

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
”JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA e CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA

**FONTES DE ÓLEO NA DIETA E SUA IMPORTÂNCIA NO
DESEMPENHO E NA IMUNIDADE DE FRANGOS DE
CORTE**

Sheila Cardoso Ribeiro

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP

2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
”JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA e CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA

**FONTES DE ÓLEO NA DIETA E SUA IMPORTÂNCIA NO
DESEMPENHO E NA IMUNIDADE DE FRANGOS DE
CORTE**

Sheila Cardoso Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Marcos Franke Pinto

Co-orientador: Profa. Dra. Valéria Marçal Felix de Lima

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia – Unesp, Curso de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

ARAÇATUBA - SP
2010

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

R484f Ribeiro, Sheila Cardoso.
Fontes de óleo na dieta e sua importância no desempenho e na imunidade de frangos de corte / Sheila Cardoso Ribeiro. – Araçatuba : [s.n.], 2010
48 f. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, 2010
Orientador: Prof. Marcos Franke Pinto
Coorientadora: Profa. Valéria Marçal Félix de Lima

1. Ácidos graxos Omega-3 2. Óleo de soja 3. Imunologia
4. Frango de corte

CDD 636.0896



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Aracatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Fontes de óleo na dieta e sua importância no desempenho e
na imunidade de frangos de corte.

AUTOR: SHEILA CARDOSO RIBEIRO

ORIENTADOR: Dr. MARCOS FRANKE PINTO


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL
(MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E PRODUÇÃO ANIMAL) pela Comissão Examinadora.


Dr. ANTONIO CARLOS DE LAURENTIZ


Dr. MANOEL GARCIA NETO


Dr. MARCOS FRANKE PINTO

DATA DA REALIZAÇÃO: 20 de agosto de 2010.


Presidente da Comissão Examinadora
Dr. MARCOS FRANKE PINTO
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Sheila Cardoso Ribeiro – nascida em 23 de junho de 1976 no município de Campos dos Goytacazes – RJ. cursou o ensino fundamental no Colégio Cenecista Bartholomeu Lysandro e o ensino médio no Colégio Batista Fluminense, no mesmo município. Ingressou no curso de Medicina veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – RJ em 2000 e formou-se no ano de 2004. Realizou o curso de Pós-graduação *Lato Sensu* – Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária de Alimentos no período de 04/2007 a 06/2008 na Universidade Castelo Branco - RJ. Atuou como chefe do Serviço de Inspeção de Araçatuba – SIM de 01/2009 a 06/2010. Iniciou em 2008 o curso de Pós-graduação em Ciência Animal na FOA/UNESP, na área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal.

Dedico:

A Deus por ter guiado todo meu caminho,

À minha família por me apoiar em todas as
decisões e por se manter sempre presente mesmo
tão distante...

Ao Rafa pela paciência, carinho e apoio
incondicional...

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Adjunto Marcos Franke Pinto, do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, UNESP – Araçatuba, pelos ensinamentos, orientação e por ter acreditado em mim.

À Professora Valéria M. Felix de Lima, do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, UNESP – Araçatuba pela co-orientação e colaboração na execução das análises de imunologia.

Aos professores Manoel Garcia Neto e Sílvia Helena Venturoli Perri do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, UNESP – Araçatuba pela paciência nas análises estatísticas.

Ao funcionário do Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Curso de Medicina Veterinária, UNESP – Araçatuba, Alexandre José Teixeira pela amizade e colaboração.

Ao mestrando Diego Bitencourt pelo apoio nos finais de semana de trabalho no galpão...

Ao Técnico Agropecuário do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, UNESP – Araçatuba, Adão Ângelo Custódio pela colaboração na execução do trabalho.

Às amigas Karline Tikae T. Murakami, Tatiana de Sousa Barbosa, Fabrine Bigatão Pereira e Andréia Fontes Garcia, pelos bons momentos de amizade e descontração.

Às funcionárias da biblioteca sempre prestativas na ajuda de pesquisas...

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, especialmente ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal do curso de Medicina Veterinária, professores e funcionários que participaram direta e indiretamente na transmissão de conhecimentos para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 A importância dos lipídeos no desempenho e metabolismo de frangos de corte.....	13
2.2 Sistema imune das aves.....	16
2.3 Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega 6 e seus derivados eicosanóides.....	19
2.4 Efeito dos ácidos graxos poliinsaturados como mediadores inflamatórios (citocinas).....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Delineamento experimental.....	24
3.2 Avaliação de desempenho.....	26
3.3 Avaliação da resposta imunológica.....	26
3.3.1 Resposta humoral.....	26
3.3.2 Resposta celular.....	27
3.4 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS.....	28
5 DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição das rações basais para frangos de corte.....	25
Tabela 2	Desempenho Produtivo das aves aos 21, 35 e 42 dias de idade.....	30
Tabela 3	Demonstrativo da interação óleo x status vacinal na Conversão alimentar das aves aos 21 e 42 dias de idade.....	31
Tabela 4	Imunidade Humoral e Celular das aves aos 42 dias de idade.....	33
Tabela 5	Demonstrativo da Interação óleo x status vacinal na imunidade humoral das aves aos 42 dias de idade.....	33

LISTA DE ABREVIações

AA: Ácido Araquidônico

ALA: Ácido Alfa-Linoléico

DHA: Ácido Docosahexaenóico

EPA: Ácido Eicosapentaenóico

FNT: Fator de Necrose Tumoral

IGA: Imunoglobulinas A

IgG: Imunoglobulinas G

IgM: Imunoglobulinas M

IL 1: Interleucina – 1

IL 2: Interleucina – 2

IL 6: Interleucina – 6

IL 12: Interleucina – 12

LA: Ácido Linolênico

LTB₄: Leucotrienos B₄

N-3: Ômega – 3

N-6: Ômega – 6

OL: Óleo de linhaça

OP: Óleo de sardinha

OS: Óleo de soja

PGE₃: Prostaglandinas E₃

PGE₂: Prostaglandinas E₂

PGI₂: Prostaciclina I₂

PGI₃: Prostaciclina I₃

PUFA: Ácido graxo poliinsaturado

RCB: Receptores de Células B

TXA₃: Tromboxanos A₃

TXA₂: Tromboxanos A₂

FONTES DE ÓLEO NA DIETA E SUA IMPORTÂNCIA NO DESEMPENHO E NA IMUNIDADE DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO – Foi avaliado o efeito do uso de óleos ricos em ácidos graxos polinsaturados ômega-3 na dieta de frangos de corte sobre o desempenho e a resposta imune humoral e celular à vacinação. Foram comparadas dietas formuladas com óleo de soja (OS), linhaça (OL) ou sardinha (OP), fornecidas a 240 frangos da linhagem Cobb, divididos em 24 grupos de 10 aves cada, num arranjo experimental 3x2 (3 tipos de óleo e 2 situações vacinais) e 4 repetições. O consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar foram avaliados aos 21, 35 e 42 dias. Metade dos grupos foi vacinado contra doença de Newcastle. A produção de anticorpos, avaliada 15 dias após a vacinação pelo método de ELISA e expressa em densidade óptica a 450nm (D.O.^{450nm}), foi maior entre as aves alimentadas com ração com OS (P<0,05). Nos grupos alimentados com OL e OP as médias de D.O.^{450nm} não diferiram significativamente entre vacinados e não vacinados (P>0,05). A resposta linfoproliferativa das aves vacinadas foi maior independente do tipo de óleo utilizado (P<0,05). Na análise de desempenho não houve interferência da fonte de óleo ou da vacinação sobre o ganho de peso e peso vivo. Entre as aves vacinadas a pior média de conversão alimentar correspondeu à dieta com OS. Além disso, entre as aves que receberam dieta com OS, a vacinação piorou significativamente a conversão alimentar, considerando todo o período experimental (P<0,05). Já entre as aves que receberam dieta com OL ou OP, não houve diferença na conversão alimentar entre os grupos vacinados e não vacinados (P>0,05). Estes resultados demonstram que a reação maior ao desafio vacinal prejudicou o desempenho das aves alimentadas com OS.

