.

TABELA 2– Composição das dietas experimentais fornecidas à progênie (%), com base na matéria natural

INGREDIENTES	TRATAMENTO	
	Controle	CLA
Milho		52,00
Farelo de soja		38,90
Óleo de soja		2,50
Fosfato bicálcico		2,00
Amido	1,54	1,50
Calcário		1,08
Sal comum		0,57
L-Lisina		0,40
DL-Metionina		0,40
L-Treonina		0,20
Premix mineral e vitamínico ¹		0,40
CLA ²	0,00	0,04
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Proteína bruta (%)		22,46
Energia metabolizável (kcal/kg)		2.950
Cálcio (%)		1,00
Fósforo disponível (%)		0,48
Ácido linoleico (%)		2,60
Lisina digestível (%)		1,41
Metionina digestível (%)		0,69
Metionina + cistina digestível (%)		0,98
Treonina digestível (%)		0,94
Cloro (%)		0,39
Potássio (%)		0,86
Sódio (%)		0,24
CLA trans-10, cis-12 (%)	0,00	0,02

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg): Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg.

²Lutalin (BASF®)

Utilizou-se a objetiva de 100x para a captura de quatro imagens por lâmina, e o software Image J para auxílio na contagem linfocitária. Uma estrutura de linhas quadriculadas, formando uma grade com 35 intersecções foi sobreposta a cada imagem e os núcleos de linfócitos presentes nas intersecções das linhas foram contabilizados. Foram avaliadas, por tratamento, para cada órgão, 5 lâminas de embriões, 4 de neonatos, 5 após o período pós-eclosão e 12 aos sete dias de idade.

As amostras de soro e conteúdo do saco vitelínico foram submetidas à análise pelo Kit ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) para detecção de anticorpos (IgG de galinha) contra o vírus da Doença de Newcastle - NDV (Biochek®), sendo processadas de acordo com as recomendações do fabricante.

A leitura da microplaca contendo o material amostrado foi feita imediatamente após o término do processo em leitora de microplacas de ELISA Polaris (Celer[®]), com absorvância medida com comprimento de onda de 405 nm, e os resultados foram obtidos por meio do Biochek II Software (2015 *version*), que correlaciona a leitura das amostras à leitura dos controles e estabelece, a partir dessa correlação, a concentração de imunoglobulinas.

Os dados referentes à contagem celular, biometria de órgãos, reação de hipersensibilidade cutânea à PHA e títulos de imunoglobulinas foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade, utilizando o software R¹⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se, na Tabela 3, que a suplementação da matriz não resultou em alteração dos pesos relativos de baço (P=0,71) e bursa (P=0,09) no embrião e também na ave neonata (P=0,13 e P=0,62 para baço e bursa, respectivamente).

TABELA 3 – Peso relativo (%) de baço e bursa de embriões aos 18 dias de incubação e pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Embrião		Neonato	
	Baço (%)	Bursa (%)	Baço (%)	Bursa (%)
Controle	0,047	0,038	0,030	0,074
CLA	0,049	0,050	0,033	0,076
Valor de P	0,71	0,09	0,13	0,62
CV (%)	17,98	20,48	25,39	26,91

Entretanto, decorridas 12 horas entre o final do processo de eclosão e o alojamento, ocasião em que os pintos receberam a ração pós-eclosão, notou-se que a progênie diretamente suplementada de CLA apresentou menor peso relativo de baço (P=0,001), se comparada à progênie alimentada com ração controle (Tabela 4). Por se tratar de um órgão linfóide secundário, sua função imunológica depende do estímulo antigênico, que ainda não havia ocorrido. Assim, apenas o CLA não foi capaz de garantir aumento do seu peso relativo.

Observou-se interação (P=0,02) dos fatores dieta da matriz e dieta pós-eclosão no peso relativo de bursa (Tabela 4). A progênie diretamente suplementada, porém oriunda de matrizes do tratamento controle, apresentou maior peso relativo de bursa (Tabela 5).

Aos sete dias de idade, houve interação dos fatores para os pesos relativos de baço e bursa (P=0,009 e P=0,01, respectivamente) (Tabela 4). A progênie diretamente suplementada, porém oriunda de matrizes do lote controle, apresentou maior peso relativo de

baço (Tabela 5), enquanto pintos sem acesso ao CLA e oriundos de matrizes suplementadas apresentaram maior peso relativo de bursa (Tabela 5).

TABELA 4 - Peso relativo (%) de baço e bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, e aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Após 12 horas		Sete dias de idade	
	Baço (%)	Bursa (%)	Baço (%)	Bursa (%)
DIETA MATRIZ				
Controle	0,056	0,135	0,079	0,186
CLA	0,051	0,132	0,080	0,184
DIETA PÓS-ECLOSÃO				
Controle	0,060 a	0,140	0,080	0,184
CLA	0,048 b	0,127	0,078	0,187
Valor de P				
Dieta Matriz	0,14	0,78	0,95	0,80
Dieta Pós-eclosão	0,001	0,29	0,65	0,76
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	0,86	0,02	0,009	0,01
CV (%)	11,23	14,97	16,85	16,61

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 5 – Desdobramento das interações significativas para órgãos linfoides de pintos oriundos de matrizes suplementadas com CLA, submetidos a 12 horas de suplementação pós-eclosão

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
PR¹ bursa após 12 horas	Controle	0,126 Aa	0,145 Aa
	CLA	0,155 Aa	0,110 Ab
PR¹ baço aos sete dias de idade	Controle	0,075 Aa	0,084 Aa
	CLA	0,086 Aa	0,073 Ab
PR¹ bursa aos sete dias de idade	Controle	0,1720 Ab	0,2018 Aa
	CLA	0,1964 Aa	0,1725 Aa

¹PR = Peso relativo.

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

Baseando-se nos resultados descritos, é possível inferir que, aos sete dias de idade, o CLA foi capaz de estimular o sistema imunológico dos pintainhos, refletindo em maior peso dos órgãos avaliados; e após as 12 horas de intervalo pós-eclosão, pelo maior peso de bursa. O peso dos órgãos linfoides pode ser facilmente obtido e indica a capacidade do organismo na produção de células linfoides em uma resposta imune¹⁶.

A atividade imunológica no embrião é primariamente efetuada pelo timo e pela bursa, sendo a imunidade mediada por células desenvolvida na segunda semana de incubação. Os linfócitos do baço são mais numerosos imediatamente antes e logo após a eclosão, mas

não chegam a superar a população linfocitária do timo e da bursa¹⁷. Visto a importância das fases embrionária e pós-eclosão no desenvolvimento da imunidade da ave, promover condições adequadas e que estimulem sistema imunológico pode favorecer a capacidade do organismo em responder aos desafios por toda a vida.

As evidências de que o CLA apresenta atividade imunomoduladora são amplamente descritas na literatura, abrangendo várias espécies animais. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 melhoram a resposta imune das aves¹⁸, refletindo em maior peso do baço¹⁹, e o CLA especificamente pode estimular o crescimento de tecidos linfoides como timo e bursa, a proliferação linfocitária e consequente produção elevada de anticorpos²⁰. DeLany et al.²¹ descreveram o aumento do baço em ratos suplementados de CLA.

A suplementação apenas da matriz não foi suficiente para alterar o peso dos órgãos linfoides da progênie, mas ao interagir com a suplementação pós-eclosão, três entre as quatro variáveis avaliadas foram alteradas. O contato precoce da progênie com o CLA, proporcionado pela injeção *in ovo*, também aumentou o peso relativo da bursa de *Fabricius*, importante para a imunidade humoral das aves, aos 21 e 42 dias de idade²². Patterson et al.²³, por outro lado, não observaram diferenças no peso do baço de leitões oriundos de matrizes suplementadas de CLA.

Ao analisar as interações, nota-se que o maior peso de baço ou bursa foi obtido com apenas uma fonte de suplementação de CLA – na dieta da matriz ou na dieta do neonato. A dupla suplementação não conduziu aos melhores resultados. Deve-se compreender que os tratamentos envolvem vias com um equilíbrio delicado e, por esse motivo, o resultado esperado pode, algumas vezes, ser acompanhado de efeitos colaterais indesejados²⁴.

Ao se realizar a contagem linfocitária, verificou-se aumento desse tipo celular na bursa de neonatos oriundos de matrizes suplementadas ($P=0,01$), não sendo encontrada diferença no baço e nos órgãos linfoides de embriões ($P>0,05$) (Tabela 6).

TABELA 6 – Contagem de linfócitos presentes no baço e na bursa de embriões e pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Embrião		Neonato	
	Baço	Bursa	Baço	Bursa
Controle	4,20	5,45	6,25	7,37 b
CLA	3,93	6,65	6,50	11,12 a
Valor de P	0,68	0,09	0,82	0,01
CV (%)	38,81	30,02	29,71	29,00

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

Após 12 horas, a suplementação pós-eclosão levou à diminuição da contagem linfocitária do baço ($P=0,03$) (Tabela 7). A interação para a contagem na bursa foi significativa ($P=0,01$), sendo maior quando houve duplo fornecimento de CLA (Tabela 8).

Aos sete dias, os tratamentos não mais influenciaram a população linfocitária dos órgãos avaliados ($P>0,05$) (Tabela 7).

TABELA 7 – Contagem de linfócitos presentes no baço e na bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, e aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Após 12 horas		Sete dias de idade	
	Baço	Bursa	Baço	Bursa
DIETA MATRIZ				
Controle	7,90	9,23 b	10,75	13,23
CLA	7,61	11,41 a	11,15	12,90
DIETA PÓS-ECLOSÃO				
Controle	8,45 a	9,99	10,48	13,30
CLA	7,06 b	10,65	11,41	12,83
Valor de P				
Dieta Matriz	0,64	<0,001	0,60	0,58
Dieta Pós-eclosão	0,03	0,20	0,23	0,45
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	0,36	0,01	0,73	0,28
CV (%)	27,49	19,41	23,48	18,49

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

TABELA 8 – Desdobramento da interação para contagem linfocitária na bursa de pintos após 12 horas de suplementação pós-eclosão de CLA, oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
CL¹ bursa após 12 horas	Controle	9,55 Aa	8,91 Ba
	CLA	10,43 Ab	12,40 Aa

¹CL = contagem linfocitária.

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

Considerando os resultados da contagem linfocitária, a bursa, um órgão linfoide primário, foi mais responsiva à utilização do CLA, sendo influenciada positivamente. O baço, por sua vez, foi negativamente afetado pelo ácido graxo, possivelmente por ser um órgão linfoide secundário e que, portanto, necessita de estímulo antigênico para elaboração da resposta imune. He et al.²⁰ também relataram a capacidade do CLA em estimular a produção linfocitária.

Na Tabela 9, observam-se os dados referentes à resposta à PHA. Dietas pós-eclosão contendo CLA induziram uma maior reação cutânea ($P=0,003$) 12 horas após a

inoculação. Após 24 horas, houve interação dos fatores dieta da matriz e dieta pós-eclosão ($P < 0,001$). Considerando a dieta da matriz, a adição de CLA promoveu maior reação, independente do tipo de dieta pós-eclosão. Contudo, considerando a dieta da progênie, o CLA reduziu os valores observados em pintos provenientes de matrizes não suplementadas (Tabela 10).

TABELA 9 - Reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA) em pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão

Tratamentos	Reação após 3h	Reação após 6h	Reação após 12h	Reação após 24h
DIETA MATRIZ				
Controle	0,285	0,470	0,257	0,289 a
CLA	0,280	0,468	0,277	0,231 b
DIETA PÓS-ECLOSÃO				
Controle	0,277	0,457	0,242 b	0,202 b
CLA	0,288	0,481	0,291 a	0,318 a
Valor de P				
Dieta Matriz	0,76	0,94	0,21	<0,001
Dieta Pós-eclosão	0,57	0,16	0,003	<0,001
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	0,69	0,67	0,59	<0,001
CV (%)	20,29	12,07	18,97	17,12

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$).

TABELA 10 - Interação da reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA) em pintos de corte aos sete dias de idade, provenientes de matrizes suplementadas com CLA e também suplementados na fase pós-eclosão, 24 horas após a inoculação

Variável	Dieta pós-eclosão	Dieta da matriz	
		Controle	CLA
CL¹ bursa após 12 horas	Controle	0,260 Ab	0,319 Aa
	CLA	0,144 Bb	0,318 Aa

¹CL = contagem linfocitária.

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste F a 5%.

A eficácia do sistema imune não depende apenas da possibilidade de reconhecimento de antígenos, mas também da amplificação dessa resposta por meio da indução da proliferação linfocitária²⁵, e a PHA, por sua vez, é um mitógeno de células T, induzindo, portanto, a proliferação de linfócitos T. Assim, a injeção de PHA induz à resposta T-linfoproliferativa *in vivo* localizada²⁶.

No presente estudo nota-se, de forma geral, que o CLA foi capaz de aumentar os valores referentes à reação de hipersensibilidade cutânea à PHA, sugerindo sua capacidade de

estimular o sistema imunológico da ave. Os resultados foram mais consistentes decorridas 24 horas do momento da inoculação, e a suplementação da matriz foi mais eficaz em produzir a reação do que a suplementação pós-eclosão.

Vários estudos em diversas espécies têm demonstrado o efeito imunomodulador do CLA. No entanto, deve-se compreender que os tratamentos envolvem vias com um equilíbrio delicado e, por esse motivo, o resultado esperado pode, algumas vezes, ser acompanhado de efeitos colaterais²⁴.

Hayek et al.²⁷ sugeriram que o CLA estimula a proliferação de células T *in vitro*. Cook et al.²⁸ observaram que frangos suplementados com CLA, e desafiados com endotoxinas de *Escherichia coli*, apresentaram maior proliferação linfocitária horas após a aplicação de PHA, o que indica sua habilidade como estimulador da resposta imune. Azadegan Mehr et al.²² reportaram que a exposição ao CLA antes mesmo da eclosão, como ocorre nos casos de suplementação *in ovo*, melhorou a resposta imune mediada por células, avaliada pela resposta à inoculação de PHA. Long et al.²⁹ relataram que o CLA tem a capacidade de estimular a resposta de linfócitos T, e que houve estabilização da resposta avaliada 12h após a inoculação.

Estudos desenvolvidos por Khatibjoo et al.³⁰, envolvendo matrizes de corte, demonstraram que o aumento da relação de ácidos graxos poli-insaturados ômega-6: ômega 3, de 4 para 8, aumentou a espessura da prega digital nestas aves quatro horas após a inoculação de PHA, e propuseram que respostas após 24 horas de inoculação representam hipersensibilidade tardia tipo IV, cuja supressão por ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 tem sido relatada e atribuída, em parte, à redução nos níveis de ácido araquidônico e eicosanoides derivados.

A ação imunomoduladora do CLA pode ser, em parte, atribuída à competição com o ácido linoleico na biossíntese de ácido araquidônico²⁷. O ácido araquidônico é precursor de eicosanoides, como a prostaglandina E2; por esse motivo, a ingestão de CLA poderia reduzir sua produção²⁹, já que a prostaglandina E2, por sua vez, pode suprimir a produção de interleucina-2 e a proliferação de células T^{31,32}.

No entanto, a suplementação de CLA pode não resultar em efeitos significativos, como foi observado após 3 e 6 horas (Tabela 9), e como descrito por Takahashi et al.³³, que não verificaram diferença na subpopulação de células T e proliferação de esplenócitos induzida pela PHA em frangos suplementados de CLA.

Ao avaliar a imunidade humoral da progênie, observa-se que aos 18 dias de incubação, os títulos de anticorpos presentes no conteúdo do saco vitelínico dos embriões não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (P=0,76) (Tabela 11). À eclosão

(Tabela 12), entretanto, neonatos oriundos de matrizes suplementadas apresentaram maiores títulos de anticorpos no saco vitelínico ($P=0,001$), embora tal alteração não tenha sido verificada no soro ($P=0,09$).