Palavras-chave: Ácido graxo ômega-3, avaliação desempenho, óleo de soja, sistema imunológico.

SOURCES OF OIL IN THE DIET AND ITS IMPORTANCE IN THE PERFORMANCE AND IMMUNITY OF BROILER

ABSTRACT - The effect of the use of oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in the diet of broiler on performance and humoral immunity and cellular response to vaccination were evaluated. Diets were compared with soybean oil (OS), linseed (OL) or sardine (OP), supplied to 240 broiler, Cobb, divided into 24 groups of 10 birds each in a 3x2 factorial arrangement (3 types of oil and two vaccine situations) and 4 replications. Feed intake, weight gain and feed conversion were evaluated at 21, 35 and 42 days. Half of the groups were vaccinated against Newcastle disease. The production of antibodies evaluated 15 days after vaccination by ELISA and expressed as optical density at 450 nm ($D.O.^{450nm}$) was higher in birds fed OS ($P < 0.05$). In groups fed OL and OP, the mean of $D.O.^{450nm}$ did not differ significantly between vaccinated and unvaccinated ($P > 0.05$). The lymphoproliferative response of vaccinated birds was higher, regardless of the type of oil used ($P < 0.05$). In the performance analysis, there was no interference from the source of oil or of vaccination on weight gain and body weight. Among those vaccinated, the worst average feed conversion corresponded to the diet OS. Moreover, among the birds fed OS, vaccination has significantly worsened feed conversion, considering the entire experimental period ($P < 0.05$). Among the birds fed OL or OP, there was no difference in feed conversion between vaccinated and unvaccinated groups ($P > 0.05$). These results demonstrate that the greatest reaction to the challenge vaccine affected performance of birds fed OS.

Keywords: Fatty acids Omega-3, employee performance, soybean oil, immune system

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem aumentado a preocupação dos consumidores em relação à quantidade e composição da gordura da dieta. Em geral, tem sido preconizado o aumento da ingestão de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs), especialmente os da série ômega-3 (PUFAs n-3) (WANG et al., 2000). Os principais PUFAs, sob o aspecto nutricional, são os da série ômega-3 e ômega-6 (PUFAs n-6). Os precursores desses grupos de PUFAs são, respectivamente, os ácidos graxos alfa-linolênico (ALA) e linoleico (LA) (SIMOPOULOS, 2008).

A proporção recomendada entre PUFAs n-6 e PUFAs n-3 na dieta varia desde 10:1 até 20:1 (SIMOPOULOS, 2004). A necessidade desse balanceamento entre os PUFAs n-6 e n-3 se deve ao fato de que há uma competição entre os ALA e os LA pelas mesmas enzimas nas membranas celulares, as dessaturases, responsáveis pela inserção de uma dupla ligação na cadeia carbônica dos ácidos graxos, e as elongases, que promovem a inserção de pares de carbono. Pela ação dessas enzimas, o LA se converte em ácido araquidônico (AA), enquanto o ALA dá origem a outros PUFAs n-3, como os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (GARÓFOLO; PETRILLI, 2006). A enzima limitante dessas reações é a dessaturase, que apresenta maior afinidade para os substratos mais insaturados, o que resulta em uma maior probabilidade da síntese de PUFAs n-3, uma vez que o precursor desse grupo, o ALA, possui três insaturações, enquanto o LA possui apenas duas (SIMOPOULOS, 2002). O AA e o EPA, através da ação de enzimas intracelulares (lipoxigenases) e de membranas (cicloxigenases), convertem-se em eicosanóides, como as prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos (MOREIRA et al., 2001), moléculas derivadas de ácidos graxos de 20 carbonos, que exercem um complexo controle sobre diversos sistemas do organismo.

Os ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 e ômega-6 têm sido amplamente investigados nas últimas décadas, por sua influência sobre a

resposta imune e processos inflamatórios em humanos (CALDER, 1998; CAUGHEY et al., 1996; ROBINSON et al., 1993) e animais (HALL et al., 2007; JOLLY et al., 1997; PARMENTIER et al., 1997). Eles exercem uma grande influência tanto na imunidade mediada por células como na imunidade humoral (KELLEY et al., 1991).

A composição de ácidos graxos da dieta pode afetar não somente o sistema imune das aves como também seu desempenho produtivo. As gorduras são grandes fornecedoras de energia e de ácidos graxos essenciais, e por conterem mais energia que os carboidratos, são utilizadas nas rações para aumentar a densidade energética, promovendo um efeito benéfico no desempenho dos frangos (JUNQUEIRA et al., 2005), além de melhorar a palatabilidade e diminuir a pulverulência da ração (LARA et al., 2005). O tipo de óleo adicionado à ração pode causar alterações organolépticas, alterando o consumo e, conseqüentemente, os demais parâmetros de desempenho (ALMEIDA, 2007).

Poucos estudos avaliam a influência da composição de ácidos graxos da dieta sobre a imunidade das aves, porém a resposta imunológica tem impacto importante na produção animal (KORVER; KLASING, 1997).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos níveis de PUFAs n-3 em relação aos PUFAs n-6 na dieta de frangos de corte sobre o desempenho e a resposta humoral e celular frente a um desafio antigênico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DOS LIPÍDEOS NO DESEMPENHO E NO METABOLISMO DE FRANGOS DE CORTE

As pesquisas atuais voltadas às linhagens de frangos de corte têm desenvolvido aves com grande potencial genético para ganho de peso e conversão alimentar. Passou-se a exigir dos especialistas em nutrição animal a formulação de dietas com elevada densidade energética e adequado balanço de aminoácidos, a fim de explorar ao máximo o potencial para crescimento e

melhor rendimento de carcaça (FASCINA, 2007). As aves são, possivelmente, os animais que operam tais transformações com maior rapidez e eficácia. Por exemplo, um frango de corte há 25 ou 30 anos transformava cerca de 4,2 kg de ração em 2,0 kg de seu próprio peso vivo em 52 dias (ANDRIGUETTO et al., 1983). As linhagens comerciais, hoje, necessitam menos de 4 kg de ração e 42 dias para obter o mesmo resultado (MENDES et al., 2004)

Por conterem mais energia em comparação aos carboidratos, os óleos vegetais e as gorduras de origem animal são importantes opções para formulações de dietas com elevada densidade energética e baixo custo por unidade de energia. O óleo de soja tem sido a alternativa mais empregada para atender a essa necessidade (ALMEIDA, 2007). Além disso, os óleos vegetais podem proporcionar efeito benéfico no desempenho das aves, muitas vezes, apresentando valor biológico superior ao esperado, com melhoria na taxa de crescimento, na eficiência de absorção de ingredientes na dieta (FASCINA, 2007), melhora na palatabilidade, conversão alimentar e redução na perda de nutrientes (NRC, 1994).

O tipo de óleo adicionado à ração pode influenciar as características relacionadas ao desempenho das aves como ganho de peso dos animais (AJUYAH et al., 1991; PARMENTIER et al., 1997), consumo (ALMEIDA et al., 2009) e conversão alimentar (MURAKAMI et al., 2010) ou ainda, a composição corporal e as características da carne (CRESPO; ESTEVE-GARCIA, 2001).

A utilização de ácidos graxos insaturados na dieta também pode influenciar o desempenho das aves. De acordo com Dvorin et al., (1998), o aumento da quantidade de ácidos graxos poliinsaturados na dieta de frangos de corte promove melhores resultados para ganho de peso e conversão alimentar dos animais testados. Villaverde (2005) também observou queda do consumo alimentar de frangos de corte com a adição de ácidos graxos insaturados na dieta. Alguns autores (BRUE; LATSHAW, 1985; HULAN et al., 1989) relatam que fontes de PUFAs podem modificar as características organolépticas da ração afetando seu consumo e, conseqüentemente prejudicando o ganho de peso ou o peso vivo de frangos de corte.

Os lipídeos são importantes compostos, que no organismo apresentam diversas funções, entre elas a de fornecer energia, compor a estrutura das células, participar de mecanismos fisiológicos, como processos inflamatórios e imunológicos. Os mais importantes lipídeos que atuam no metabolismo animal incluem o glicerol, mono, di e triglicerídeos, colesterol, fosfolipídeos e ácidos graxos.

O glicerol é um composto orgânico do metabolismo normal dos animais. É encontrado na circulação e nas células. Quimicamente, a estrutura dos lipídeos é formada pela associação de uma molécula de glicerol com uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos (PADILHA, 2007).

Hoje importantes pesquisas têm sido desenvolvidas para emprego de novas tecnologias promotoras de desenvolvimento socioeconômico local utilizando o glicerol, sendo o biodiesel um exemplo. Derivado de óleos vegetais e gorduras animais, um dos produtos gerados em sua fabricação é a glicerina, produto que tem despertado interesse imediato dos pesquisadores na formulação de rações de crescimento e terminação de aves e suínos, tanto pela rica fonte de energia como também pelos efeitos positivos sobre a retenção de aminoácidos ou nitrogênio (CERRATE et al., 2006).

Os monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos quimicamente são ésteres de glicerol e ácidos graxos. Entre os produtos vegetais ricos em triglicerídeos destacam-se os óleos de côco, milho, oliva, linhaça, soja e outros (POND et al., 1995). Os triglicerídeos estão presentes com o colesterol formando as duas principais gorduras do sangue.

O colesterol é sintetizado em quantidades necessárias pelo organismo e se encontra em todos os tecidos animais, mais especialmente concentrados no fígado, rins, glândulas supra-renais e cérebro. É um composto vital para o organismo, essencial nas membranas celulares, produção de hormônios sexuais, vitamina D e sucos digestivos. O colesterol tem origem endógena, sintetizado a partir do acetato no fígado, ou exógena, presente nos alimentos de origem animal. Para aves este composto tem importantes funções no

organismo, pois exerce papel fundamental na membrana das células e no metabolismo de diversos compostos (BERTECHINI, 2006).

Os fosfolipídeos são lipídeos compostos que aparecem em pequenas concentrações nos tecidos, desempenhando funções metabólicas importantes no organismo. A lecitina, um importante fosfolipídeo, desempenha papel fundamental na membrana das células controlando sua permeabilidade, graças a sua dupla solubilidade, sendo parte da molécula lipossolúvel e parte hidrossolúvel (BERTECHINI, 2006).

Os ácidos graxos são estruturas monocarboxílicas e possuem número par de átomos de carbono dispostos numa cadeia linear. Com base na presença ou ausência de duplas ligações na cadeia, os ácidos graxos podem ser classificados como insaturados ou saturados, respectivamente. Entre os ácidos graxos insaturados, de acordo com o número de duplas ligações presentes na cadeia, são denominados mono, di, tri ou poliinsaturados. A ausência de ligações duplas na cadeia contribui para que óleos e gorduras sejam mais estáveis aos processos degradativos de rancidez autoxidativa. Os ácidos graxos com cadeia inferior a 10 átomos de carbono são líquidos à temperatura ambiente e aqueles com 10 ou mais átomos de carbono são sólidos, ocorrendo um aumento progressivo do ponto de fusão com o aumento no comprimento da cadeia (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996).

2.2 SISTEMA IMUNE DAS AVES

Os órgãos linfóides das aves diferem dos mamíferos em estrutura e distribuição. Não há linfonodos propriamente ditos na maior parte das espécies de aves, e o timo é dividido em vários lobos. Há ainda uma concentração de tecido linfóide localizado na região óculo-nasal denominada glândula de Harder, e uma organização diferenciada deste tecido junto ao intestino. A característica mais peculiar das aves é, porém, a presença da bolsa cloacal, onde ocorrem os estágios finais de desenvolvimento e diferenciação de linfócitos B (SILVA, 2009). Os órgãos que regulam a produção e a diferenciação dos linfócitos são conhecidos como órgãos linfóides primários.

Nas aves o timo é responsável pelo amadurecimento das células T, já as células B, se desenvolvem na bursa de fabricius (TIZART, 1998). Os agregados linfóides e vasos linfáticos, baço, tecido linfóide associado ao trato intestinal e tecido linfóide paraocular e paranasal constituem os órgãos linfóides secundários (SILVA, 2009).

Assim como em outras espécies, nas aves a resposta imune pode ser dividida em resposta inata e resposta adaptativa (VOGT, 2005). Essa diferença está relacionada aos processos envolvidos na eliminação de um agente agressor após sua entrada no organismo.

Na resposta inata estão presentes células e moléculas, capazes de combater e eliminar os antígenos nos primeiros estágios da infecção, e ainda montar uma defesa a longo prazo, através do sistema adaptativo, que envolve principalmente linfócitos T e B e liberação de proteínas, denominadas citocinas, por estas mesmas células (SILVA, 2009).

O sistema imune adaptativo das aves pode ser dividido em imunidade humoral e imunidade celular (VOGT, 2005). A resposta imune humoral é mediada por anticorpos, formados por plasmócitos, que são linfócitos B diferenciados, e atuam apresentando os antígenos aos macrófagos para produção de uma imunoglobulina específica que, depois de formada, liga-se aos patógenos alvos específicos e os inativa. A imunidade celular se caracteriza pela participação de células T efectoras, que se desenvolvem após o estímulo antigênico sobre o linfócito. É importante na eliminação de células infectadas por microrganismos e células cancerosas (TAMEHIRO, 2006).