A maioria da IgG obtida passivamente está presente no saco vitelínico. Isso ocorre porque essa imunoglobulina é depositada diretamente na gema, sendo que a taxa de transferência da matriz para o ovo pode chegar a 30%³⁴. Portanto, elevar os títulos séricos de IgG na matriz representa maior chance de incorporação dos mesmos à gema, e consequente melhora da imunidade passiva da progênie.

TABELA 11 – Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no conteúdo do saco vitelínico de embriões de pintos de corte (18d) oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Títulos no saco vitelínico
Embrião Controle	8091,25
Embrião CLA	8563,75
Valor de P	0,76
CV (%)	25,75

TABELA 12 – Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos neonatos oriundos de matrizes suplementadas com CLA

Tratamentos	Títulos	
	Soro	Saco vitelínico
Neonato Controle	1525,200	6027,071 b
Neonato CLA	2251,324	11364,417 a
Valor de P	0,09	0,001
CV (%)	58,35	43,01

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

Após as 12 horas de alimentação pós-eclosão, a progênie de matrizes suplementadas com CLA continuou a apresentar maior título de anticorpos ($P=0,02$) no saco vitelínico em relação à progênie de matrizes do lote controle (Tabela 13), mostrando a persistência da imunidade passiva e caracterizando sua importância nas primeiras fases de vida após a eclosão.

Aos sete dias de idade, não houve mais efeito da nutrição da matriz no título de anticorpos da progênie (Tabela 14). Sabe-se que os a imunidade passiva nos pintos permanece até que o nível de imunoglobulinas transferidas pela matriz reduza em virtude de seu metabolismo. Assim, mesmo que diferenças não tenham sido observadas aos sete dias, a suplementação das matrizes demonstrou ser uma prática útil, pois proporcionou maior título

de anticorpos nas fases anteriores e provavelmente ofereceu melhores condições que garantiram melhor preparo das aves antes de alcançarem o final do período pré-inicial. Considerando os resultados obtidos, a suplementação via dieta da matriz foi mais eficiente em aumentar os títulos de anticorpos na progênie, se comparada à suplementação na dieta pós-eclosão.

TABELA 13 – Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos de corte oriundos de matrizes suplementadas com CLA, após 12 horas de suplementação pós-eclosão

Tratamentos	Títulos	
	Soro	Saco vitelínico
DIETA MATRIZ		
Controle	4266,8	9601,2 b
CLA	4702,4	13176,9 a
DIETA PÓS-ECLOSÃO		
Controle	4036,6	10917,6
CLA	4932,6	11860,5
Valor de P		
Dieta Matriz	0,73	0,02
Dieta Pós-eclosão	0,48	0,51
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	0,58	0,19
CV (%)	62,90	26,73

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$).

TABELA 14 – Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro de pintos de corte aos sete dias de idade, oriundos de matrizes suplementadas com CLA e suplementados na fase pós-eclosão

Tratamentos	Títulos no soro
DIETA MATRIZ	
Controle	1534,978
CLA	1645,350
DIETA PÓS-ECLOSÃO	
Controle	1956,300 a
CLA	1224,028 b
Valor de P	
Dieta Matriz	0,71
Dieta Pós-eclosão	0,02
Dieta Matriz x Dieta pós-eclosão	0,81
CV (%)	59,46

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$).

O fornecimento de CLA na fase pós-eclosão, por sua vez, resultou em menores títulos de anticorpos ($P=0,02$) (Tabela 14), demonstrando o mesmo comportamento observado

para o peso relativo de baço (Tabela 4), embora não haja explicação aparente para que o CLA apresente efeito imunossupressor.

Pesquisadores se propuseram a investigar os efeitos da nutrição da matriz sobre a progênie^{35,36}, e observaram real capacidade de influenciar a resposta imunológica. Corroborando tais pesquisas, foi demonstrada, por meio dos resultados aqui apresentados, a possibilidade de melhora da imunidade por meio da manipulação da dieta materna.

Moraes et al.³⁷ propuseram que o CLA tem a capacidade de aumentar a síntese de interleucina-2 (IL-2), e que possivelmente este seja o motivo da produção de imunoglobulinas. He et al.²⁰ relataram que o CLA promove o crescimento de tecidos linfóides, estimula a produção de linfócitos e a produção de anticorpos, como previamente citado nesta pesquisa.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o CLA é capaz de estimular o sistema imunológico celular, humoral, e a imunidade passiva e adaptativa de pintos de corte quando fornecido na ração da matriz ou na ração pós-eclosão.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- 1 Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. Hen egg yolk antibodies (igY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. *Biotechnol Agron Soc Environ*. 2009; 13(2): 295-308.
- 2 Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. *Occup Med*. 2007; 57:552-556.
- 3 Davison F, Kaspers B, Schat KA. *Avian Immunology*. London: Academic Press, 2008. 481p.
- 4 Maiorka A, Dahlke F, Morgulis MSFA. Broiler adaptation to post-hatching period. *Ciênc Rural*. 2006; 36(2):701-708.
- 5 Kidd MT. Nutritional modulation of immune function in broilers. *Poult Sci*. 2004; 83:650-657.
- 6 Leandro NM, Ali R, Koci M, Moraes V, Malheiros RD, Wineland MJ, Oviedo-Rondón EO. Effects of broiler breeder genetic, diet type, and feeding program on maternal antibody transfer and development of lymphoid tissues in chicken progeny. *J Appl Poult Res*. 2011; 20:474-484.

- 7 Cherian G. Nutrition and metabolism in poultry: role of lipids in early diet. *J Anim Sci Biotechnol.* 2015; 6(28):1-9.
- 8 Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JÁ, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery.* 1997; 22(5):266-277.
- 9 O'Quinn PR, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD. Conjugated linoleic acid. *Anim Health Res Rev.* 2000; 1(1):35-46.
- 10 Santos-Zago LF, Botelho AP, Oliveira AC. Os efeitos do ácido linoleico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro. *Rev Nutr.* 2008; 21(2):195-221.
- 11 O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-206.
- 12 Martin J-C, Valeille K. Conjugated linoleic acid: all the same or to everyone own function? *Repr Nutr Develop.* 2002; 42(6):525-536.
- 13 Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabela brasileira para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional. Viçosa: Editora UFV; 2011.
- 14 Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology.* 3d. New York: McGraw-Hill; 1968.
- 15 R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing.* 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- 16 Ribeiro AML, Vogt LK, Canal CW, Laganá C, Streck AF. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. *Rev Bras Zootec.* 2008; 37(4):636-644.
- 17 Janković BD, Isaković K, Lukić ML, Vujanović NL, Petrović S, Marković BM. Relationship between the maturation of lymphoid tissues and the occurrence of cell-mediated immunity in the developing chicken embryo. *Immunol.* 1975; 29:497-508.
- 18 Zhang H, Guo Y, Yuan J. Conjugated linoleic acid enhanced the immune function in broiler chicks. *Brit J Nutr.* 2005; 94:746-752.
- 19 Maroufyan E, Kasim A, Ebrahimi M, Loh TC, Hair-Bejo M, Solemani AF. Dietary methionine and n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio reduce adverse effects of infectious bursal disease in broilers. *Poult Sci.* 2012; 91(9):2173-2182.
- 20 He Xi, Zhang H, Yang X, Zhang S, Dai Q, Xiao W, Ren G. Modulation of immune function by conjugated linoleic acid in chickens. *Food Agric Immunol.* 2007; 18(3-4):169-178.

- 21 DeLany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol*. 1999; 276(4):1172-1179.
- 22 Azadegan Mehr M, Hassanabadi A, Mirghelenj SA, Kermanshahi H. Effect of *in ovo* injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broilers chickens. *Span J Agric Res*. 2014; 12(2):455-461.
- 23 Patterson R, Connor ML, Krause DO, Nyachoti CM. Response of piglets weaned from sows fed diets supplemented with conjugated linoleic acid (CLA) to an *Escherichia coli* K88+ oral challenge. *Anim*. 2008; 2(9):1303-1311.
- 24 Fekete SG, Brown DL. Veterinary Aspects and Perspectives of Nutrigenomics: A Critical Review. *ActaVet Hung*. 2007; 55(2):229-239.
- 25 Pompeia C, Lopes LR, Miyasaka CK, Procópio J, Sannomiya P, Curi R. Effect of fatty acids on leukocyte function. *Braz J Med Biologic Res*. 2000; 33:1255-1268.
- 26 Sridhar K, Nalini KN, Kumar PA, Narasimha J, Raghunandan T, Ravinder RV. Effect of dietary incorporation of omega-3 PUFA rich oil sources on performance, carcass traits, serum biochemical parameters and immune response in krishbro broilers. *Indian J Anim Nutr*. 2005; 32(4):405-409.
- 27 Hayek MG, Han SN, Wu D, Watkins BA, Meydani M, Dorsey JL, Smith DE, Meydani SN. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrlBR mice. *J Nutr*. 1999; 129:32-38.
- 28 Cook ME, Miller CC, Park Y, Pariza M. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult Sci* 1993; 72:1301-1305.
- 29 Long FY, Yang X, Guo YM, Wang Z, Yuan JM, Zhang BK, Liu D. Conjugated linoleic acids alleviate the immunosuppression of peripheral blood T lymphocytes in broiler chickens exposed to cyclosporine A. *Poult Sci* 2012; 91:2431-2437.
- 30 Khatibjoo A, Kermanshahi H, Golian A, Zaghari M. The effect of dietary n-6:n-3 ratio and sex on broiler breeder immunity. *Poult Sci* 2011; 90:2209-2216.
- 31 Goodwin JS, Webb DR. Regulation of the immune response by prostaglandins. *Clin Immunol Immunopathol*. 1980; 15(1):106-122.
- 32 Goodwin JS, Bankhurst AD, Messner RP. Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin. *J Exp Med*. 1977; 146:1719-1734.
- 33 Takahashi K, Kawamata K, Akiba Y. Effect of mixture of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on T cell subpopulation and responsiveness to mitogen in splenocytes of male broiler chicks. *Asian-Aust J Anim Sci* 2007; 20(6):954-961.
- 34 Hamal KR, Burgess SC, Pevzner IY, Erf GF. Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. *Poult Sci*. 2006; 85:1364-1372.

35 Calini F, Sirri F. Breeder nutrition and offspring performance. *Braz J Poult Sci.* 2007; 9(2):77-83.

36 Oviedo-Rondón EO, Leandro NM, Ali R, Koci M, Moraes V, Brake J. Broiler breeder feeding programs and trace minerals on maternal antibody transfer and broiler humoral immune response. *J Appl Poult Res.* 2013; 22:499-510.

37 Moraes ML, Ribeiro AML, Santin E, Klasing KC. Effects of conjugated linoleic acid and lutein on the growth performance and immune response of broiler chickens. *Poult Sci* 2016; 95:237-246.

CAPÍTULO 6 - BIOMETRIA INTESTINAL, PESO RELATIVO DE ÓRGÃOS, DESEMPENHO E METABOLIZABILIDADE DOS NUTRIENTES DE DIETAS CONTENDO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PARA FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A JEJUM ALIMENTAR PÓS-ECLOSÃO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o desenvolvimento intestinal e dos órgãos, o desempenho e metabolizabilidade de dietas para pintos submetidos a jejum alimentar pós-eclosão, suplementados com CLA. Foram alojados 320 pintos, em delineamento inteiramente casualizado e esquema 2x2, com jejum (0; 12h) e CLA pré-inicial (0; 0,025%), totalizando 4 tratamentos e 8 repetições de 10 aves. Dos 4 aos 7 dias, determinou-se a retenção e os balanços de nitrogênio (BN) e extrato etéreo (BEE), e os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), nitrogênio (CMN) e extrato etéreo (CMEE). Avaliaram-se o desempenho, os pesos relativos (PR) de órgãos e a biometria de intestino total e delgado (ID), até 35 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$). O jejum reduziu os comprimentos intestinais até 14 dias, os PR de intestino, fígado e pâncreas após 12h, de moela+proventrículo após 12h, aos sete e aos 21 dias, e a absorção do saco vitelínico. O CLA reduziu o PR ID após 12h. O jejum reduziu o BEE. O CLA reduziu o CMMS e o BEE. O jejum em aves não suplementadas aumentou o CMN. O jejum reduziu o peso corporal após 12h; e o peso corporal, o consumo de ração (CR) e o ganho de peso aos sete e 14 dias. De 1-35 e de 22-35 dias, o jejum reduziu o CR. Concluindo, o jejum prejudicou o desenvolvimento intestinal, o PR de órgãos, o desempenho e reduziu o BEE, não havendo melhora devido a suplementação com CLA. O CLA reduziu o PR ID na primeira semana.

Palavras-chave: Ácido graxo poli-insaturado, balanço de nitrogênio, desenvolvimento intestinal, dieta pré-inicial, nutrição pós-eclosão.

CHAPTER 6 – INTESTINAL BIOMETRY, ORGANS RELATIVE WEIGHT, PERFORMANCE AND METABOLIZABILITY OF NUTRIENTS OF DIETS CONTAINING CONJUGATED LINOLEIC ACID FOR BROILERS SUBMITTED TO POST-HATCH FASTING

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the intestine and organs development, performance and metabolizability of diets for chicks submitted to post-hatching fasting, supplemented with CLA. A total of 320 chicks were housed in a completely randomized design, in a 2x2 arrangement, with fasting (0; 12h) and pre-starter CLA (0; 0.025%), totalizing 4 treatments and 8 replicates of 10 birds. From 4 to 7 days, retention and balance of nitrogen (NB) and ether extract (EEB), and metabolizability coefficients of dry matter (MCDM), nitrogen (MCN) and Ether extract (MCEE) were determined. Performance, organs relative weights (RW), and total and small intestine (SI) biometry were evaluated up to 35 days. Data were submitted to analysis of variance ($P < 0.05$). Fasting reduced intestinal lengths up to 14 days, and RW of intestine, liver and pancreas after 12h, RW of gizzard+proventriculus after 12h, at 7 and 21 days, and absorption of the yolk sac. The CLA reduced the SI RW after 12h. Fasting reduced the EEB. CLA reduced MCDM and EEB. Fasting in non-supplemented birds increased MCN. Fasting reduced body weight after 12 h; and reduced body weight, feed intake (FI) and weight gain at 7 and 14 days. From 1 to 35 and from 22 to 35 days, fasting reduced FI. In conclusion, fasting decreased intestine development, organs RW, performance and EEB, and there was no improvement in fasted birds due to CLA supplementation. CLA reduced SI RW in the first week old.

Keywords: Gut development, nitrogen balance, polyunsaturated fatty acid, post-hatching nutrition, pre-starter diet.

INTRODUÇÃO

Para que a produção de frangos de corte seja lucrativa e o produto apresente boa qualidade, a ave deve alcançar desempenho satisfatório, condição essa que depende de diferentes fatores. Entre eles, destaca-se o fornecimento dos nutrientes que permitam à ave suprir suas necessidades para manutenção, crescimento e desenvolvimento.

Ao abordar o conceito de nutrição aplicado à produção avícola, este não deve restringir-se somente à alimentação exógena que é oferecida, mas deve também considerar os nutrientes disponibilizados para a formação do embrião e as reservas do saco vitelínico, tão importantes para o pinto neonato. O conteúdo presente no ovo deve ser suficiente para garantir a formação e desenvolvimento adequados durante a vida embrionária e, após a eclosão, dar suporte à maturação morfológica e funcional da célula e dos órgãos do sistema imunitário.

Embora os lipídios e as proteínas presentes no saco vitelínico sejam utilizados na ausência do suprimento de energia via oral ao neonato, esses devem ser preferencialmente direcionados à síntese celular e à manutenção da imunidade passiva^{1,2}. Por ser reserva imediata de proteínas e de energia, o conteúdo do saco vitelínico pode manter a ave viva por três a quatro dias como única fonte de alimento, porém, com prejuízos ao desenvolvimento do intestino e do sistema imunológico e ao desempenho³. No primeiro dia de vida, a ave necessita de 11 kcal para atender às suas necessidades, entretanto, a metabolização completa de todos os triglicerídeos do saco vitelínico não produz mais que 9 kcal, insuficiente para satisfazer a demanda da ave¹. Isto faz com que outros nutrientes sejam utilizados para produção de energia, inclusive dos diferentes tecidos, com utilização de fluidos intersticiais e intracelulares⁴.