Existem três classes de anticorpos que são produzidos pelas aves após a exposição a organismos patogênicos, são eles as imunoglobulinas M (IgM), imunoglobulinas G (IgG) e as imunoglobulinas A (IgA). A classe de anticorpos IgM aparece de 4 a 5 dias após exposição ao antígeno, desaparecendo de 10 a 12 dias após. As IgG são detectadas após 5 dias da exposição, com pico na terceira semana após exposição a infecção, e então decrescem lentamente. As IgG são importantes imunoglobulinas nas aves, e podem ser mensuradas por diversos testes sorológicos. Portanto, no caso de determinação dos níveis de

anticorpos produzidos pela vacinação, o soro deverá ser coletado após duas ou três semanas da data da vacinação. Caso contrário, os títulos de anticorpos ainda estarão subindo, o que levará a falsos dados para a interpretação do desempenho da vacina ou vacinação. As IgA aparecem cinco dias após a exposição ao agente infeccioso. Essa imunoglobulina é encontrada primariamente na secreção mucóide dos olhos, intestinos e do trato respiratório, sendo responsável pela proteção "local" desses tecidos (ZUANAZE, 2003).

A resposta imunológica primária se desenvolve quando o indivíduo entra em contato com o antígeno pela primeira vez. A resposta do tipo secundária ocorre quando um organismo é exposto novamente ao mesmo antígeno. Neste caso, a resposta será específica e envolverá principalmente linfócitos T e B e produção de anticorpos (GERTNER et al., 2008).

O agente patogênico, ao entrar no organismo, é fagocitado. O antígeno exógeno processado pode ser apresentado por meio de células apresentadoras de antígenos aos linfócitos T auxiliares, que são estimulados pelas interleucinas IL-1 (Interleucina – 1) e IL-2 (Interleucina – 2). Ao mesmo tempo, os linfócitos B são estimulados através de seus receptores (RCB), por antígenos, por células T auxiliares ou por células apresentadoras de antígenos, e respondem produzindo anticorpos, que se unem aos antígenos, auxiliando e tornando mais fácil a fagocitose pelos macrófagos.

Outro grupo de linfócitos, denominados células T citotóxicas, participa ativamente na eliminação dos antígenos. Quando uma célula infectada é reconhecida por uma célula T citotóxica, ela dispara uma resposta que resulta na apoptose da célula apresentadora de antígeno. Os linfócitos T citotóxicos recebem dois sinais-chave. O primeiro é a IL-2 secretada pelas células T auxiliares, que estimula a célula T citotóxica a produzir mais receptores de IL-2. O segundo sinal vem das células apresentadoras de antígeno. Esta combinação de sinais leva a mitose das células T, e à medida que se dividem, finalmente se diferenciam em células T de memória e células T citotóxicas ativas (TIZART, 1998).

Como visto acima, para que a resposta imune ocorra é necessário que as células emitam sinais entre elas. As células do sistema imune secretam uma variedade enorme de proteínas capazes de desempenhar esta função. Estas proteínas reguladoras são denominadas citocinas (TIZART, 1998) e desempenham suas funções atuando sobre diversos tipos de células.

2.3 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ÔMEGA-3 E ÔMEGA-6 E SEUS DERIVADOS EICOSANÓIDES

Os PUFAs n-3 e n-6 são também denominados ácidos graxos essenciais, que não podem ser sintetizados pelas células animais, devendo por isso ser obtidos através da dieta (YAQOOB, 2004). Os ácidos graxos ômega-3 e seus derivados têm como principais fontes as plantas e animais marinhos, principalmente os fitoplânctons, as algas e os óleos de peixes, mas também podem ser encontrados nos óleos vegetais de linhaça e canola (YOUUDIM et al., 2000). O fitoplâncton, que se constitui na base da cadeia alimentar dos oceanos, sintetiza o EPA e o DHA, os quais são encontrados em grande concentração em peixes de águas frias e profundas, como cavala, sardinha, salmão e truta (CONNOR, 2000). Já os representantes da família ômega-6 podem ser obtidos nas sementes de plantas oleaginosas, principalmente nos óleos de soja, milho, girassol e nas castanhas (YOUUDIM et al., 2000).

De acordo com profissionais de nutrição, a nomenclatura ômega-6 e ômega-3 deve-se a localização da primeira insaturação, no sexto e terceiro carbono, respectivamente, enumerados a partir do grupo metil terminal (MARTIN et al., 2006).

Entre os ácidos graxos presentes nos alimentos, os ômega-6 predominam na maioria das dietas. Esse ácido graxo é representado pelo ácido araquidônico (AA) presente nas membranas plasmáticas de praticamente todas as células (eritrócitos, plaquetas, monócitos, linfócitos, granulócitos, fibroblastos, células endoteliais, neuronais, hepáticas, do neuroblastoma e da retina) (SIMOPOULOS, 2002). Em resposta a diferentes estímulos, o AA pode ser liberado das membranas celulares pela ação de fosfolipases e será

metabolizado por duas diferentes enzimas: cicloxigenase e lipoxigenase. A via de cicloxigenase fornece importantes produtos metabólicos, como a prostaciclina I_2 (PGI_2), o tromboxano A_2 (TXA_2) e as prostaglandinas E_2 (PGE_2). As lipoxigenases formam hidroperóxidos instáveis que dão origem aos leucotrienos B_4 (LTB_4) (CARVALHO, 1990), todos atuantes nos processos inflamatórios.

Quando as dietas são suplementadas com alimentos ricos em ácidos graxos poliinsaturados da série ômega-3, EPA e DHA substituem parcialmente o AA e competem com ele como substrato das enzimas cicloxigenase e lipoxigenase, dando origem a substâncias como prostaciclina (PGI_3), o tromboxano A_3 (TXA_3) e as prostaglandinas E_3 (PGE_3), e leucotrienos da série 5 (SIMOPOULOS, 2002). Esta competição entre os ácidos linoléico e alfa-linolênico levou pesquisadores e órgãos de saúde a estabelecerem várias recomendações quanto a melhor relação de n-6/n-3 na dieta. As razões de 2:1 a 4:1 tem sido recomendadas para pessoas com hábitos alimentares que resulta em uma baixa ingestão na dieta dos EPAs e DHAs (MARTIN et al., 2006). Estudos em humanos que foram submetidos a dieta com razões entre 6:1 e 8:1 demonstraram que a conversão do ALA varia de 8% a 21% em EPA e 0% a 9% para conversão em DHA, com nível maior de conversão em mulheres (BURDGE; WOOTTON, 2002; QIU, 2003), possivelmente pela influência do estrogênio sobre a atividade das enzimas dessaturases (BURDGE; WOOTTON, 2002). Nas últimas décadas tem se determinado, em diversos países, que a ingestão média de ácidos graxos resulta em relações de n-6/n-3 de 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1 (SIMOPOULOS, 2004)

Os PUFAs essenciais podem ser modificados pelos mamíferos, com alongamento da cadeia, inserção de insaturações e descarboxilação de pares de cadeia. Dessa forma, os ácidos graxos da família n-3 e n-6 competem entre si, especialmente na etapa de dessaturação, pela dessaturase delta 6. Em geral as enzimas dessaturases apresentam maior afinidade para os substratos que apresentam mais insaturações. Os PUFAs também competem pelas

enzimas alongases e pelas acetil transferases, envolvidas na formação dos fosfolípidos. Os produtos do metabolismo (elongação e dessaturação) dos ácidos graxos essenciais serão sempre da mesma família desses substratos. Portanto, EPAs e DHAs, são produtos do metabolismo do ALA, assim como o AA é o produto do metabolismo do LA (VAZ et al., 2006).

Diversos trabalhos demonstraram um efeito antiinflamatório e imunomodulador associado à suplementação da dieta com PUFA n-3 em várias espécies (CALDER, 1996), inclusive em frangos (HALL et al., 2007). Por isso o seu consumo tem sido preconizado como medida auxiliar na prevenção e terapia de doenças inflamatórias e auto-imunes (KORVER; KLASING, 1997).

2.4. EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS COMO MEDIADORES INFLAMATÓRIOS (CITOCINAS)

A proporção entre PUFAs n-3 e n-6 da dieta é determinante para a quantidade de LA ou ALA na membrana das células (JAMES et al., 2000). Numa dieta rica em EPA, estes são incorporados às membranas celulares substituindo o AA, e a consequência desta substituição é a menor produção de eicosanóides mediadores, como a PGE_2 e o LTB_4 . A PGE_2 poderá, em diferentes situações, inibir ou estimular a produção de imunoglobulinas pelas células B, através do estímulo à produção e interação de diferentes citocinas (HE et al., 2001). A substituição do AA pelo EPA nas membranas celulares também levará ao aumento da produção de PGE_3 (HAWKES et al., 1992) e os leucotrienos da série 5 (JAMES et al., 1991), que possuem características antiinflamatórias (GARÓFOLO; PETRILLI, 2006). Além de alterar a resposta imune humoral, o tipo de ácido graxo presente na dieta e, conseqüentemente, incorporado na camada fosfolípídica da membrana plasmática celular pode causar diferentes respostas também na proliferação de células, por agir sobre as proteínas e moléculas envolvidas na sinalização intracelular (SIMONS; TOOMRE, 2000).

As citocinas, como visto anteriormente, são proteínas reguladoras que podem ser classificadas como interleucinas e interferons, ambos envolvidos na comunicação entre os linfócitos (NAOUM, 2009).

A IL-1 é produzida principalmente por macrófagos e desempenha importante papel nos processos inflamatórios, sendo os principais co-estimuladores das células T auxiliares (TIZART, 1998). A IL-2 ativa as células T auxiliares e citotóxicas. Para ser responsiva à IL-2, uma célula T deve ser primeiro ativada pelo antígeno e pela interleucina-12 (IL-12). A IL-2 estimula a célula T a se proliferar e é um componente chave da resposta imune, agindo nas células B promovendo seu crescimento e estimulando a síntese de imunoglobulinas (TIZART, 1998). A interleucina-6 (IL-6) age tanto sobre as células T e B como também nos hepatócitos e células estromais da medula óssea, promove a produção de IL-2 e diferenciação de células T e age como co-fator com outras interleucinas na produção de imunoglobulinas (TIZART, 1998).

O fator de necrose tumoral (TNF) participa da resposta imune, por meio da ativação e recrutamento de neutrófilos e monócitos para o local da infecção, age em células endoteliais estimulando-as a secretarem as quimiocinas com ação quimiotática sobre os leucócitos e ativa a expressão de novos receptores celulares, que irão promover a adesão de neutrófilos, monócitos e linfócitos. Funciona ainda como pirógeno endógeno, por meio do aumento da síntese de prostaglandinas. No fígado, estimula a produção das proteínas de fase aguda do processo inflamatório e do fibrinogênio, em conjunto com as IL-1 e IL-6 (ABBAS et al., 2000).

A influência da composição da dieta na produção de citocinas tem sido investigada em pacientes com esclerose múltipla, doença onde as células T ativadas adquirem a capacidade de produzir diferentes citocinas inflamatórias. Uma dieta rica em PUFAS n-3 pode diminuir a produção de citocinas IL-1 e FNT α por células mononucleares do sangue periférico e ainda determinar uma queda na produção de IL-2 por estas mesmas células em pacientes com esclerose múltipla e pacientes do grupo controle (GALLAI et al., 1995).

Em frangos de corte, a utilização de óleo de peixe na ração levou a alterações na resposta imune inflamatória e específica destes animais, resultando em uma maior imunidade mediada por células (KORVER; KLASING, 1997).

Por outro lado, em ratos, Calder (1998) relata que o consumo de óleo de peixe diminui a proliferação de linfócitos, a atividade de células natural *killer* e a citotoxicidade mediada por células T, macrófagos, monócitos e neutrófilos. Compromete a atividade de células apresentadoras de antígenos, diminui a ação de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF, e inibe a produção de imunoglobulinas nestas espécies.

Os ácidos graxos podem ainda influenciar a resposta das células. Segundo Shaikh e Edidin (2006), os linfócitos T são divididos em duas classes: CD4⁺ e CD8⁺, que se diferem pela expressão de moléculas de superfície. As células CD8⁺ são linfócitos T citotóxicos, responsáveis pela destruição de células infectadas por vírus. As células T CD4⁺ são linfócitos T auxiliares envolvidos na ativação de macrófagos e células B. As respostas de ambas as classes de linfócitos são dependentes das interações entre receptores e co-receptores de células T com proteínas específicas de células apresentadoras de antígenos. De acordo com estes autores, dietas suplementadas com altas doses de ácidos graxos ômega-3 trazem efeitos imunossupressivos por sua ação na membrana dos linfócitos, inibindo a sinalização mediada por receptores de células T e impedindo sua ativação e proliferação. Além disso é possível que ocorra também alteração conformacional na expressão de moléculas de superfície do complexo maior de histocompatibilidade e em células apresentadoras de antígenos.