Na avicultura comercial, os pintos são retirados da incubadora somente após ter ocorrido a eclosão da maioria dos ovos, processo que pode se estender por até dois dias. Nesse intervalo, a ave não tem acesso ao alimento. Em seguida, os procedimentos de sexagem, vacinação, acondicionamento e transporte do incubatório à granja, entre outros, prolongam o jejum; o que significa que as aves podem ficar 48 horas ou mais sem se alimentarem, até que ocorra o alojamento⁵.

O ganho de peso, o peso corporal, a eficiência alimentar, a uniformidade do lote e os ganhos econômicos podem ser afetados pelo jejum pós-eclosão⁶. A literatura tem demonstrado que o jejum pode prejudicar o desempenho^{7,8,9,10}, a qualidade intestinal^{11,12}, o sistema imune¹³, o desenvolvimento muscular inicial¹⁴ e até mesmo interferir na expressão de certos genes¹⁵.

O trato gastrointestinal pode ter seu desenvolvimento prejudicado caso haja atraso no primeiro fornecimento de alimento, afetando a digestão e absorção de nutrientes, a imunidade e o desempenho da ave. O pinto neonato apresenta rápido desenvolvimento intestinal após a eclosão, fato este desencadeado fortemente pela presença de alimento. Submetê-lo ao jejum no período pós-eclosão pode afetar a maturação intestinal, podendo haver redução da proliferação de enterócitos, e prejuízo ao desenvolvimento de vilos e criptas no duodeno e jejuno¹⁶.

Por esse motivo, estratégias que minimizem as consequências do jejum pós-eclosão devem ser pesquisadas. Entre as medidas adotadas para atenuar tais prejuízos, pode-se salientar a suplementação da ave com nutrientes específicos, que possuam alguma funcionalidade. Como exemplos, é possível citar a utilização de suplemento nutricional na fase pós-eclosão para aumentar o peso corporal¹⁷ e o ganho de peso na fase inicial¹⁸, assim como o uso de ácidos orgânicos¹⁹ e simbióticos²⁰ para garantir o adequado desenvolvimento intestinal e a manutenção de sua integridade.

O ácido linoleico conjugado (CLA) designa o grupo de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, nas quais as duplas ligações são conjugadas²¹. Seu uso é associado à redução da gordura corporal, à modulação da inflamação, melhora da resposta imune e redução dos riscos de câncer e doenças cardiovasculares, entre outros²². O CLA tem capacidade de interferir no metabolismo lipídico, particularmente nos sistemas celulares de oxidação²³. O isômero *trans*-10, *cis*-12 pode reduzir a atividade da enzima Δ -dessaturase e trazer consequências para a síntese de eicosanoides e fluidez de membrana²⁴.

O CLA pode ser incorporado aos ácidos graxos de membranas celulares²⁵. Por este motivo, infere-se que possa influenciar a qualidade das membranas, inclusive no intestino, alterando sua composição e capacidade de absorção. Além disso, o CLA também possui efeito imunomodulador, estimulando a imunidade celular e humoral^{26,27}, que pode indiretamente melhorar o desempenho e a qualidade dos produtos de origem animal.

Com relação ao desempenho, estudos sugerem que o CLA possa favorecer o crescimento em roedores²⁸ e melhorar a eficiência alimentar em diferentes espécies animais^{29,30}.

Como sua inclusão na dieta pode melhorar a resposta imune e manter a integridade celular intestinal, além de reduzir os prejuízos do atraso no fornecimento de ração, espera-se que, por esse motivo, haja melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos do CLA sobre a metabolizabilidade de dietas, abrindo espaço para novas pesquisas.

Assim, objetivou-se avaliar a metabolizabilidade de dietas pré-iniciais para pintos de corte, dos quatro aos sete dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e suplementados com CLA na fase pré-inicial, bem como o desempenho, a biometria intestinal e o peso dos órgãos dessas aves até os 35 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo compõe o projeto de pesquisa protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da UFG, sob o número 011/2015. Foram recebidos de um incubatório comercial 320 pintos de corte machos e fêmeas, linhagem Cobb 500[®], com um dia de vida. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, sendo considerados os seguintes fatores: adoção de jejum alimentar pós-eclosão (com ou sem jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas) e inclusão de CLA (*trans*-10, *cis*-12) na dieta pré-inicial (0 ou 0,025% de CLA), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de dez aves cada.

Após o transporte, do incubatório ao Aviário Experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, processo que durou aproximadamente 04 horas, as aves foram pesadas e apresentaram peso médio inicial de $50,18 \pm 1,25$ g. Em seguida, as aves foram distribuídas em baterias de aço galvanizado, equipadas com comedouros e bebedouros do tipo linear. Às aves que não foram submetidas ao jejum, foi administrada a quantidade de 3g de ração experimental, por ave, para consumo, durante 12h, considerado o período médio necessário para transporte e alojamento de aves em condições comerciais. As aves de todos os tratamentos receberam água à vontade, para evitar desidratação e comprometimento de sua qualidade.

As rações experimentais foram fornecidas às aves até os sete dias de idade e, após esse período, foi fornecida dieta controle a todos os tratamentos até 35 dias de idade, quando as aves receberam água e ração à vontade. As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, para atender as exigências nutricionais das aves, segundo as recomendações de Rostagno et al.³¹. Aos tratamentos designados para receber o CLA, foi adicionado, conforme as recomendações do fabricante, 0,042% do produto Lutalin[®] (BASF), para garantir a inclusão de 0,025% de CLA. As rações pós-eclosão e as rações pré-iniciais apresentavam a mesma formulação dentro do mesmo tratamento, diferindo apenas quanto à forma física, sendo a ração pós-eclosão triturada e a pré-inicial farelada. A composição das dietas experimentais é apresentada nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas até o final da fase pré-inicial (7 dias de idade)

INGREDIENTES	TRATAMENTO	
	Controle	CLA
Milho		52,00
Farelo de soja		38,90
Óleo de soja		2,50
Fosfato bicálcico		2,00
Amido	1,54	1,50
Calcário		1,08
Sal comum		0,57
L-Lisina		0,40
DL-Metionina		0,40
L-Treonina		0,20
Premix mineral e vitamínico ¹		0,40
CLA ²	0,00	0,04
COMPOSIÇÃO CALCULADA (%)		
Proteína bruta		22,46
Energia metabolizável (kcal/kg)		2,95
Cálcio		1,00
Fósforo disponível		0,48
Ácido linoleico		2,60
Lisina digestível		1,41
Metionina digestível		0,69
Metionina + cistina digestível		0,98
Treonina digestível		0,94
Cloro		0,39
Potássio		0,86
Sódio		0,24
CLA trans-10, cis-12	0,00	0,02

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg): Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg.

²Lutalin (BASF®)

Avaliaram-se as seguintes variáveis no presente estudo: para o ensaio de metabolizabilidade, os balanços de extrato etéreo (BEE) e nitrogênio (BN), os coeficientes de matéria seca (CMMS), extrato etéreo (CMEE) e nitrogênio (CMN) e a retenção de extrato etéreo (RetEE) e nitrogênio (RetN); para a biometria intestinal, os pesos relativos de intestino total (delgado + grosso) e intestino delgado, e verificação do comprimento intestinal, após as 12 horas de fornecimento da ração pós-eclosão e antes do alojamento, e aos sete, 14, 21, 28 e 35 dias. Nas mesmas datas, avaliaram-se os pesos relativos de moela + proventrículo, fígado, coração e pâncreas.

As variáveis de desempenho avaliadas nas fases de 1 a 7, 1 a 14, 1 a 21, 1 a 35 e 22 a 35 dias de idade incluíram o peso das aves, o consumo de ração e a conversão alimentar com correção de mortalidade e o índice de viabilidade criatória.

TABELA 2 – Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas nas fases inicial (8 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e de terminação (34 a 35 dias)

INGREDIENTES	Fases de criação		
	Inicial	Crescimento	Terminação
Milho	58,92	60,34	64,05
Farelo de soja	35,09	32,00	29,00
Óleo de soja	2,04	3,61	3,53
Fosfato bicálcico	1,76	1,64	1,50
Calcário	0,91	0,86	0,81
Sal comum	0,48	0,46	0,44
L-Lisina	0,13	0,18	0,19
DL-Metionina	0,22	0,24	0,22
L-Treonina	0,01	0,03	0,03
Premix mineral e vitamínico ¹	0,40	0,60	0,20
COMPOSIÇÃO CALCULADA (%)			
Proteína bruta	20,78	19,56	18,50
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,98	3,10	3,15
Cálcio	0,87	0,82	0,76
Fósforo disponível	0,43	0,41	0,38
Ácido linoleico	2,47	3,30	3,30
Lisina digestível	1,11	1,07	1,02
Metionina digestível	0,50	0,50	0,47
Metionina + cistina digestível	0,79	0,77	0,73
Treonina digestível	0,72	0,70	0,66
Cloro	0,34	0,33	0,31
Potássio	0,81	0,76	0,71
Sódio	0,21	0,20	0,19

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg) – Fase inicial: Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg. Fase de crescimento: Vitamina A, 1.750.000 UI; Vitamina D3, 500.000 UI; Vitamina E, 3.000 UI; Vitamina K3, 375 mg; Vitamina B2, 1.250 mg; Ácido pantotênico, 3.250 mg; Vitamina B6, 750 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Ácido nicotínico, 8.000 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 2,5 mg; Colina, 80 g; Ferro, 10 g; Cobre, 2.500 mg; Manganês, 20 g; Zinco, 18 g; Iodo, 250 mg; Selênio, 75 mg; Virginiamicina, 4.125 mg; Salinomicina sódica, 16,5 g. Fase de terminação: Vitamina A, 1.500.000 UI; Vitamina D3, 350.000 UI; Vitamina E, 3.500 UI; Vitamina K3, 350 mg; Vitamina B1, 250 mg; Vitamina B2, 1.250 mg; Vitamina B6, 250 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Ácido pantotênico (min) 4.000 mg; Niacina, 11 g; Ácido fólico, 400 mg; Colina, 150 g; Cobre, 3.500 mg; Ferro, 20g; Manganês, 30 g; Iodo, 400 mg; Zinco, 25 g; Selênio, 100 mg.

Para o ensaio de metabolizabilidade, as bandejas metálicas foram forradas com lona plástica e posicionadas abaixo das gaiolas para facilitar a remoção das excretas. Os ensaios metabólicos foram realizados de quatro a sete dias de idade, pelo método da coleta

total das excretas, feito duas vezes ao dia. As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas para análises bromatológicas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da EVZ/UFG.

As análises de matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo das rações e das excretas foram realizadas em duplicata de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002)³². Após a moagem das amostras e determinação da matéria seca, o nitrogênio total foi determinado pelo método micro Kjeldahl, tendo seu resultado multiplicado pelo fator 6,25 para obtenção do percentual de proteína bruta. O extrato etéreo foi determinado pelo método a quente (método de Soxhlet), no qual a extração foi feita com éter de petróleo e o resultado é calculado pela diferença de peso da amostra ao início e ao final da extração.

O BN foi calculado pela diferença entre o nitrogênio consumido e o nitrogênio excretado. O BEE também foi calculado subtraindo-se o extrato etéreo (EE) excretado do EE consumido. O CMN foi calculado por meio da seguinte fórmula: $CMN = (BN/N \text{ ingerido}) \times 100$. O CMEE e o CMMS foram obtidos da mesma maneira. A RetN foi calculada por meio da fórmula: $RetN = (BN / \text{Ganho de peso no período}) \times 1000$. A RetEE foi calculada da mesma maneira.

Após as 12 horas de fornecimento da ração pós-eclosão e antes do alojamento, e semanalmente até os 35 dias de idade, uma ave por repetição foi pesada e eutanasiada por deslocamento cervical para realização de necropsia. Procedeu-se a pesagem dos órgãos e intestinos, e a verificação do comprimento intestinal. Calculou-se o peso relativo dos mesmos, considerando a seguinte fórmula: $\text{peso relativo} = (100 \times \text{peso do órgão}) / \text{peso da ave}$.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, a 5% de probabilidade, com o auxílio do software R³³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 12 horas de jejum pós-eclosão, os pesos relativos de intestino e intestino delgado apresentaram menores valores ($P < 0,001$) quando comparados aos de pintos que receberam ração pós-eclosão. As medidas de comprimento apresentaram o mesmo comportamento para intestino total ($P = 0,001$) e intestino delgado ($P < 0,001$). Aves submetidas ao jejum apresentaram menor absorção do conteúdo do saco vitelínico ($P = 0,028$) (Tabela 3).

Aos sete dias de idade, não houve influência do jejum para biometria intestinal (Tabela 4). Aos 14 dias, os comprimentos de intestino total e intestino delgado foram afetados pelo jejum ($P < 0,001$ e $P = 0,001$, respectivamente), conforme Tabela 5.

TABELA 3 – Peso relativo (%) de saco vitelínico e biometria intestinal de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA

Tratamento	PR saco vitelínico (%)	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO					
Com jejum	10,33 a	5,15 b	3,56 b	46,84 b	43,00 b
Sem jejum	8,51 b	6,51 a	4,76 a	51,71 a	48,64 a
DIETA PRÉ-INICIAL					
Controle	9,20	5,92	4,34 a	50,06	46,77
CLA	9,63	5,74	3,98 b	48,50	44,88
Valor de P					
Jejum pós-eclosão	0,028	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
Dieta Pré-inicial	0,586	0,531	0,041	0,252	0,140
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,832	0,133	0,133	0,923	0,630
CV (%)	23,65	12,98	11,12	7,53	7,58

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 4 – Biometria intestinal de pintos de corte aos 7 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	10,70	8,55	108,00	101,74
Sem jejum	10,51	8,23	103,29	98,07
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	11,02	8,85	104,63	98,82
CLA	10,20	7,92	106,65	101,00
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,729	0,519	0,092	0,155
Dieta Pré-inicial	0,152	0,066	0,461	0,393
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,720	0,735	0,254	0,543
CV (%)	14,81	16,04	7,09	6,86

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

No entanto, aos 21, 28 e 35 dias de idade, não houve efeito do jejum (P>0,05) sobre os pesos relativos ou comprimentos intestinais (Tabelas 6, 7 e 8).

Corduk et al.³⁴ também notaram maior peso relativo de saco vitelínico em pintos que sofreram atraso no fornecimento de ração e água. Sem alimento, o saco vitelínico é a principal fonte de energia para o neonato, o que deveria acelerar sua utilização pelo organismo da ave. Todavia, o baixo crescimento corporal e desenvolvimento intestinal e o metabolismo reduzido podem diminuir as exigências de energia ao ponto de retardar a absorção do conteúdo do saco vitelínico³⁵.

TABELA 5 – Biometria intestinal de pintos de corte aos 14 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	6,57	5,30	125,00 b	118,75 b
Sem jejum	7,16	5,67	136,71 a	129,78 a
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	7,04	5,61	131,87	124,71
CLA	6,69	5,36	129,84	123,81
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,181	0,308	<0,001	0,001
Dieta Pré-inicial	0,409	0,487	0,506	0,771
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,261	0,593	0,068	0,171
CV (%)	17,49	18,37	6,52	7,04

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 6 – Biometria intestinal de pintos de corte aos 21 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	4,20	3,32	130,96	124,20
Sem jejum	3,99	3,32	135,43	129,75
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	3,90	3,23	131,21	126,87
CLA	4,29	3,42	135,18	127,08
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,340	0,992	0,274	0,121
Dieta Pré-inicial	0,083	0,342	0,330	0,952
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,727	0,549	0,484	0,184
CV (%)	14,90	15,89	8,51	7,13

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

TABELA 7 – Biometria intestinal de pintos de corte aos 28 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	3,80	2,90	158,96	151,53
Sem jejum	3,83	2,91	166,95	157,47
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	3,80	2,95	163,08	154,41
CLA	3,82	2,86	162,83	154,59
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,812	0,981	0,091	0,203
Dieta Pré-inicial	0,861	0,450	0,957	0,968
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,549	0,821	0,266	0,400
CV (%)	8,69	10,70	7,19	7,57

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

TABELA 8 – Biometria intestinal de pintos de corte aos 35 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	PR intestino (%)	PR ID (%)	Comprimento intestino (cm)	Comprimento ID (cm)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	3,32	2,67	175,31	169,70
Sem jejum	3,13	2,46	185,15	175,06
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	3,18	2,50	177,65	168,75
CLA	3,27	2,63	182,81	176,01
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,089	0,078	0,207	0,396
Dieta Pré-inicial	0,393	0,283	0,504	0,252
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,395	0,611	0,925	0,351
CV (%)	9,53	12,09	11,96	10,02

PR – peso relativo; ID – intestino delgado.