Muitos estudos têm sido realizados com objetivo de se investigar os efeitos da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados sobre a resposta imune de humanos e animais, poucos direcionados à espécie aviária. Nos trabalhos já publicados que abordam o tema não se verificou um completo esclarecimento sobre a influência dos ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6 na ação de eicosanóides e citocinas, além disso, os resultados encontrados por diferentes

autores são contraditórios, em alguns ocorre supressão da resposta imune humoral ou celular em dietas ricas em ômega-3, em outras, há estímulo à produção de imunoglobulinas ou resposta celular. Sijben et al. (2001) ressalta em seu trabalho que muitos destes resultados contraditórios podem ser atribuídos a fatores como a utilização de diferentes antígenos na estimulação da resposta imune ou o uso de diferentes espécies, ou diferentes linhagens dentro de uma mesma espécie. É importante, entretanto, que novos estudos sejam realizados a fim de se esclarecer os efeitos dos ácidos graxos essenciais na resposta inflamatória de frangos de corte

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento experimental

O experimento foi realizado na Universidade Estadual Paulista – UNESP, campus de Araçatuba, no período de maio a junho/2009. Foram utilizadas 240 aves da linhagem comercial Cobb, machos, criadas em galpão climatizado, com temperatura, umidade relativa e velocidade do ar monitoradas durante os 42 dias de período experimental. Adotou-se um programa de iluminação artificial de 23 horas de luz por 1 hora de escuro.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2 (3 fontes de óleo x aves vacinados ou não vacinadas), totalizando 6 tratamentos, 4 repetições e 10 aves por repetição. As aves foram alojadas em divisões de 4,6 m², distribuídas em 24 boxes com livre acesso à água e ração formulada segundo as especificações do Rostagno et al (2005), para as fases inicial, de crescimento e terminação. Todas as aves receberam ração contendo a mesma porcentagem de óleo. De acordo com cada tratamento, a ração foi formulada exclusivamente com óleo de soja, linhaça ou sardinha (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição percentual e calculada da ração basal para frangos de corte da linhagem Cobb nas fases inicial (1 a 21 dias) e de crescimento/terminação (22 a 49 dias)

Ingredientes	Ração Inicial	Ração Crescimento/ terminação
	(1-21 dias)	(22-49 dias)
Milho em grão	50,97	56,89
Farelo de soja (45% PB)	40,47	33,59
Óleo*	4,58	6,00
Fosfato bicálcico	1,81	1,51
Calcário calcítico	0,89	0,80
Premix mineral/vitamínico 1	0,36	0,35
Sal comum	0,50	0,45
Monensina de sódio (10%)	0,11	0,11
DL-metionina	0,23	0,20
L- Lisina HCL	0,07	0,10
Total	100	100
Composição calculada		
Energia metabolizável (kcal.kg-1)	3.050	3.219
Proteína (%)	22,75	20,13
Extrato etéreo (%)	7,08	8,59
Cálcio (%)	0,90	0,77
Fósforo disponível (%)	0,45	0,39
Sódio (%)	0,22	0,20
Aminoácidos		
Arginina	1,55	1,34
Lisina	1,29	1,14
Metionina	0,57	0,51
Metionina+cistina	0,92	0,83
Treonina	0,88	0,78
Triptofano	0,29	0,25

¹ Composição/kg de ração: vit.A 8.800 UI; vit.D₃ 3.300UI; vit k₃ 3,3 mg, tiamina 4mg; riboflavina 8mg; ácido pantotênico 15mg; niacina 50mg; piridoxina 3,3mg; colina 600mg; ácido fólico 1mg; biotina 200µg; vit B₁₂ 12µg; antioxidante 120mg; manganês 70mg; zinco 70mg; ferro 60mg; cobre 10mg; iodo 1mg; selênio 0,3mg. Ração formulada conforme as exigências nutricionais de Rostagno et al (2005).

As aves foram vacinadas aos 7 e 21 dias de idade contra a doença de Newcastle, recebendo uma gota ocular de suspensão vacinal de vírus vivo tipo B1, amostra La Sota (New Vac-LS®, da Fort Dodge) permanecendo a outra metade sem vacinação. Aos 35 dias de idade, 14 dias após a última vacinação, foi coletado sangue, por punção cardíaca, para verificar a resposta imune humoral e celular contra vírus de Newcastle.

3.2 Avaliação do desempenho

Aos 21, 35 e 42 dias de experimento, as aves e a ração foram pesadas para avaliação do ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

3.3 Avaliação da resposta imunológica

Para avaliação da resposta imune, foram abatidas duas (2) aves por repetição, totalizando 8 aves para cada tratamento, aos 35 dias de idade.

O sangue foi coletado por punção cardíaca, de forma asséptica, para avaliação de anticorpos contra vírus de Newcastle (soro) e proliferação de linfócitos T.

3.3.1 Resposta humoral

Os níveis de anticorpos específicos contra o vírus de Newcastle foram avaliados pelo método ELISA, utilizando-se kits comerciais (Newcastle Disease Antibody Test Kit, da IDEXX Lab. Inc., Maine, USA), seguindo-se a recomendação do fabricante. Todos os valores obtidos foram calculados conforme descrito pelo fabricante, e os resultados foram expressos em densidade óptica (D.O.).

3.3.2 Resposta celular

Para avaliação da imunidade celular, foi realizado o isolamento das células mononucleares de sangue periférico por gradiente de densidade, por meio da utilização do kit *Ficoll-Paque PLUS* (Amersham Biosciences, Fairfield, USA) seguindo as recomendações do fabricante. Posteriormente realizou-se a contagem das células em câmara de Neubauer, as células foram cultivadas em meio RPMI-1640 (Sigma Aldrich, Missouri, USA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco Invitrogen, Califórnia, USA) e antibiótico penicilina (100 IU/ml) (Gibco Invitrogen, Califórnia, USA) e estreptomicina (100 µg/ml) (Gibco Invitrogen, Califórnia, USA) na presença do mitógeno fitohemoaglutinina (50 µg/ml) (Gibco Invitrogen, Califórnia, USA) em estufa com 5% de CO₂ a 40°C por 72h, após o período de incubação, a resposta linfoproliferativa foi determinada por citometria utilizando-se o kit *CellTrace™ CFSE Cell proliferation* (Invitrogen, Califórnia, USA) de acordo com as recomendações do fabricante

A análise da proliferação celular foi feita pelo programa Cytosoft versão 4.1 – Guava Expressplus. Os resultados foram expressos como Índice de Proliferação Celular (IPC) e obtidos pela divisão entre a contagem de proliferação celular/contagem de células mãe.

3.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste t para comparação múltipla com 5% de significância. A análise estatística foi efetuada empregando-se o pacote estatístico SAS (SAS, 1999; ZAR, 1992). O modelo utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + O_i + V_j + OV_{ij} + e_{ij}, \text{ onde:}$$

Y = valor da variável resposta; μ = média geral; O_i = efeito do óleo i (i = linhaça, sardinha, soja); V_j = efeito do grupo j (j = vacinados e não vacinados);

OV_{ij} = efeito da interação entre grupo i x j ; e_{ij} = erro. Foi considerada diferença significativa, se $P \leq 0.05$.

4 RESULTADOS

Na Tabela 2 são apresentados os parâmetros de desempenho das aves em três diferentes períodos: 1-21, 1-35 e 1-42 dias de idade. A vacinação não influenciou o ganho de peso e o peso vivo das aves em nenhum dos períodos avaliados. Já os resultados de conversão alimentar nos períodos de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias apresentaram uma interação estatisticamente significativa entre os fatores estudados (situação vacinal e fonte de óleo na dieta). Por esse motivo, na Tabela 3 é apresentado o desdobramento das médias de conversão alimentar nesses períodos.

Os resultados obtidos demonstram que o consumo alimentar médio das aves não diferiu significativamente em nenhum dos tratamentos até os 21 dias ($P > 0,05$). Na segunda avaliação, aos 35 dias, não foi verificada diferença entre os óleos, mas as aves vacinadas consumiram mais ração que as aves não vacinadas ($P < 0,05$). Aos 42 dias as aves suplementadas com óleo de sardinha aumentaram seu consumo consideravelmente em relação aos animais dos demais grupos ($P < 0,05$). Não foi constatada diferença entre aves vacinadas e não vacinadas ($P > 0,05$) durante este período.

Entre os parâmetros ganho de peso, peso vivo e consumo de ração, não houve interação estatística entre os tratamentos óleo x situação vacinal, em qualquer dos períodos testados.

Na avaliação do ganho de peso e peso vivo não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os óleos testados, isto é, a fonte de óleo na dieta das aves não influenciou esses parâmetros de desempenho, em qualquer período de avaliação das aves. O mesmo ocorreu quando as aves foram desafiadas imunologicamente com o uso da vacina. As aves vacinadas não apresentaram diferença significativa de ganho de peso ou peso vivo em relação às aves não vacinadas ($P > 0,05$).

No período de 1 a 35 dias, os resultados de conversão alimentar das aves diferiram significativamente somente entre aves vacinadas e não vacinadas, sem influência da fonte de óleo da dieta ($P < 0,05$). Nos outros períodos, de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias, verificou-se uma interação estatística entre esses fatores (fonte de óleo da dieta e situação vacinal) para variável estudada.

Considerando os períodos de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias, entre as aves submetidas à vacinação, o grupo suplementado com óleo de linhaça apresentou melhor conversão alimentar que as aves alimentadas com óleo de soja (Tabela 3). As aves do grupo suplementado com óleo de sardinha não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) em relação aos demais grupos nesses períodos. Aos 42 dias, entre as aves não vacinadas, a conversão alimentar do grupo alimentado com óleo de sardinha foi pior, em relação aos grupos que receberam as outras duas dietas.

Ao compararmos a conversão alimentar dos animais vacinados e não vacinados suplementados com o mesmo tipo de óleo verificamos que aos 21 e aos 42 dias de idade, os animais do grupo soja submetidos a vacinação apresentaram pior conversão alimentar ($P < 0,05$).

Tabela 2 – Desempenho Produtivo Médio das aves de acordo com o óleo e situação Imunológica aos 21, 35 e 42 dias de idade

Tratamentos	Consumo Alimentar (g)			Ganho de Peso (g)			Conversão Alimentar			Peso Vivo (g)		
	1-21d	1-35d	1-42d	1-21d	1-35d	1-42d	1-21d	1-35d	1-42d	21 d	35 d	42 d
Óleos												
Linhaça	913	3617	4984 ^b	665	2459	2865	1,37	1,47	1,74	708	2502	2908
Sardinha	954	3847	5321 ^a	687	2561	2934	1,39	1,50	1,81	725	2600	2972
Soja	903	3687	4998 ^b	650	2474	2812	1,39	1,49	1,78	688	2512	2850
Situação V.												
Vacinados	938	3813 ^a	5145	676	2522	2843	1,39	1,51 ^a	1,81	715	2560	2882
Não Vacin.	909	3621 ^b	5057	658	2474	2897	1,38	1,46 ^b	1,74	699	2515	2938
CV (%)	6,39	5,94	5,78	7,19	5,32	4,32	3,86	2,51	2,89	6,81	5,25	4,26
ANOVA												
							Pr > F					
Óleos (O)	0,2161	0,1305	0,0586	0,3167	0,2820	0,1720	0,7356	0,2467	0,0371	0,3275	0,3010	0,1731
Situação V (SV)	0,2534	0,0466	0,4734	0,3812	0,3953	0,3064	0,6800	0,0048	0,0071	0,4386	0,4164	0,2870
O x SV	0,8359	0,7484	0,8249	0,5083	0,9106	0,1701	0,0228	0,1302	0,0338	0,5394	0,8980	0,1627

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t (P<0,05). PR > F – Nível descritivo; CV – Coeficiente de Variação; Situação V. – Situação vacinal; Não V. – Não Vacinados.

Tabela 3 – Demonstrativo da Interação óleo x situação vacinal na Conversão alimentar¹ das aves aos 21 e 42 dias de idade.

Período (dias)	Conversão Alimentar		
	Oleos	Vacinados	Não Vacinados
21	Linhaça	1,347 ± 0,034 ^{bA}	1,400 ± 0,046 ^{aA}
	Sardinha	1,383 ± 0,087 ^{abA}	1,404 ± 0,061 ^{aA}
	Soja	1,442 ± 0,476 ^{aA}	1,340 ± 0,016 ^{ab}
42	Linhaça	1,765 ± 0,042 ^{bA}	1,716 ± 0,033 ^{bA}
	Sardinha	1,812 ± 0,064 ^{abA}	1,813 ± 0,070 ^{aA}
	Soja	1,851 ± 0,063 ^{aA}	1,707 ± 0,005 ^{bB}

¹Valores Médios das amostras e seus respectivos desvio-padrão. Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t (P>0,05).

Para avaliação da resposta imune humoral e celular, foi utilizada a vacina contra o vírus de Newcastle como desafiante antigênico. Na Tabela 4 estão expressas as médias e o desvio padrão dos valores de densidade óptica (D.O.) obtidos no teste de ELISA e Índice de Proliferação Celular (IPC) obtidos após estímulo pelo mitógeno fitohemoaglutinina. Na avaliação da resposta humoral o nível descritivo da interação entre as variáveis testadas (fonte de óleo e situação vacinal dos frangos) foi $P=0,0673$. Segundo Perecin e Cargnelutti (2008), o uso de um nível de significância menos rigoroso para interpretação do efeito da interação de variáveis num experimento pode revelar informações importantes. Os autores recomendam o uso de um nível de significância de 25% para as interações, mantendo o usual nível de significância de 5% para a comparação das médias. Por isso, na Tabela 5, é apresentado o desdobramento da interação das variáveis estudadas sobre os resultados de imunidade humoral. Entre as aves não vacinadas, não houve diferença significativa para os valores de D.O. entre os grupos suplementados com óleo de linhaça, sardinha ou soja, porém após a vacinação, o grupo que recebeu óleo de soja apresentou um aumento significativo ($P<0,05$) da produção de imunoglobulinas em relação aos demais grupos.

De acordo com a resposta linfoproliferativa de células T, estatisticamente, não houve interação significativa entre as variáveis testadas óleo x situação imunológica, demonstrando serem duas variáveis independentes. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os óleos testados, mas quando as aves são submetidas a um desafio imunológico, verifica-se um aumento significativo ($P<0,05$) da proliferação de células T entre os animais vacinados.

Tabela 4 – Imunidade humoral e celular¹, avaliados pelo teste de ELISA, expressa em Densidade óptica (D.O) e Índice de Proliferação Celular (I.P.C.) em aves aos 42 dias de idade.