As aves do presente estudo foram afetadas pelo jejum pós-eclosão, no entanto, conseguiram reestabelecer a condição de desenvolvimento intestinal a partir de 21 dias de idade, como demonstrado pela análise morfométrica, e os efeitos negativos da privação de alimento foram mais evidentes após as primeiras 12 horas pós-eclosão (Tabela 3). Com isso, demonstrou-se que o fornecimento de nutrientes ao neonato pode estimular o desenvolvimento intestinal. O intestino delgado dos pintos apresenta condições para rápido desenvolvimento imediatamente após a eclosão, no momento em que ocorre a transição da dependência de nutrientes vindos do saco vitelínico para a dependência de alimentação exógena. Contudo, comercialmente, essa transição geralmente tem início 48 horas ou mais após o nascimento, em virtude de fatores logísticos de produção¹⁶.

Resultados similares aos do presente estudo foram obtidos por Gonzales et al.³⁵, que submeteram pintos de corte a jejum de 18 e 36 horas, obtendo menores pesos absoluto e relativo de intestino e intestino delgado e efeito mais pronunciado com o maior tempo de jejum. Zavarize et al.³⁶ também relataram que a redução do peso relativo de intestino delgado e grosso foi diretamente proporcional ao período de jejum.

Quanto mais rápido o alimento é fornecido ao neonato, mais rápido é o aumento do peso e do comprimento do intestino delgado³⁷. Bhanja et al.¹⁰ concluíram que a alimentação das aves nas primeiras 24 horas de vida resultou em segmentos de jejuno e íleo maiores do que em pintos submetidos a 48 horas de jejum.

Outros estudos têm descrito a ocorrência de alterações histomorfométricas com o jejum pós-eclosão, reforçando seu efeito negativo na capacidade digestiva e absorviva do intestino delgado. Como exemplificado na pesquisa publicada por Geyra et al.¹⁶, verificou-se

redução no número de células por cripta e por vilos em todos os segmentos do intestino delgado.

Com relação ao CLA, houve efeito apenas após o período pós-eclosão de 12 horas (Tabela 3), com redução do peso relativo de intestino delgado ($P=0,041$).

O trato gastrointestinal é o primeiro local de ação dos isômeros bioativos de CLA³⁸, porém, há poucas investigações sobre a influência do CLA da dieta. Sabe-se que o ácido graxo pode alterar a expressão de genes envolvidos na regulação da função intestinal³⁹, modular a expressão de proteínas estomacais e apresentar efeito probiótico³⁸.

O jejum resultou em menor peso relativo de moela + proventrículo logo após o período de 12 horas ($P<0,001$) e aos sete dias de idade ($P=0,024$). Contudo, aos 21 dias de idade, o atraso no fornecimento de ração aumentou o peso relativo destes órgãos ($P=0,028$). Não houve alterações em função da suplementação com CLA (Tabela 9).

TABELA 9 – Peso relativo (%) de moela + proventrículo de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA

Tratamento	Idade					
	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	6,80 b	7,69 a	4,94	3,35 b	2,78	2,44
Sem jejum	9,19 a	6,97 b	5,15	3,80 a	2,85	2,35
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	8,23	7,58	4,99	3,68	2,78	2,42
CLA	7,76	7,08	5,10	3,47	2,84	2,36
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	<0,001	0,024	0,307	0,028	0,725	0,480
Dieta Pré-inicial	0,151	0,111	0,587	0,289	0,756	0,636
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,736	0,962	0,503	0,563	0,489	0,070
CV (%)	11,10	11,64	11,15	15,16	17,71	14,33

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

Codurk et al.³⁴ obtiveram resultados semelhantes ao aplicarem jejum de 24 horas, com redução do peso relativo de moela aos 21 dias de idade. Cengiz et al.¹⁹ também notaram resultado similar com pintos submetidos a jejum pós-eclosão por 36 horas e encontraram menor peso relativo de moela e pâncreas aos dez dias de idade.

Bhanja et al.¹⁰, por sua vez, não observaram, aos sete dias de idade, alteração do peso relativo de moela e proventrículo quando aplicado jejum de 48 horas, embora fígado e pâncreas tenham apresentado menor peso. Por outro lado, Maiorka et al.⁴⁰ relataram, ao

contrário do que esperava, menor peso de moela + proventrículo em pintos com acesso imediato ao alimento logo nas primeiras horas de vida.

Após 12 horas, o peso relativo de fígado foi reduzido em aves submetidas ao jejum ($P=0,019$), não sendo observado do CLA sobre esse órgão ($P>0,05$) (Tabela 10).

TABELA 10 - Peso relativo (%) de fígado de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA

Tratamento	Idade					
	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	2,76 b	4,41	2,79	2,49	1,91	1,63
Sem jejum	2,96 a	4,58	2,82	2,23	1,84	1,70
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	2,88	4,61	2,80	2,30	1,87	1,66
CLA	2,84	4,38	2,80	2,41	1,88	1,67
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	0,019	0,477	0,807	0,060	0,510	0,319
Dieta Pré-inicial	0,615	0,320	0,978	0,429	0,889	0,929
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,183	0,947	0,066	0,234	0,439	0,561
CV (%)						
	7,86	14,59	10,99	15,23	13,21	12,29

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

A redução do peso de fígado em aves submetidas ao jejum pode ser observada por Codurk et al.³⁴ nas primeiras horas de vida. Pires et al.¹³ constataram que o peso deste órgão em pintos privados de alimento continuou o mesmo entre 48 e 72 horas de vida, sendo mais leve do que o fígado de pintos que receberam ração logo nas primeiras horas de vida.

Zavarize et al.³⁶ observaram, aos sete dias idade, redução linear do peso relativo de fígado em função do tempo de jejum pós-eclosão, que variou de 0 a 12 horas. Outros autores, entretanto, argumentaram que o fígado se apresenta mais leve em pintos de três dias de idade apenas quando submetidos a períodos de jejum superiores a 36 horas³⁷. As alterações neste órgão, em decorrência do jejum, evidenciam que o metabolismo e seu desenvolvimento após a eclosão provavelmente dependem de nutrientes absorvidos pelo intestino⁴⁰.

Em oposição aos resultados obtidos, outras pesquisas demonstraram que o CLA pode aumentar o peso de fígado^{41,42}, porém alertaram que este aumento pode estar relacionado ao acúmulo hepático de lipídios⁴³.

Os tratamentos não influenciaram o peso relativo de coração em nenhuma das idades avaliadas ($P>0,05$) (Tabela 11). Relatos sobre alterações ocorridas nesse órgão em decorrência do jejum não indicam efeito³⁷, corroborando os dados obtidos no presente estudo.

TABELA 11– Peso relativo (%) de coração de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA

Tratamento	Idade					
	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	0,76	0,84	0,67	0,65	0,52	0,50
Sem jejum	0,78	0,78	0,73	0,62	0,47	0,49
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	0,77	0,82	0,69	0,66	0,50	0,50
CLA	0,78	0,80	0,71	0,61	0,49	0,49
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	0,664	0,096	0,087	0,342	0,097	0,727
Dieta Pré-inicial	0,821	0,487	0,647	0,139	0,884	0,769
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,876	0,329	0,843	0,589	0,836	0,313
CV (%)	13,57	11,27	14,68	14,53	14,06	12,70

O peso relativo do pâncreas foi alterado apenas pelo jejum, apresentando redução após o período de 12 horas em pintos que receberam ração pós-eclosão ($P < 0,001$) (Tabela 12). Elharidy et al.⁴⁴ também não observaram efeito do CLA sobre os pesos relativos de pâncreas, coração e moela em pintos, embora o fígado tenha aumentado de peso em resposta à suplementação; assim como descrito por Schafer et al.⁴⁵.

TABELA 12– Peso relativo (%) de pâncreas de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas e dieta contendo CLA

Tratamento	Idade					
	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	0,19 b	0,50	0,39	0,31	0,23	0,19
Sem jejum	0,34 a	0,48	0,38	0,30	0,22	0,19
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	0,27	0,4952	0,38	0,31	0,23	0,18
CLA	0,26	0,4931	0,40	0,30	0,23	0,19
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	<0,001	0,519	0,468	0,546	0,461	0,561
Dieta Pré-inicial	0,589	0,922	0,333	0,686	0,885	0,542
Jejum pós-eclosão x Dieta Pré-inicial	0,652	0,568	0,234	0,439	0,497	0,841
CV (%)	24,14	12,39	15,22	19,36	16,95	18,92

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$).

Os resultados aqui obtidos demonstraram que, a partir de 28 dias de idade, o jejum pós-eclosão não mais influenciou os pesos dos órgãos analisados. Embora avaliações imediatamente após o período de jejum demonstrem que este pode afetar o peso das aves,

avaliações em idades posteriores podem não apresentar variação alguma⁴⁶. O efeito do jejum no peso de órgãos também não foi observado por Lamot et al.⁴⁷, a partir de 18 dias de idade, e por Gonzales et al.³⁵, aos 42 e 35 dias. Todavia, os últimos autores ressaltaram que há casos em que o ganho compensatório pode ser limitado, uma vez que o jejum ocorre em um momento crucial para o desenvolvimento da ave.

O CLA não influenciou, isoladamente, o peso relativo dos órgãos, em nenhuma das idades avaliadas ($P>0,05$). O confronto de informações entre os resultados obtidos e a literatura disponível sugere a necessidade de mais estudos para confirmar o modo de ação deste ácido graxo sobre o peso de órgãos e sobre o trato gastrointestinal.

Ao avaliar o desempenho pré-inicial (Tabela 13), verificou-se que aves submetidas ao jejum alimentar pós-eclosão apresentaram menor peso corporal após 12 horas ($P<0,001$), menor peso aos sete dias ($P<0,001$), menor consumo de ração ($P<0,001$) e menor ganho de peso ($P=0,003$).

TABELA 13 – Desempenho de pintos de corte de 1 a 7 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta contendo CLA

Tratamentos	Peso após 12 horas (g)	Peso aos sete dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	50,6 b	184,8 b	139,8 b	134,4 b	1,052	97,9
Sem jejum	55,7 a	197,3 a	150,4 a	142,3 a	1,070	97,9
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	53,4	191,6	145,8	138,6	1,055	99,3
CLA	52,9	190,6	144,4	138,1	1,066	96,5
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	<0,001	<0,001	<0,001	0,003	0,092	1,000
Dieta Pré-inicial	0,135	0,697	0,591	0,853	0,265	0,145
Jejum x Dieta	0,080	0,951	0,475	0,944	0,481	0,460
CV (%)	1,45	3,85	5,07	5,03	2,76	5,36

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

No período compreendido entre 1 e 14 dias de idade (Tabela 14), o jejum pós-eclosão reduziu o peso corporal ($P=0,001$), o consumo de ração ($P<0,001$) e o ganho de peso ($P=0,006$). Observou-se, portanto, o mesmo comportamento, com alteração das mesmas variáveis, nas fases de 1 a 7 e 1 a 14 dias de idade.

De 1 a 21 dias de idade, o jejum alimentar pós-eclosão e a suplementação pré-inicial de CLA não influenciaram ($P>0,05$) o desempenho das aves (Tabela 15). Entretanto, houve interação destes fatores para conversão alimentar ($P<0,030$), sendo que no

desdobramento da interação (Tabela 16), constatou-se que aves não submetidas ao jejum e suplementadas com CLA na fase pós-eclosão apresentaram melhor conversão alimentar, quando comparadas às não suplementadas. Em aves que passaram por jejum, não houve efeito da suplementação com CLA.

TABELA 14 - Desempenho de pintos de corte de 1 a 14 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta contendo CLA

Tratamentos	Peso aos 14 dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO					
Com jejum	482,8 b	526,1 b	432,4 b	1,216	98,9
Sem jejum	506,9 a	552,9 a	451,9 a	1,225	97,7
DIETA PRÉ-INICIAL					
Controle	494,3	540,7	441,3	1,226	98,8
CLA	495,4	538,3	443,0	1,215	97,8
Valor de P					
Jejum pós-eclosão	0,001	<0,001	0,006	0,442	0,286
Dieta Pré-inicial	0,865	0,737	0,799	0,316	0,361
Jejum x Dieta	0,733	0,302	0,770	0,264	0,780
CV (%)	3,81	3,69	4,25	2,41	3,10

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 15 - Desempenho de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta contendo CLA

Tratamentos	Peso aos 21 dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO					
Com jejum	885,3	1172,6	834,9	1,404	99,3
Sem jejum	898,2	1194,3	843,2	1,416	98,5
DIETA PRÉ-INICIAL					
Controle	886,5	1174,6	833,5	1,409	99,2
CLA	897,1	1192,2	844,6	1,411	98,5
Valor de P					
Jejum pós-eclosão	0,332	0,179	0,533	0,287	0,284
Dieta Pré-inicial	0,423	0,275	0,402	0,829	0,362
Jejum x Dieta	0,392	0,627	0,381	0,030	0,779
CV (%)	4,13	3,78	4,42	2,31	2,05

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 16 - Desdobramento da interação jejum alimentar pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável conversão alimentar aos 21 dias de idade

Variável	Jejum alimentar pós-eclosão	Dieta pré-inicial	
		Controle	CLA
Conversão alimentar aos 21 dias	Com jejum	1,405 Aa	1,418 Aa
	Sem jejum	1,428 Aa	1,390 Ab

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si (P<0,05).

De 1 a 35 dias e de 22 a 35 dias de idade, o jejum influenciou o consumo de ração, que foi maior para aves não submetidas à privação de alimento nas 12 horas subsequentes à eclosão, apresentando, respectivamente, significância de $P=0,025$ e $P=0,043$ (Tabelas 17 e 18).

TABELA 17 - Desempenho de pintos de corte de 1 a 35 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta contendo CLA

Tratamentos	Peso aos 35 dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO					
Com jejum	2107,7	3062,0 b	2057,3	1,490	99,5
Sem jejum	2185,0	3210,5 a	2130,0	1,511	99,1
DIETA PRÉ-INICIAL					
Controle	2137,6	3116,1	2084,6	1,498	99,1
CLA	2155,0	3156,4	2102,6	1,503	99,5
Valor de P					
Jejum pós-eclosão	0,186	0,025	0,212	0,401	0,285
Dieta Pré-inicial	0,762	0,527	0,754	0,857	0,362
Jejum x Dieta	0,873	0,589	0,869	0,664	0,780
CV (%)	7,51	5,68	7,70	4,56	1,23

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

TABELA 18 - Desempenho de pintos de corte de 22 a 35 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta contendo CLA

Tratamentos	Peso inicial (g)	Peso aos 35 dias (g)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar	Viabilidade criatória (%)
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	907,6	2107,7	1889,4 b	1200,1	1,580	100
Sem jejum	936,0	2185,0	2016,1 a	1248,9	1,619	100
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	923,0	2137,6	1941,4	1214,6	1,605	100
CLA	920,6	2155,0	1964,1	1234,4	1,594	100
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	0,126	0,186	0,043	0,310	0,284	1,000
Dieta Pré-inicial	0,898	0,762	0,706	0,679	0,770	1,000
Jejum x Dieta	0,862	0,873	0,486	0,796	0,643	1,000
CV (%)	5,54	7,51	8,66	10,91	6,38	0

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

Em todas as fases avaliadas, pelo menos uma das variáveis de desempenho foi afetada pelo jejum pós-eclosão. Os prejuízos concentraram-se principalmente até os 14 dias de idade, havendo, no final do período de estudo, alterações apenas no consumo de ração. Isto mostra a importância da provisão de alimento nas primeiras horas de vida, já que os prejuízos podem se estender por todo o período de criação.

São encontrados na literatura relatos que explicam os efeitos negativos do jejum pós-eclosão sobre o desempenho das aves. Os procedimentos realizados no incubatório, incluindo sexagem, vacinação e seleção, e o transporte até a granja retardam o alojamento e prolongam o período de jejum por até 48 horas⁵. A gema residual fornece grande aporte de nutrientes nos primeiros dias após a eclosão, embora a ingestão de alimento seja necessária para o crescimento da ave e desenvolvimento dos órgãos¹³, além da utilização adequada da própria gema residual³⁷.

Como apontado por Almeida et al.⁷, os nutrientes encontrados no saco vitelínico são mais bem aproveitados na forma de imunoglobulinas, fosfolipídios e colesterol, para atendimento da imunidade passiva e composição de membranas celulares, respectivamente, do que na forma de aminoácidos e provimento energético.

O acesso ao alimento exógeno estimula o desenvolvimento do trato gastrointestinal⁴⁸. Portanto, o jejum alimentar pós-eclosão prejudica seu desenvolvimento e, conseqüentemente, o crescimento das aves.

O jejum pós-eclosão pode conduzir à perda de peso corporal ao final do período^{7,8} e a menores ganhos nas fases subsequentes^{5,8,10,13}. O menor consumo de alimento também foi relatado por Almeida et al.⁷ que observaram menor consumo de ração aos 7, 21 e 42 dias de idade, menor ganho de peso aos 7 dias e no período total de criação; e por Teixeira et al.⁹, que verificaram que quanto maior o tempo de jejum, menor o consumo e o ganho de peso aos sete dias de idade. Ainda pode haver prejuízo ao desenvolvimento de órgãos, como fígado e baço¹³. Tabeidian et al.¹⁴ propuseram que o jejum pós-eclosão ainda pode prejudicar o desenvolvimento muscular inicial, refletindo em pior rendimento de carcaça. Assim, pode haver comprometimento do desenvolvimento e do desempenho das aves, com redução dos ganhos econômicos⁶.

A perda de peso corporal em pintos com restrição total ao acesso de ração equipara-se à perda apresentada por pintos com restrição total ao acesso de ração e água, sugerindo que tal perda não é devido à desidratação, mas à não ingestão de nutrientes⁴⁹.

Atualmente, o jejum pós-eclosão é uma realidade vivenciada na criação comercial de frangos de corte, devido à quantidade de procedimentos realizados, logística e eventuais imprevistos que podem ocorrer desde a retirada dos pintainhos da incubadora até o alojamento a campo. Embora se busque a máxima eficiência e rapidez na realização de todo o processo, as aves ainda estão sujeitas aos prejuízos trazidos pelo jejum, justificando a aplicação de estratégias, como o fornecimento precoce de dietas, aliado à utilização de nutrientes que possam minimizar as conseqüências do jejum.

Ao se avaliar os dados expressos na Tabela 16, é possível constatar o efeito benéfico da utilização do CLA na conversão alimentar em aves de 1 a 21 dias de idade, quando não submetidas ao jejum alimentar pós-eclosão. Estudos desenvolvidos por Chaplin et al.³⁸ já apontaram a capacidade probiótica do CLA e estímulo ao desenvolvimento do trato gastrointestinal, o que deve ser proporcionado nos estágios iniciais de vida por determinar a qualidade intestinal e favorecer o aproveitamento de nutrientes e o desempenho da ave. Entretanto, esperava-se que o CLA pudesse amenizar os efeitos deletérios do jejum sobre o desempenho das aves de forma geral, devido às suas propriedades imunomoduladoras e probióticas e ao possível efeito sobre a integridade celular do intestino, tão prejudicado pela aplicação do jejum.

Ao analisar os resultados referentes à metabolizabilidade das dietas pré-iniciais (Tabela 19), verificou-se que o valor de balanço de extrato etéreo foi maior ($P=0,014$) quando as aves não foram submetidas ao jejum alimentar pós-eclosão. Isto reforça a importância do fornecimento de alimento às aves o mais rápido possível, para favorecer o desenvolvimento intestinal e estimular suas secreções.

TABELA 19 - Metabolizabilidade de dietas pré-iniciais contendo ácido linoléico conjugado (CLA) para frangos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão

Tratamentos	CMMS (%)	CMN (%)	CMEE (%)	Ret. N	Ret. EE	BN	BEE
JEJUM PÓS-ECLOSÃO							
Com jejum	72,1	66,5	80,8	49,8	5,2	43,1	45,5 b
Sem jejum	71,5	65,4	81,1	49,2	5,3	45,0	48,9 a
DIETA PRÉ-INICIAL							
Controle	73,1 a	66,5	81,5	49,9	5,6 a	45,5 a	51,7 a
CLA	70,5 b	65,4	80,5	49,2	4,9 b	42,6 b	42,7 b
Valor de P							
Jejum pós-eclosão	0,238	0,204	0,798	0,493	0,324	0,149	0,014
Dieta Pré-inicial	<0,001	0,190	0,353	0,371	<0,001	0,037	<0,001
Jejum x Dieta	0,345	0,055	0,103	0,512	0,597	0,806	0,839
CV (%)	1,84	3,52	3,82	4,52	6,51	8,57	7,65

CMMS: Coeficiente de Metabolizabilidade da Matéria Seca, CMN: Coeficiente de Metabolizabilidade do Nitrogênio, CMEE: Coeficiente de Metabolizabilidade do Extrato Etéreo, RET N: Nitrogênio retido (mg de nutrientes/grama de ganho de peso), RET EE: Extrato etéreo retido (mg de nutrientes/grama de ganho de peso), BN: Balanço de Nitrogênio, BN: Balanço de Extrato Etéreo.

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

Após a eclosão, as principais mudanças morfológicas associadas ao desenvolvimento do trato gastrointestinal incluem a diferenciação de enterócitos, definição das criptas e aumento da superfície absorptiva do intestino⁵⁰. No entanto, estas alterações dependem do primeiro acesso ao alimento, permitindo afirmar que o jejum pós-eclosão pode

prejudicar a função intestinal e o crescimento da ave, como observado por Tabedian et al.¹¹, Ganjali et al.⁶ e Shinde et al.¹², que relataram redução na altura de vilos decorrente do jejum pós-eclosão.

O atraso no desenvolvimento dos vilos intestinais, dos órgãos relacionados ao trato gastrointestinal e, conseqüentemente, o prejuízo à síntese de enzimas e outras secreções pode interferir na absorção dos nutrientes, e assim reduzir a digestibilidade da dieta. De acordo com Bhanja et al.¹⁰, a habilidade que ave desenvolve para digerir os nutrientes dos alimentos faz parte do processo de transição da vida embrionária para a vida independente. Após a eclosão, fígado, pâncreas e intestino delgado se desenvolvem rapidamente, enfatizando a importância destes órgãos para a ave jovem.

Conforme apontado por Sklan e Noy⁵¹, aves alimentadas logo após a eclosão apresentam maior atividade das enzimas tripsina, amilase e lipase na mucosa intestinal, quando comparadas a aves submetidas ao jejum. Do mesmo modo, a privação de alimento após a eclosão afeta o peso do fígado, comprovando que o metabolismo e desenvolvimento deste órgão nos primeiros estágios de vida da ave estão provavelmente associados a substratos derivados da absorção intestinal.

Diferente dos resultados encontrados no presente estudo, Leandro et al.⁵² observaram que a aplicação de jejum pós-eclosão conduziu a um maior valor do balanço de nitrogênio, e relacionaram o ocorrido a um possível ganho compensatório na utilização do nitrogênio da dieta, não acompanhado por aumento na excreção de nitrogênio endógeno.

Em virtude da suplementação de CLA, houve redução do coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca ($P < 0,001$). Corl et al.⁵³ também verificaram, em suínos, menor digestibilidade ileal aparente da matéria seca em decorrência da suplementação com CLA.

A adição de CLA às dietas promoveu o mesmo comportamento para as variáveis relacionadas à retenção ($P < 0,001$) e ao balanço de extrato etéreo ($P < 0,001$), causando redução de tais valores. As pesquisas conduzidas por Du e Ahn⁵⁴ demonstraram a mesma tendência ao relatar maior presença de ácido linoleico e linolênico em frangos de corte suplementados de CLA. Sabe-se que o CLA exerce influência sobre o metabolismo lipídico, especialmente nos sistemas celulares de oxidação, induzindo a β -oxidação principalmente no tecido adiposo, para o fornecimento de energia. Assim, ocorre a inibição do armazenamento de ácidos graxos²⁴. Raposo et al.⁵⁵ e Moura et al.⁵⁶ propuseram que os ácidos graxos poli-insaturados das classes ômega-3 e ômega-6 ocasionam a captação seletiva do conteúdo de colesterol

esterificado da HDL para reutilização pelo fígado ou conversão em ácidos biliares, que é parcialmente eliminado nas fezes, elevando a excreção de lipídios totais.

O CLA tem sido associado à alteração da composição corporal, reduzindo a deposição de gordura e aumentando a massa magra⁵⁷. A menor deposição de gordura é atribuída ao incremento na lipólise. Já o aumento da massa magra pode não ser devido apenas às mudanças na relação gordura: proteína corporal, mas também ao maior aproveitamento da proteína da dieta. Müller et al.⁵⁸ relataram em suínos suplementados de CLA maior balanço de nitrogênio e aumento evidente na deposição de proteína corporal. Entretanto, no presente estudo, o balanço de nitrogênio foi menor quando as aves foram suplementadas de CLA ($P < 0,037$). Também contrastando os resultados observados, Previero⁵⁹ verificou que a adição de até 1% de CLA na dieta de frangos de corte não alterou o balanço de nitrogênio.

Houve interação do jejum alimentar pós-eclosão e da suplementação com CLA para o coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio ($P = 0,055$). Quando fornecida a dieta não suplementada, os valores foram maiores para animais que passaram por jejum; e quando aplicado o jejum, os valores de metabolizabilidade do nitrogênio foram maiores para animais submetidos à dieta controle (Tabela 20). Em resumo, o valor do coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio foi maior quando as aves passaram por jejum pós-eclosão e não foram suplementadas com CLA.

TABELA 20 – Interação do coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio para a utilização da dieta pré-inicial e jejum alimentar pós-eclosão

Variável	Jejum pós-eclosão	Dieta pré-inicial	
		Controle	CLA
Coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio	Com jejum	67,90 Aa	65,16 Ab
	Sem jejum	65,20 Ba	65,74 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si ($P < 0,05$).

CONCLUSÃO

O jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas retarda a absorção do saco vitelínico, afeta o desempenho até os 14 dias de idade e o desenvolvimento do trato digestivo até os 21 dias de idade. O jejum não afeta a metabolizabilidade das dietas pré-iniciais para pintos de corte, porém reduz o BEE.

A suplementação pré-inicial de CLA não melhora o desenvolvimento intestinal, não promove maior metabolizabilidade das dietas ou melhora no desempenho de pintos submetidos ao jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Dibner JJ, Knight DC, Kitchell ML, Atwell CA, Downs AC, Ivey FJ. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *J Appl Poult Res.* 1998; 7:425-436.
2. Cherian G. Essential fatty acids and early life programming in meat-type birds. *World Poult Sci J.* 2011; 67:599-614.
3. Panda AK, Sunder GS, Rama Rao SV, Raju MVLN. Early nutrition enhances growth and speeds up gut development. *World Poult.* 2006; 22(4):15-16.
4. Pires DL, Malheiros EB, Boleli IC. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. *Braz J Poult Sci.* 2007; 9(4):221-228.
5. Batal AB, Parsons CM. Effect of fasting versus feeding oasis after hatching on nutrient utilization in chicks. *Poult Sci.* 2002; 81:853-859.
6. Ganjali H, Raji AR, Zarghi H. Effect of post hatch delayed access to feed on performance, GIT physical and histological development and yolk absorption in young broiler chicks. *Biomed Pharmacol J.* 2015; 8(2):945-955.
7. Almeida JG, Dahlke F, Maiorka A, Macari M, Furlan RL. Efeito do jejum no intervalo entre o nascimento e o alojamento sobre o desempenho de frangos de corte provenientes de matrizes de diferentes idades. *Arch Vet Sci.* 2006; 11(2):50-54.
8. Hakim MR, Syamsuriadi B, Banong dan W Pakiding S. Respon berat badan ayam pedaging yang dipuaskan setelah menetas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan.* 2014; 3(3):126-132.
9. Teixeira ENM, Silva JHV, Costa FGP, Martins TDD, Givisiez PEN, Furtado DA. Efeito do tempo de jejum pós-eclosão, valores energéticos e inclusão do ovo desidratado em dietas pré-iniciais e iniciais de pintos de corte. *Rev Bras Zootec.* 2009; 38(2):314-322.
10. Bhanja SK, Anjali Devi C, Panda AK, Shyan Sunder G. Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci.* 2009; 22(8):1174-1179.
11. Tabedian AS, Samie A, Pourreza J, Sadeghi GH. Effect of fasting or post-hatch diet's type on chick development. *J Anim Vet Advances.* 2010; 9(2):406-413.
12. Shinde AS, Goel A, Mehra M, Rokade J, Bhadauria P, Mandal AB, Bhanja SK. Delayed post hatch feeding affects performance, intestinal morphology and expression. Pattern of nutrient transporter genes in egg type chickens. *J Nutr Food Sci.* 2015; 5(3):11p.
13. Pires DL, Malheiros EB, Boleli IC. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. *Braz J Poult Sci.* 2007; 9(4):221-228.
14. Tabedian SA, Samie A, Pourreza J, Sadeghi GH. Effect of fasting or post-hatch diet's type on intestinal morphology in broilers. *Proceeding of International Conference on Life Science and Technology IPCBEE*, 3: 69-74, 2011.

15. Higgins SE, Ellestad LE, Trakooljul N, McCarthy F, Saliba J, Cogburn LA, Porter TE. Transcriptional and pathway analysis in the hypothalamus of newly hatched chicks during fasting and delayed feeding. *BMC Genom.* 2010; 11: 162-179.
16. Geyra A, Uni Z, Sklan D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *Brit J Nutr* 2001; 86:53-61.
17. Boersma SI, Robinson FE, Renema RA, Fassenko GM. Administering oásis hatching supplement prior to chick placement increases initial growth with no effect on body weight uniformity of female broiler breeders after three weeks of age. *J. Appl. Poult. Res.* 2003, 12:428-34.
18. Henderson SN, Vicente JL, Pixley CM, Hargis BM, Tellez G. Effect of early nutritional supplement on broiler performance. *Int. J. Poult. Sci.* 2008, 7(3):211-4.
19. Cengiz O, Koksall BH, Tatli O, Sevim O, Avci H, Epikmen T, Beyaz D, Buyukyoruk S, Boyacioglu M, Uner A, Onol AG. Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health. *Vet. Med.* 2012, 10:515-28.
20. Calik A, Ceylan A, Ekim B, Adabi SG, Dilber F, Bayraktaroglu AG, Tekinay T, Özen D, Sacakli P. The effect of intra-amniotic and posthatch dietary symbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. *Poult. Sci.* 2016, 0:1-15.
21. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JÁ, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery.* 1997; 22(5):266-277.
22. Dilzer A, Park Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012; 52(6):488-513.
23. Santos-Zago LF, Botelho AP, Oliveira AC. Os efeitos do ácido linoleico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro. *Rev Nutr.* 2008; 21(2):195-221.
24. Martin J-C, Valeille K. Conjugated linoleic acid: all the same or to everyone own function? *Repr Nutr Develop.* 2002; 42(6):525-536.
25. Marcolla CS. Efeitos do ácido linoleico conjugado e da luteína na resposta imune de frangos de corte submetidos a desafio imunológico. *Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI Salão de Iniciação Científica da UFRGS; Porto Alegre. Porto Alegre: UFRGS; 2014.*
26. Park Y, Pariza MW. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res Int.* 2007; 40(3):311-323.
27. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-1206.
28. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progr Lip Res.* 2001; 40(4):283-298.
29. Stanimirovic M, Petrujkic B, Delic N, Djelic N, Stevanovic J, Stanimirovic Z. Dietary conjugated linoleic acid influences the content of stearic acid in porcine adipose tissue. *Vet Med* 2012, 57(2):92-100.
30. Kastelic M, Kompan D. The effect of conjugated linoleic acid on the growth of weaned piglets. *Acta Agric. Slov.* 2006, 2:133-40.

31. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabela brasileira para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional. Viçosa: Editora UFV; 2011.
32. Silva DJ, Queiroz AC. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
33. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
34. Corduk M, Sarica S, Yarim GF. Effects of oregano or red pepper essential oil supplementation to diets for broiler chicks with delayed feeding after hatching. 1. Performance and microbial population. *J Appl Poult Res* 2013; 22:738-49.
35. Gonzales E, Kondo N, Saldanha ESP, Loddi M, Careghi C, Decuypere E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science* 2003; 82(8):1250-1256.
36. Zavarize KC, Sartori JR, Gonzales E, Pezzato AC. Morphological changes of the intestinal mucosa of broilers and layers as affected by fasting before sample collection. *Braz J Poult Res.* 2012; 14(1):21-25.
37. Yang HM, Wang ZY, Zhu XH et al. Effects of starter feeding time on yolk sac absorption of new hatched goslings. *J Anim Plan Sci* 2009; 4(3):399-405.
38. Chaplin A, Parra P, Serra F, Palou A. Conjugated Linoleic Acid Supplementation under a High-fat Diet Modulates Stomach Protein Expression and Intestinal Microbiota in Adult Mice. *Plos One.* 2015, 10(4):12p.
39. Murphy EF, Hooiveld GJ, Muller M, Calogero RA, Cashman KD. The effect of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on gene expression profiles related to lipid metabolism in human intestinal-like Caco-2 cells. *Genes Nutr.* 2009; 4:103-12.
40. Maiorka A, Santin E, Dahlke F, Boleli IC, Furlan RL, Macari M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *J Appl Poult Res.* 2003; 12:483-92.
41. Suksombat, W., T. Boonmee and P. Lounglawan. 2007. Effects of various levels of conjugated linoleic acid supplementation on fatty acid content and carcass composition of broilers. *Poult Sci.* 86:318-324.
42. Nosrati M, Navidshad B, Malecky M. Effects of dietary conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids on the performance, carcass traits and small intestinal morphology of broiler chickens. *Iran J Appl Anim Sci.* 2015, 5(2):411-6.
43. An BK, Shinn KH, Kobayashi Y, Tanaka K, Kang CW. Excessive dietary conjugated linoleic acid affects hepatic lipid content and muscular fatty acid composition in young chicks. *Asian-Aust J Anim Sci* 2003; 16(8):1171-6.
44. Elharidy RMM. Impact of dietary protein level and additions of some essential amino acids and conjugated linoleic acid on productive performance, meat quality and plasma constituents of broiler chicks. [Thesis]. Alexandria: Alexandria University, Faculty of Agriculture Damanhour; 2002.
45. Schafer, K., K. Manner, A. Sagredos, K. Eder and O. Simon. 2001. Incorporation of dietary linoleic and conjugated linoleic acids and related effects on eggs of laying hens. *Lipids* 36:1217- 1222.

46. Jacobs L, Delezie E, Duchateau L, Goethals K, Ampe B, Lambrecht E, Gellynck X, Tuytens FAM. *Poult Sci.* 2016; 95:1973-1979.
47. Lamot DM, van de Linde IB, Molenaar R, van der Pol, CW, Wijtten PJA, Kemp B, van den Brand. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. *Poult Sci* 2014; 93:2604-14.
48. Gomide Junior MH, Sterzo EV, Macari M, Boleli IC. Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity. *R Bras Zootec*, 2004; 33(6):1500-1505.
49. Riccardi RR, Malheiros EB, Boleli. Efeito do jejum pós-eclosão sobre pintos de corte provenientes de ovos leves e pesados. *Ciênc Anim Bras.* 2009; 10(4):1013-1020.
50. Uni Z, Geyra A, Bem-Hur H, Sklan D. Small intestine development in the Young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration. *Brit Poult Sci.* 2000; 41(5):544-551.
51. Sklan D, Noy Y. Hydrolysis and absorption in the small intestines of post-hatch chicks. *Poult Sci.* 2000, 79:1309-1310.
52. Leandro NSM, Oliveira ASC, Café MB Gonzales E, Stringhini JH, Carvalho FB, Andrade MA. Efeito do prebiótico e do ácido butírico in ovo sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes da ração e biometria do trato gastrintestinal de pintos submetidos ao jejum.. *Cienc Anim Bras.* 2010, 11(4):5p.
53. Corl BA, Oliver SAM, Lin X, Oliver WT, Ma Y, Harreell RJ, Odle J. Conjugated linoleic acid reduces body fat accretion and lipogenic gene expression in neonatal pigs fed low-or high-fat formulas. *J Nutr.* 2008, 138:449-454.
54. Du M, Ahn DU. Dietary CLA affects lipid metabolism in broiler chicks. *Lipids.* 2003, 38(5):505-11.
55. Raposo HF. Efeito dos ácidos graxos n-3 e n-6 na expressão de genes do metabolismo de lipídeos e risco de aterosclerose. *Rev.Nutr.* 2010, 23(5):871-879.
56. Moura FA, Lameiro MGS, Tavares RA, Dias ARG, Helbig E, Buchweitz, MRD. Consumo de ácidos graxos mono e poliinsaturados e suplementação com niacina e piridoxina sobre o perfil lipídico de ratos wistar adultos. *Alim Nutr.* 2012, 23(1):65-72.
57. Preuss MB, Rohlfes ALB, Baccar NM, Marquardt L, Oliveira MSR, Schneider RCS. Ácido linoleico conjugado: Uma breve revisão. *Revista Jovens Pesquisadores.* 2013; 3(2):134-146.
58. Müller HI, Kirchgessner M, Roth FX, Stangi GI. Effect of conjugated linoleic acid on energy metabolism in growing-finishing pigs. *J Anim Physiol A Anim Nutr.* 2000, 83:85-94.
59. Previero TC. Efeito de diferentes níveis protéicos e do ácido linoleico conjugado no desempenho, custos de produção e qualidade de carne de frangos de corte. 2009. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

CAPÍTULO 7 - BIOMETRIA DE ÓRGÃOS LINFOIDES, IMUNIDADE CELULAR HUMORAL DE FRANGOS SUBMETIDOS A JEJUM ALIMENTAR PÓS-ECLOSÃO E À DIETA PRÉ-INICIAL CONTENDO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

RESUMO

Objetivou-se avaliar a imunidade de frangos submetidos a jejum pós-eclosão, suplementados com CLA. Foram alojados 320 pintos, em delineamento inteiramente casualizado e esquema 2x2 (0; 12 horas de jejum alimentar x 0; 0,025% de CLA pré-inicial), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de 10 aves. Após 12 horas, e semanalmente até 35 dias, determinou-se o peso relativo de baço (PRBa), bursa (PRBu), e os títulos de IgG. Aos 13 e 34 dias, avaliou-se a hipersensibilidade à fitohemaglutinina. Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$). Após 12 horas, o jejum reduziu o PRBa, e o CLA reduziu o PRBu nessa fase e aos 28 dias. Aos 13 dias, o jejum reduziu a reação à fitohemaglutinina 3 horas pós-inoculação, e o CLA aumentou a reação 12 horas pós-inoculação. Aos 34 dias, o CLA reduziu a reação à fitohemaglutinina após 3 horas. Após 24 horas, houve maior reação em pintos suplementados, não submetidos ao jejum. Após 12 horas, o jejum reduziu e o CLA aumentou os títulos de IgG no saco vitelínico. Pintos não suplementados e não submetidos ao jejum apresentaram menores títulos no soro. Aos 21 dias, pintos suplementados e não submetidos ao jejum apresentaram maiores títulos no soro. Dentro da dieta controle, os títulos foram maiores em pintos submetidos ao jejum. Aos 28 dias, o jejum reduziu os títulos. Conclui-se que o jejum pós-eclosão e o CLA aceleram a transferência de imunoglobulinas do saco vitelínico para o soro. O jejum prejudica a imunidade celular, e o CLA a favorece.

Palavras-chave: Fitohemaglutinina, imunoglobulinas, saco vitelínico.

CHAPTER 7 – BIOMETRY IN LYMPHOID ORGANS AND CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY OF BROILERS SUBMITTED TO POST-HATCH FASTING AND PRE-STARTER DIET CONTAINING CONJUGATED LINOLEIC ACID

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the immunity of broilers submitted to post-hatching fasting, supplemented with CLA. A total of 320 chicks were housed in a completely randomized design, and 2x2 arrangement (0; 12 hours fasting x 0; 0,025% pre-starter CLA), totalizing 4 treatments and 8 replicates of 10 birds. After 12 hours of fasting, and weekly up to 35 days, the relative weight of spleen (RWSp), bursa (RWBu), and IgG titers were determined. At 13 and 34 days, reaction to phytohemagglutinin was verified. Data were submitted to analysis of variance ($P < 0.05$). After 12 hours, fasting reduced RWSp, and CLA reduced RWBu at this phase and at 28 days. At 13 days, fasting reduced the phytohemagglutinin response 3 hours post-inoculation, and CLA improved reaction 12 hours post-inoculation. At 34 days, CLA reduced the reaction after 3 hours. At 24 hours post-inoculation, non-fasted chicks, supplemented with CLA, showed higher reaction. After 12 hours, fasting reduced IgG titers in the yolk sac. Non-fasted and non-supplemented chicks showed lower titers in the serum. At 21 days, supplemented chicks, not submitted to fasting, showed higher titers in the serum. Inside the control diet, titers were higher when chicks were submitted to fast. At 28 days, fasting reduced the titers. In conclusion, the post-hatch fasting and CLA accelerate the transfer of immunoglobulins from the yolk sac to the serum. Fasting decreases cellular immunity, and CLA may improve it.

Keywords: Immunoglobulins, phytohemagglutinin, yolk sac.

INTRODUÇÃO

Para que o frango alcance maior peso vivo à idade de abate, com boa conversão alimentar, os nutrientes ingeridos devem ser direcionados à manutenção e ao crescimento. O manejo inadequado e a presença de agentes infecciosos no plantel são situações que podem exigir maior gasto energético, reduzindo a eficiência de produção.

É importante que a ave apresente bom *status* imunológico, entre outros fatores, estando preparada para responder prontamente aos desafios sanitários. Nos estágios iniciais de vida, antes que o sistema imunológico torne-se suficientemente maduro, os pintos dependem das imunoglobulinas transferidas pela matriz via ovo para sua proteção. A principal imunoglobulina nas aves, a IgY é considerada equivalente à IgG dos mamíferos, é transferida do saco vitelínico para o embrião e conseqüentemente para o neonato¹.

Na produção comercial de frangos, em virtude dos procedimentos de rotina, é comum ocorrer atraso no fornecimento da primeira alimentação, caracterizando o jejum pós-eclosão, o qual pode ultrapassar 48 horas. Essa situação pode afetar a forma de utilização do conteúdo do saco vitelínico pelo organismo da ave, resultando na utilização das imunoglobulinas como fonte de aminoácidos², prejudicando a capacidade de defesa imunológica da ave.

Três diferentes mecanismos explicam os efeitos da nutrição oral sobre o sistema imunológico do neonato. O primeiro é a disponibilização de substratos limitantes ao desenvolvimento da imunidade. O segundo é a presença de antígenos no trato gastrointestinal, ocasionada pela presença do alimento, que pode ser necessária para iniciar a diferenciação completa das células imunes primárias. Por último, a alimentação também pode influenciar a secreção de hormônios e outros imunomoduladores. Outro fator a ser considerado é a secreção de corticosteroides que ocorre em pintos em jejum, capaz de inibir a proliferação imune celular, resultando em piora da resposta imune².

O fornecimento da dieta pós-eclosão nem sempre é prática acessível e por isso devem-se buscar alternativas que minimizem suas conseqüências, tais como a disponibilização de nutrientes imunomoduladores.

O ácido linoleico conjugado (CLA) é um termo genérico utilizado para descrever isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico que contenham dupla ligação conjugada³. Pode ser encontrado em produtos lácteos e em muitos tipos de carne, e também pode ser produzido para fins experimentais, a partir de vários métodos e diferentes substratos⁴.

Desde os anos 80, o CLA é considerado princípio anticancerígeno presente na carne e tem sido dada atenção à sua variedade de efeitos biológicos. A explicação para essa variedade é que o CLA abrange grande grupo de isômeros, embora os principais focos em pesquisas sejam o *cis*-9, *trans*-11 e o *trans*-10, *cis*-12⁵.

Entre os efeitos atribuídos ao CLA, destaca-se sua ação sobre o sistema imunológico, aumentando o interesse em pesquisas que incluam o ácido graxo em dietas fornecidas a animais. O CLA apresenta estímulo potencial à imunidade inata e adquirida⁴, influenciando tanto a resposta humoral⁵ quanto a celular⁶.

Objetivou-se avaliar os efeitos do jejum alimentar pós-eclosão e da utilização de CLA pré-inicial sobre o desenvolvimento dos órgãos linfoides e a imunidade humoral de frangos de corte aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias, bem como a imunidade celular aos 13 e aos 34 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo compõe o projeto de projeto de pesquisa protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da UFG, sob o número 011/2015. Foram recebidos de um incubatório comercial 320 pintos de corte machos e fêmeas, linhagem Cobb 500[®], com um dia de vida. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 X 2, sendo considerados os seguintes fatores: adoção de jejum alimentar pós-eclosão (com ou sem jejum alimentar pós-eclosão de 12 horas) e inclusão de CLA (*trans*-10, *cis*-12) na dieta pré-inicial (0 ou 0,025% de CLA), totalizando quatro tratamentos e oito repetições de dez aves cada, para avaliação do peso relativo de baço e bursa, reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina e titulação de imunoglobulinas IgG no soro e no conteúdo do saco vitelínico.

Após o transporte, do incubatório ao Aviário Experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, processo que durou aproximadamente 04 horas, as aves foram pesadas e apresentaram peso médio inicial de $50,18 \pm 1,25$ g. Em seguida, as aves foram distribuídas em baterias de aço galvanizado, equipadas com comedouros e bebedouros do tipo linear. Às aves que não foram submetidas ao jejum alimentar, administrou-se a quantidade de 3g de ração experimental para consumo, durante 12h, considerado o período médio necessário para transporte e alojamento de aves em condições comerciais. As aves de todos os tratamentos receberam água à vontade, para evitar desidratação e comprometimento de sua qualidade.

As rações experimentais foram fornecidas às aves até sete dias de idade e, após este período, foi fornecida dieta controle a todas as aves até 35 dias de idade, quando as aves receberam água e ração à vontade. As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, para atender as exigências nutricionais das aves, segundo as recomendações de Rostagno et al.⁹. Aos tratamentos designados para receber o CLA, foi adicionado, de acordo com as recomendações do fabricante, 0,042% do produto Lutalin[®] (BASF), para garantir a inclusão de 0,025% de CLA. As rações pós-eclosão e as rações pré-iniciais apresentavam a mesma formulação dentro do mesmo tratamento, diferindo apenas quanto à forma física, sendo a ração pós-eclosão triturada e a pré-inicial farelada. A composição das dietas experimentais é apresentada nas Tabelas 1 e 2.

Aos 13 dias de idade, duas aves por repetição foram submetidas à avaliação da reação de hipersensibilidade cutânea à fitohemaglutinina (PHA). Inoculou-se intradermicamente na prega interdigital 0,1mL de PHA (Vitrocell[®]) entre o 3º e 4º dígitos do pé direito. Como controle negativo, inoculou-se 0,1mL de solução fisiológica estéril entre o 3º e 4º dígitos do pé esquerdo. Com paquímetro digital, mediu-se o espessamento da pele, em milímetros, em ambos os pés, antes da inoculação (H0) e 3, 6, 12 e 24 horas após. As respostas foram medidas pela espessura da pele nos tempos de inoculação menos a espessura verificada em H0, em ambos os pés. Em seguida, realizou-se o cálculo: Reação = resposta à PHA (pé direito) – resposta controle (pé esquerdo).

Aos 15 dias de idade, as aves foram vacinadas por via ocular contra o vírus da Doença de Newcastle vivo atenuado - cepa La Sota (Hipraviar - HIPRA[®]). Aos 34 dias de idade, duas aves por repetição foram novamente submetidas à avaliação da reação de hipersensibilidade cutânea à PHA.

Após as 12 horas de fornecimento da ração pós-eclosão e antes do alojamento, e aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias, realizou-se a colheita de sangue de uma ave por repetição, com posterior centrifugação para obtenção das amostras de soro, que foram armazenadas à temperatura de -20°C. Após pesagem e eutanásia dessas aves, realizada por deslocamento cervical, procedeu-se à coleta de baço e bursa para pesagem e cálculo do peso relativo, considerando a seguinte fórmula: peso relativo = (100 x peso do órgão) / peso da ave, além de coleta do conteúdo do saco vitelínico na fase pós-eclosão, que também foi armazenado à temperatura de -20°C.

As amostras de soro e conteúdo do saco vitelínico foram avaliadas por meio do Kit ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de análise para detecção de anticorpos

(IgG de galinha) contra o vírus da Doença de Newcastle - NDV (Biochek[®]), sendo processadas de acordo com as recomendações do fabricante.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas até o final da fase pré-inicial (7 dias de idade)

INGREDIENTES	TRATAMENTO	
	Controle	CLA
Milho		52,00
Farelo de soja		38,90
Óleo de soja		2,50
Fosfato bicálcico		2,00
Amido	1,54	1,50
Calcário		1,08
Sal comum		0,57
L-Lisina		0,40
DL-Metionina		0,40
L-Treonina		0,20
Premix mineral e vitamínico ¹		0,40
CLA ²	0,00	0,04
COMPOSIÇÃO CALCULADA		
Proteína bruta		22,46
Energia metabolizável (kcal/kg)		2,95
Cálcio		1,00
Fósforo disponível		0,48
Ácido linoleico		2,60
Lisina digestível		1,41
Metionina digestível		0,69
Metionina + cistina digestível		0,98
Treonina digestível		0,94
Cloro		0,39
Potássio		0,86
Sódio		0,24
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,00	0,02

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg): Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg.

²Lutalin (BASF[®])

A leitura da microplaca contendo o material amostrado foi feita imediatamente após o término do processo em leitora de microplacas de ELISA Polaris (Celer[®]), com absorbância medida com comprimento de onda de 405 nm, e os resultados foram obtidos por meio do Biochek II Software (2015 version), que correlaciona a leitura das amostras à leitura dos controles e estabelece, a partir dessa correlação, a concentração de imunoglobulinas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, com o auxílio do software R¹⁰.

TABELA 2 – Composição das dietas experimentais (%), com base na matéria natural, fornecidas nas fases inicial (8 a 21 dias), de crescimento (22 a 33 dias) e de terminação (34 a 35 dias)

INGREDIENTES	Fases de criação		
	Inicial	Crescimento	Terminação
Milho	58,92	60,34	64,05
Farelo de soja	35,09	32,00	29,00
Óleo de soja	2,04	3,61	3,53
Fosfato bicálcico	1,76	1,64	1,50
Calcário	0,91	0,86	0,81
Sal comum	0,48	0,46	0,44
L-Lisina	0,13	0,18	0,19
DL-Metionina	0,22	0,24	0,22
L-Treonina	0,01	0,03	0,03
Premix mineral e vitamínico ¹	0,40	0,60	0,20
COMPOSIÇÃO CALCULADA			
Proteína bruta	20,78	19,56	18,50
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,98	3,10	3,15
Cálcio	0,87	0,82	0,76
Fósforo disponível	0,43	0,41	0,38
Ácido linoleico	2,47	3,30	3,30
Lisina digestível	1,11	1,07	1,02
Metionina digestível	0,50	0,50	0,47
Metionina + cistina digestível	0,79	0,77	0,73
Treonina digestível	0,72	0,70	0,66
Cloro	0,34	0,33	0,31
Potássio	0,81	0,76	0,71
Sódio	0,21	0,20	0,19

¹Premix mineral e vitamínico (quantidade/kg) – Fase inicial: Vitamina A, 2.000.000 UI; Vitamina D3, 600.000 UI; Vitamina E, 5.000; Vitamina K3, 450 mg; Vitamina B1, 500 mg; Vitamina B2, 1.500 mg; Vitamina B6, 700 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Niacina, 9.000 mg; Ácido pantotênico, 3.500 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 15 mg; Colina, 80 g; Cobre, 2.500 mg; Ferro, 10 g; Manganês, 20 g; Iodo, 250 mg; Zinco, 18 g; Selênio, 75 mg; Nicarbazina, 10 g; Maduramicina, 937,50 mg; Virginiamicina, 4.125 mg. Fase de crescimento: Vitamina A, 1.750.000 UI; Vitamina D3, 500.000 UI; Vitamina E, 3.000 UI; Vitamina K3, 375 mg; Vitamina B2, 1.250 mg; Ácido pantotênico, 3.250 mg; Vitamina B6, 750 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Ácido nicotínico, 8.000 mg; Ácido fólico, 250 mg; Biotina, 2,5 mg; Colina, 80 g; Ferro, 10 g; Cobre, 2.500 mg; Manganês, 20 g; Zinco, 18 g; Iodo, 250 mg, Selênio, 75 mg; Virginiamicina, 4.125 mg; Salinomicina sódica, 16,5 g. Fase de terminação: Vitamina A, 1.500.000 UI; Vitamina D3, 350.000 UI; Vitamina E, 3.500 UI; Vitamina K3, 350 mg; Vitamina B1, 250 mg; Vitamina B2, 1.250 mg; Vitamina B6, 250 mg; Vitamina B12, 2.500 mcg; Ácido pantotênico (min) 4.000 mg; Niacina, 11 g; Ácido fólico, 400 mg; Colina, 150 g; Cobre, 3.500 mg; Ferro, 20g; Manganês, 30 g; Iodo, 400 mg; Zinco, 25 g; Selênio, 100 mg.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pintos submetidos à restrição alimentar apresentaram menor peso relativo de baço (P =0,009) após 12 horas, enquanto a suplementação com CLA promoveu redução do peso desse órgão somente aos 28 dias de idade (P=0,001) (Tabela 3).

TABELA 3 – Peso relativo (%) de baço de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e suplementados de CLA na fase-pré-inicial

Tratamento	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	0,04 b	0,09	0,07	0,08	0,08	0,09
Sem jejum	0,05 a	0,10	0,08	0,08	0,07	0,10
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	0,04	0,09	0,07	0,08	0,09 a	0,10
CLA	0,04	0,09	0,07	0,08	0,07 b	0,09
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	0,009	0,679	0,201	0,670	0,100	0,259
Dieta Pré-inicial	0,522	0,878	0,977	0,327	0,001	0,087
Jejum x Dieta Pré-inicial	0,366	0,614	0,815	0,636	0,826	0,330
CV (%)	24,74	34,50	23,68	20,73	12,48	20,93

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$).

Estudos apontaram que o jejum pós-eclosão de 24 a 72 horas pode reduzir o peso relativo de baço^{11,12}, enquanto em outros, o atraso de até 24 horas no fornecimento de ração não causou alterações esplênicas significativas^{13,14}. O acompanhamento do peso do baço, realizado nesta pesquisa, demonstrou que o jejum afetou essa variável logo após o período de 12 horas, mas a ave foi capaz de se recuperar a partir de sete dias de idade. De modo semelhante, Nnadi et al.¹⁵ verificaram que o jejum pós-eclosão não afetou o desenvolvimento de órgãos relacionados ao sistema imune em avaliações realizadas aos 21 dias de idade. Entretanto, na fase pós-eclosão ocorrem mudanças decisivas para o desenvolvimento da ave, e nem sempre o organismo dos animais privados de alimento, nessa fase, é capaz de se recuperar por completo¹⁶.

A alimentação aumenta a disponibilidade de substratos para o desenvolvimento dos órgãos linfoides¹⁷. Portanto, privar o neonato de nutrientes exógenos logo nos primeiros estágios de vida pode comprometer o crescimento e desenvolvimento adequado da ave, inclusive do sistema imune.

Além do estímulo proporcionado pelo fornecimento de nutrientes via oral, é importante considerar a importância do estímulo antigênico, especialmente no desenvolvimento dos órgãos linfoides secundários¹⁸. Nesse sentido, o fornecimento de ração pode promover os dois tipos de estímulo, pois também possibilita o contato da ave com microrganismos encontrados no ambiente que o circunda².

O peso relativo da bursa foi afetado apenas no período de 12 horas, apresentando redução em pintos suplementados com CLA ($P=0,005$) (Tabela 4).

Embora o peso relativo de bursa tenha sido alterado pelo CLA, Pires et al.¹¹ afirmaram que o desenvolvimento pós-eclosão da bursa inicia-se após 72 horas de vida,

explicando o fato de não terem encontrado efeito do jejum para esse órgão, assim como observado no presente estudo. Por outro lado, Bhanja et al.¹³ privaram neonatos de alimento por 24 horas, implicando em menor peso de bursa imediatamente após esse período. Outros autores avaliaram os efeitos de período de jejum de 36 horas e observaram resultados diversos, sem alteração no peso de bursa após esse período¹⁴, ou com alteração no peso desse órgão aos 10 dias de idade¹⁹.

TABELA 4 – Peso relativo (%) de bursa de pintos de corte submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e suplementados de CLA na fase-pré-inicial

Tratamento	Após 12 horas	Sete dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO						
Com jejum	0,14	0,20	0,21	0,24	0,23	0,20
Sem jejum	0,13	0,20	0,20	0,22	0,21	0,18
DIETA PRÉ-INICIAL						
Controle	0,15 a	0,19	0,22	0,23	0,21	0,18
CLA	0,11 b	0,20	0,20	0,22	0,23	0,19
Valor de P						
Jejum pós-eclosão	0,602	0,902	0,721	0,472	0,142	0,363
Dieta Pré-inicial	0,005	0,801	0,292	0,716	0,155	0,470
Jejum x Dieta Pré-inicial	0,742	0,708	0,701	0,520	0,144	0,073
CV (%)	25,28	21,72	23,94	27,26	19,86	19,61

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

O CLA reduziu os pesos relativos do baço aos 28 dias, e da bursa após 12 horas (Tabelas 3 e 4). O crescimento de órgãos linfoides tem sido relatado como um dos efeitos da utilização do ácido graxo²⁰, embora outros autores não tenham observado efeito de sua utilização sobre o peso relativo de baço²¹.

Observa-se na Tabela 5 que, aos 13 dias de idade, três horas após a inoculação de PHA, aves submetidas ao jejum pós-eclosão apresentaram menor espessamento da prega digital (P=0,011), indicando menor proliferação linfocitária. Seis horas após a inoculação de PHA, a suplementação com CLA resultou em maior recrutamento de células para a região mensurada (P=0,042). Contudo, aves suplementadas com CLA apresentaram menor reação aos 34 dias de idade, três horas após a inoculação (P=0,055) (Tabela 6).

Houve interação para a reação aos 34 dias (Tabela 6), 24 horas após a inoculação de PHA (P=0,043). O fornecimento de ração pós-eclosão e a suplementação com CLA garantiram maior reação à PHA (Tabela 7), indicando que o fornecimento precoce de CLA estimula a imunidade celular da ave, aumentando a proliferação de linfócitos T.

TABELA 5 – Resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) de pintos de corte aos 13 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	Reação após 3h	Reação após 6h	Reação após 12h	Reação após 24h
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	0,15 b	0,30	0,34	0,34
Sem jejum	0,19 a	0,29	0,33	0,37
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	0,16	0,27 b	0,33	0,33
CLA	0,18	0,33 a	0,34	0,38
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,011	0,667	0,749	0,375
Dieta Pré-inicial	0,136	0,042	0,778	0,198
Jejum x Dieta Pré-inicial	0,809	0,392	0,443	0,560
CV (%)	26,65	26,83	27,19	28,29

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 6 – Resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) de frangos de corte aos 34 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA

Tratamento	Reação após 3h	Reação após 6h	Reação após 12h	Reação após 24h
JEJUM PÓS-ECLOSÃO				
Com jejum	0,23	0,24	0,23	0,11 b
Sem jejum	0,27	0,27	0,29	0,17 a
DIETA PRÉ-INICIAL				
Controle	0,28 a	0,28	0,26	0,11 b
CLA	0,21 b	0,24	0,26	0,17 a
Valor de P				
Jejum pós-eclosão	0,203	0,472	0,102	0,007
Dieta Pré-inicial	0,055	0,289	0,774	0,004
Jejum x Dieta Pré-inicial	0,424	0,815	0,311	0,043
CV (%)	34,17	36,32	31,00	36,45

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

TABELA 7 – Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a resposta de hipersensibilidade cutânea à PHA (mm) após 24 horas, em pintos de corte aos 34 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e dieta pré-inicial contendo CLA

Variável	Jejum alimentar pós-eclosão	Dieta pré-inicial	
		Controle	CLA
Reação à PHA após 24 horas (mm)	Com jejum	0,10 Aa	0,12 Ba
	Sem jejum	0,12 Ab	0,22 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem estatisticamente a 5%.

Os resultados sugerem que o atraso no fornecimento de alimento pode reduzir a imunocompetência mediada por células T. Bhanja et al.¹³ e Shinde et al.¹⁴ obtiveram resultados semelhantes e concluíram que o jejum pós-eclosão reduz a resposta à inoculação de fitohemaglutinina, o que sugere redução da resposta imune celular. Para Shira et al.²², o jejum atrasa a proliferação de linfócitos T e B na bursa, e o organismo é capaz de recuperar-se a partir da segunda semana de idade. Nos resultados obtidos, aos 34 dias de idade, o jejum ainda causou prejuízos à resposta imune.

A suplementação com CLA na fase pré-inicial resultou em maior espessura de prega digital 6 (13 dias de idade) e 24 horas (34 dias de idade) após a inoculação de PHA, sugerindo maior recrutamento de células para as regiões mensuradas, o que indica melhor preparo do sistema imune celular. Cook et al.²³ observaram que frangos suplementados com CLA e desafiados com endotoxinas de *Escherichia coli*, apresentaram maior proliferação linfocitária 24 horas após a aplicação de PHA. Nesse sentido, Takahashi et al.²⁴ concluíram que o CLA pode estimular a diferenciação das células T, enquanto Long et al.²⁵ concluíram que o CLA tem a capacidade de estimular a proliferação *in vitro* de linfócitos T. Este efeito pode estar relacionado à redução dos níveis de ácido araquidônico e eicosanoides²⁶, capazes de suprimir a proliferação de células T.

Observa-se, na Tabela 8, que após passar pelo jejum pós-eclosão de 12 horas, os títulos de IgG encontrados no saco vitelínico foram maiores em pintos não submetidos ao jejum alimentar (P=0,008) e não suplementados com CLA (P=0,007), apresentando, portanto, comportamento inverso ao observado para os títulos do soro, considerando a avaliação isolada dos fatores (Tabela 8).

TABELA 8 - Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro e no conteúdo do saco vitelínico de pintos de corte, após 12 horas de jejum alimentar pós-eclosão e suplementação de CLA

Tratamento	Títulos	
	Saco vitelínico	Soro
JEJUM PÓS-ECLOSÃO		
Com	9.151 b	12.981 a
Sem	11.121 a	9.433 b
DIETA PRÉ-INICIAL		
Controle	11.148 a	9.836 b
CLA	9.124 b	12.578 a
Valor de P		
Jejum pós-eclosão	0,008	0,004
Dieta Pré-inicial	0,007	0,018
Jejum x Dieta pré-inicial	0,118	0,028
CV (%)	10,31	16,54

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05).

Houve interação jejum x dieta ($P=0,028$) para os títulos de IgG no soro (Tabela 8). O desdobramento revelou que pintos não suplementados com CLA e não submetidos ao jejum alimentar apresentaram menores títulos de imunoglobulinas contra a doença de Newcastle (Tabela 9).

É provável que pintos que receberam ração pós-eclosão não suplementada com CLA tenham apresentado reduzida velocidade de absorção de imunoglobulinas provenientes do saco vitelínico, expressa pelos menores títulos séricos de IgG após a fase pós-eclosão (Tabela 9).

TABELA 9 – Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro de pintos de corte, após 12 horas de jejum alimentar pós-eclosão e suplementação de CLA

Variável	Jejum alimentar pós-eclosão	Dieta pré-inicial	
		Controle	CLA
Títulos de IgG no soro	Com jejum	12.053 Aa	13.102 Aa
	Sem jejum	6.813 Bb	12.859 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem estatisticamente a 5%.

A absorção dos nutrientes presentes no saco vitelínico pode ocorrer por meio do pedículo vitelínico para o intestino delgado, embora a principal via seja através do revestimento epitelial vitelínico para os vasos sanguíneos²⁷. Quando o neonato é privado de alimentação logo nas primeiras horas de vida, a absorção do saco vitelínico torna-se mais lenta²⁸, e o seu conteúdo não é utilizado da forma devida. As proteínas e os lipídios que deveriam ser aproveitados, respectivamente, como fonte de imunoglobulinas e na composição de membranas celulares passam a ser degradados para provimento de energia e aminoácidos. Os resultados exibidos na Tabela 8 sugerem que pintos em jejum absorvem mais rapidamente as imunoglobulinas maternas encontradas no saco vitelínico, enquanto o fornecimento de ração parece poupar as imunoglobulinas, mantendo-as no saco vitelínico por mais tempo, para posterior absorção para a corrente sanguínea. Bhanja et al.²⁹ relataram que aves em jejum por mais de 24 horas apresentam maior quantidade de lipídios e menor de proteína no conteúdo do saco vitelínico, o que pode indicar maior velocidade de absorção das proteínas em relação aos lipídios nos casos de jejum.

Aos 21 dias de idade, houve interação dos fatores jejum x dieta para os títulos de imunoglobulinas no soro ($P=0,010$) (Tabela 10). O desdobramento revelou que, quando fornecida a ração pós-eclosão, os títulos de IgG foram maiores para aves suplementadas com

CLA; contudo, considerando a dieta controle, o jejum promoveu maiores títulos do que em aves com acesso imediato ao alimento (Tabela 11). Aos 28 dias, o jejum promoveu menores títulos de IgG no soro ($P=0,002$) (Tabela 10). A partir de sete dias de idade, o CLA não alterou a resposta imune dos pintos ($P>0,05$) (Tabela 10).

TABELA 10 – Títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro de frangos de corte, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e suplementação pré-inicial de CLA

Tratamento	Títulos no soro				
	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
JEJUM PÓS-ECLOSÃO					
Com	1.069	228	616	2.361 b	2.389
Sem	763	234	603	6.164 a	3.167
DIETA PRÉ-INICIAL					
Controle	1.002	167	528	5.026	2.244
CLA	830	296	691	3.500	3.312
Valor de P					
Jejum pós-eclosão	0,135	0,943	0,926	0,002	0,181
Dieta Pré-inicial	0,392	0,206	0,258	0,187	0,070
Jejum x Dieta pré inicial	0,098	0,363	0,010	0,631	0,912
CV (%)	59,49	90,93	54,36	75,00	56,09

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P<0,05$).

TABELA 11 – Desdobramento da interação jejum pós-eclosão x dieta pré-inicial para a variável títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (NDV) no soro pintos de corte aos 21 dias de idade, submetidos a jejum alimentar pós-eclosão e suplementação pré-inicial de CLA, vacinados aos 15 dias de idade

Variável	Jejum alimentar pós-eclosão	Dieta pré-inicial	
		Controle	CLA
Títulos de IgG no soro	Com jejum	880 Aa	501Aa
	Sem jejum	325 Bb	730 Aa

*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem estatisticamente a 5%.

Aos 28 dias de idade, as aves que passaram pelo jejum pós-eclosão apresentaram menor título de anticorpos no soro, reforçando a importância do fornecimento de nutrientes exógenos logo nas primeiras horas de vida, sob condição de terem sua função imunológica prejudicada em idades posteriores. Como os pintos foram vacinados aos 15 dias de idade, os títulos de anticorpos a partir de 21 dias representam a imunidade ativa, ou seja, a produção de imunoglobulinas pelo próprio organismo, e não a presença de imunoglobulinas de origem materna, explicando o aumento dos títulos após a vacinação. Embora apenas o peso do baço tenha sido afetado pelo jejum (Tabela 3), é possível que a capacidade imunológica dos órgãos linfoides tenha sido, de alguma forma, prejudicada.

Os primeiros dias de vida do neonato compreendem um estágio sensível e complexo para maturação do sistema imunológico, e a restrição alimentar pode significar prejuízos a este sistema¹⁷. Pintos alimentados logo após a eclosão apresentam melhor preparo imunológico ao longo da vida, devido à imediata disponibilidade de substratos para síntese de moléculas participantes da defesa imunológica¹⁵. Assim, mudanças como o aumento de células B na bursa, podem demorar mais a ocorrer caso haja atraso na oferta de alimento ao neonato²².

O tempo de jejum a que os pintos foram submetidos no presente estudo pode não ter sido suficiente para causar mais alterações significativas sobre a resposta humoral durante seu crescimento. Lamot et al.¹² relataram que períodos de jejum entre 24 e 72 horas podem prejudicar a imunidade das aves, enquanto atrasos menores na oferta de ração podem não apresentar efeito sobre a resposta imune.

Após 12 horas, o CLA, assim como o jejum, aumentou a velocidade de absorção das imunoglobulinas maternas do saco vitelínico para o soro. Porém, quando considerada a interação dos fatores no soro após 12 horas e aos 28 dias de idade, o CLA aumentou os títulos de imunoglobulinas em relação ao controle.

O'Shea et al.⁶ relataram a capacidade do CLA em estimular a síntese de IgA, IgM e IgG, assim como Takahashi et al.³⁰ que suplementaram pintos de corte com 10g/kg de ração de CLA e observaram maior produção de IgG.

Uma explicação para a o efeito estimulante do CLA sobre a imunidade humoral seria sua capacidade de aumentar a produção de interleucina-2 (IL-2), que, por sua vez, estimula a síntese de imunoglobulinas³¹.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o jejum alimentar pós-eclosão e o CLA aceleram a transferência de imunoglobulinas do saco vitelínico para o soro. O jejum prejudica a imunidade celular, e o CLA pode favorecê-la, aumentando sua resposta, quando fornecido até os sete dias de idade.

AGRADECIMENTOS

À BASF e à Asa Alimentos, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Ulmer-Franco AM, Fasenko GM, O'Dea Christopher EE. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poult Sci.* 2010; 89:2735-2742.
2. Dibner JJ, Knight CD, Kitchell ML, Atwell AA, Downs AC, Ivey FJ. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *J Appl Poult Res* 1998, 7:425.
3. Bauman DE, Griinari JM. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Prod Sci.* 2001; 70:15-29.
4. O'Quinn PR, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD. Conjugated linoleic acid. *Anim Health Res Rev.* 2000; 1(1):35-46.
5. Park Y, Pariza MW. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res Int.* 2007; 40(3):311-323.
6. O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede ICM. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:1199-1206.
7. Yamasaki M, Chujo H, Koyanagi N, Okamoto T, Tojo N, Iwata T, Yamauchi-Sato Y, Yamamoto T, Tsutsumi K, Tachibana H, Yamada K. Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C5BL/6J mice by dietary cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid. *J Nutr* 2003; 133:784-788.
8. Hayek MG, Han SN, Wu D, Watkins BA, Meydani M, Dorsey JL, Smith DE, Meydani SN. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice. *J Nutr.* 1999; 129:32-38.
9. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabela brasileira para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional. Viçosa: Editora UFV; 2011.
10. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
11. Pires DL, Malheiros EB, Boleli IC. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. *Braz J Poult Sci.* 2007; 9(4):221-228.
12. Lamot DM, van de Linde IB, Molenaar R, van der Pol, CW, Wijtten PJA, Kemp B, van den Brand. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. *Poult Sci* 2014; 93:2604-2614.
13. Bhanja SK, Devi CA, Panda AK, Sunder GS. Effect of post-hatch nutrient intubation on performance, intestinal growth, meat yield and immune response in broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 2010; 23(4):515-520.
14. Shinde AS, Goel A, Mehra M, Rokade J, Bhadauria P, Mandal AB, Bhana SK. Delayed post hatch feeding affects performance, intestinal morphology and expression. Pattern of nutrient transporter genes in egg type chickens. *J Nutr Food Sci.* 2015; 5(3):11p.

15. Nnadi PA, Eze PC, Ezema WS. Influence of delayed feeding on the performance, development and response of immune system to Newcastle disease vaccination in chickens. *Int J Poult Sci* 2010; 9(7):669-674.
16. Gonzales E, Kondo N, Saldanha ESP, Loddi M, Careghi C, Decuypere E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science* 2003; 82(8):1250-1256.
17. Maiorka A, Dahlke F, Morgulis MSFA. Broiler adaptation to post-hatching period. *Cienc Rural* 2006; 36(2):701-708.
18. Subba Rao DSV, McDuffie FC, Glick B. The regulation of IgM production in the chick: roles of the bursa of Fabricius, environmental antigens, and plasma IgG. *J Immunol* 1978; 120(3):783-787.
19. Cengiz O, Koksall BH, Tatli O, Sevim O, Avci H, Epikmen T, Beyaz D, Buyukyoruk S, Boyacioglu M, Uner A, Onol AG. Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health. *Vet Med* 2012; 57(10):515-528.
20. He X, Zhang H, Yang X, Zhang S, Dai Q, Xiao W. Modulation of immune function by conjugated linoleic acid in chickens. *Food Agric Immunol*. 2007; 18(3-4):169-178.
21. Akahoshi A, Goto Y, Murao K, Miyazaki T, Yamasaki M, Nonaka M, Yamada K, Sugano M. Conjugated linoleic acid reduces body fats and cytokine levels of mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66(4):916-920.
22. Shira EB, Sklan D, Friedman A. Impaired immune response in broiler hatchling hindgut following delayed access to feed. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 105(1-2):33-45.
23. Cook ME, Miller CC, Park Y, Pariza M. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult Sci* 1993; 72:1301-1305.
24. Takahashi K, Kawamata K, Akiba Y. Effect of mixture of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on T cell subpopulation and responsiveness to mitogen in splenocytes of male broiler chicks. *Asian-Aust J Anim Sci* 2007; 20(6):954-961.
25. Long FY, Yang X, Guo YM, Wang Z, Yuan JM, Zhang BK, Liu D. Conjugated linoleic acids alleviate the immunosuppression of peripheral blood T lymphocytes in broiler chickens exposed to cyclosporine A. *Poult Sci* 2012; 91:2431-2437.
26. Khatibjoo A, Kermanshahi H, Golian A, Zaghari M. The effect of dietary n-6:n-3 ratio and sex on broiler breeder immunity. *Poult Sci* 2011; 90:2209-2216.
27. Panda AK, Sunder GS, Rama Rao SV, Raju MVLN. Early nutrition enhances growth and speeds up gut development. *World Poult*. 2006; 22(4):15-16.
28. Yang HM, Wang ZY, Zhu XH et al. Effects of starter feeding time on yolk sac absorption of new hatched goslings. *J Anim Plan Sci* 2009; 4(3):399-405.
29. Bhanja SK, Anjali Devi C, Panda AK, Shyan Sunder G. Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci*. 2009; 22(8):1174-1179.
30. Takahashi K, Akiba Y, Iwata T, Kasai M. Effect of a mixture of conjugated linoleic acid isomers on growth performance and antibody production in broiler chicks. *Brit J Nutr* 2003; 89:691-694.

31. Moraes ML, Ribeiro AML, Santin E, Klasing KC. Effects of conjugated linoleic acid and lutein on the growth performance and immune response of broiler chickens. *Poult Sci* 2016; 95:237-246.

CAPÍTULO 8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de ácidos graxos das famílias ômega-3 e 6 nas dietas animais vem sendo avaliada há alguns anos, porém, ultimamente, a realização de novas pesquisas tem reforçado constatações anteriormente propostas e permitido explorar novos conceitos, tais como a relação entre nutrição e imunidade.

Os resultados aqui obtidos demonstraram que o nível de inclusão de 0,025% de CLA na dieta foi capaz de alterar características físicas e bromatológicas dos ovos e sacos vitelínicos da progênie de matrizes suplementadas, causando também alteração do perfil de ácidos graxos. Essas alterações não foram suficientes para provocar a morte embrionária, uma vez que não houve alteração da relação no índice de gorduras saturadas:insaturadas das gemas, mas isto foi observado na perfil obtido para os sacos vitelínicos de embriões e neonatos. O nível de CLA utilizado foi, portanto, considerado seguro e trouxe o benefício de melhorar, de forma geral, a imunidade da progênie de matrizes suplementadas e das aves suplementadas diretamente com este ácido graxo.

O intestino também foi influenciado pelo CLA, tanto macroscopicamente, quanto a nível histológico. O CLA oferecido às matrizes influenciou o desenvolvimento intestinal dos pintos desde a fase embrionária e continuou a exercer efeito após a eclosão, aliado à suplementação conjunta da progênie.

Entre os órgãos avaliados, o fígado foi o principal a sofrer alteração do peso relativo em virtude da utilização do CLA; o que pode ter ocorrido devido à relatada capacidade do CLA em alterar o metabolismo lipídico, interferindo na função deste órgão.

O processo da produção do frango de corte é resultado de uma série de uma série de atividades prévias que antecedem o seu nascimento. Verificou-se claramente neste trabalho que a dieta oferecida à matriz pode influenciar a progênie em vários aspectos, somados às atividades cumpridas na fase pós-eclosão, visto que as mudanças anatômicas e fisiológicas que ocorrem nas primeiras horas de vida são decisivas para o desempenho e saúde da ave.

Assim, privá-la de alimento nessa fase pode causar prejuízos difíceis de serem recuperados futuramente. O desempenho foi influenciado principalmente pela ocorrência de jejum alimentar pós-eclosão. No entanto, as aves conseguiram se recuperar até os 35 dias de idade, provavelmente pelas condições favoráveis em que foram criadas e pelo período de jejum alimentar, que não foi muito extenso e sem restrição de água; não sendo o CLA capaz de minimizar efeitos decorrentes do jejum.

Ainda com relação ao CLA, a prática de suplementar apenas a progênie não trouxe tantos benefícios quando comparada à suplementação da matriz ou de ambos, provavelmente pela disponibilização precoce do ácido graxo às aves em desenvolvimento.

Considerando os dados de literatura disponíveis a respeito do uso de CLA em dietas para aves, e os resultados aqui divulgados, novas propostas podem ser traçadas para dar continuidade ao estudo e investigar outros benefícios advindos da suplementação deste ácido graxo.

No presente trabalho de pesquisa, a suplementação restringiu-se a curtos períodos, uma vez que se objetivou avaliar a influência do CLA quando disponibilizado nas fases iniciais de vida dos pintos. Períodos maiores de suplementação poderiam gerar resultados mais pronunciados ou confirmar outros efeitos. A avaliação de frangos em idade de abate para determinação da composição de carcaça e qualidade da carne, e a suplementação de poedeiras comerciais com o objetivo de enriquecer os ovos destinados ao consumo são ideias cuja investigação científica é relativamente nova, necessitando ainda de maior atenção.

Além disso, pouco se sabe sobre a capacidade do CLA em alterar a expressão de certos genes, e a exploração da biologia molecular poderia revelar informações importantes a respeito de sua ação no organismo, constituindo um novo direcionamento para pesquisas a respeito deste ácido graxo.