Óleos	D.O. (M ± SD)		I.P.C. (M ± SD)	
Linhaça	0,174 ± 0,173		0,549 ± 0,497	
Sardinha	0,162 ± 0,142		0,851 ± 0,636	
Soja	0,484 ± 0,374		0,878 ± 0,723	
Situação V.				
Vacinados	0,402 ± 0,351		1,293 ± 0,496 ^c	
Não Vac.	0,145 ± 0,106		0,352 ± 0,328 ^d	
C.V (%)	73,44		54,00	
ANOVA		Pr > F		
Óleos (O)	0,0019		0,3607	
Situação V.(SV)	0,0018		<.0001	
O x SV	0,0673		0,4680	

¹Valores médios das amostras e seus respectivos desvio-padrão. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t (P<0,05). Situação V. – Situação vacinal; Média - M ; Desvio Padrão da Média – SD

Tabela 5 – Desdobramento da interação óleo x situação vacinal na imunidade humoral¹, avaliado pelo teste de ELISA, expressa em Densidade óptica (D.O) em aves aos 42 dias de idade (Média - M - e Desvio Padrão da Média – SD)

Óleo	D.O. (M ± SD)	
	Vacinado	Não Vacinado
Linhaça	0,249 ± 0,216 ^{bA}	0,100 ± 0,081 ^{aA}
Sardinha	0,218 ± 0,177 ^{bA}	0,106 ± 0,081 ^{aA}
Soja	0,740 ± 0,372 ^{aB}	0,228 ± 0,113 ^{aA}

¹Valores Médios das amostras e seus respectivos desvio-padrão. Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t (P>0,05).

5 DISCUSSÃO

Os tipos de óleo adicionados a ração não influenciaram as variáveis de desempenho ganho de peso e peso vivo em nenhum dos períodos testados. Alguns trabalhos relataram resultados semelhantes. Segundo Korver et al. (1998), nenhuma diferença no ganho de peso corporal foi relatado em frangos de corte alimentados com ração contendo 7% de óleo de peixe, óleo de milho ou óleo de girassol antes e após as aves serem submetidas a um desafio antigênico. Puthongsiriporn e Scheideler (2005), testando a influência dos ácidos linoléico (óleo de milho) e linolênico (óleo de linhaça) sobre o ganho de peso e consumo da ração em frangos, não evidenciaram diferença significativa em seus resultados. Por outro lado Parmentier et al. (1997), ao avaliar a influência dos ácidos linoléico e alfa-linolênico no desempenho de três diferentes linhagens de aves de postura verificaram que a linhagem H apresentou durante as três primeiras semanas de vida um reduzido peso corporal e conseqüente perda de ganho de peso quando submetidas a dieta enriquecida com ácido alfa-linolênico.

O consumo alimentar das aves durante os primeiros 21 dias não variou significativamente entre os tratamentos utilizados. Até os 35 dias de idade as aves vacinadas ingeriram uma maior quantidade de ração quando comparadas às não vacinadas. Observou-se que durante este mesmo período, apesar da maior ingestão de ração pelas aves vacinadas, a conversão alimentar destes animais foi pior. Segundo Klasing e Johnstone (1991) a estimulação do sistema imune resulta na produção de uma série de citocinas que podem influenciar no aumento da utilização de energia coincidindo, inclusive com a fase de crescimento das aves, o que resultaria em uma maior ingestão de alimentos. Na última avaliação, aos 42 dias, foi constatado que as aves suplementadas com óleo de sardinha apresentaram maior consumo de ração em relação aos demais grupos. Estes resultados diferem nas pesquisas de outros autores (NAVIDSHAD, 2009; PITA, 2007). De acordo com Hulan et al. (1988), o baixo

consumo das rações a base de óleo de peixe pode ser atribuído a baixa palatabilidade, mas assim como López-Ferrer et al. (2001), no presente trabalho não se verificou nenhum problema de palatabilidade como resultado da suplementação da ração com óleo de peixe. O consumo de ração a base de óleo de soja e óleo de linhaça não diferiu ($P>0,05$) em nenhum dos períodos avaliados, resultado semelhante foi relatado por Almeida et al. (2009).

Os resultados médios de conversão alimentar até os 21 e até os 42 dias de idade indicaram aumento desta variável quando as aves foram suplementadas com mais de 4% de óleo de soja. Segundo Nayebpor et al. (2007), a utilização deste óleo na ração na concentração de 2% pode levar a uma pior conversão alimentar das aves, mas quando esta quantidade aumenta para 4% até 6% não se verifica diferença significativa do desempenho das aves.

Alguns trabalhos reportaram uma diminuição do desempenho, tanto de frangos de corte como de galinhas poedeiras, associada ao consumo de linhaça (ALLEN et al., 1997; LEESON et al., 2000). Klosterman et al., em 1967, avaliando a farinha de linhaça, apontaram para a presença de uma substância denominada de linatina, que prejudica a ação da piridoxina no organismo da ave, provocando sintomas de deficiência dessa vitamina, como diminuição de apetite e atraso de crescimento (PESTI et al., 2005). Os resultados encontrados no presente estudo não indicam a presença ou o efeito desse fator antinutricional no óleo de linhaça.

Segundo Almeida (2007), a dieta pode interferir também nos parâmetros de desempenho devido a alterações organolépticas na ração. Embora os óleos de linhaça e sardinha tenham propriedades organolépticas marcantes e distintas, os resultados não confirmam essa possibilidade, uma vez que a influência do tipo de óleo nos parâmetros de desempenho não foi relevante.

Na avaliação da resposta imunológica dos frangos a um desafio antigênico, observou-se um considerável aumento da resposta humoral ($P<0,05$) nas aves vacinadas alimentadas com ração contendo óleo de soja, ao

contrário dos animais que receberam óleo de linhaça ou sardinha (Tabela 3). Resultados semelhantes foram relatados por Parmentier et al. (1997) e Murakami et al. (2008), que ao incluir 7% de óleo de linhaça na dieta de frangos de corte, verificaram diminuição da produção de anticorpos contra desafiantes imunológicos específicos, e por Wang et al. (2000), que ao incluir 5% de óleo de linhaça na alimentação de frangos não observaram aumento na síntese de IgG por linfócitos no baço. Por outro lado, Puthongsiriporn e Scheideler (2005), avaliando os efeitos de diferentes proporções de óleo de linhaça e óleo de milho na ração de aves de postura Hy-line W-36 submetidas a diferentes programas de vacinação, verificaram aumento da resposta humoral das poedeiras após a vacinação contra doença de Newcastle, ao aumentar a quantidade de óleo de linhaça na dieta. Tal diferença pode estar associado a fatores genéticos das aves, já que linhagens diferentes foram utilizadas nesses experimentos.

A resposta linfoproliferativa de células T ao mitógeno fitohemoaglutinina foi maior entre as aves vacinadas. Não houve diferença significativa entre os animais testados com óleo de soja, sardinha ou linhaça, ou seja, o óleo utilizado não influenciou a sinalização de receptores de células T, sua ativação ou proliferação. Resultados similares foram relatados por Puthongsiriporn e Scheideler (2005) que avaliaram a resposta linfoproliferativa de frangos alimentados com diferentes proporções de ácido linoléico e ácido linolênico. Wang et al. (2000) compararam diferentes dietas ricas em PUFA n-3 e n-6, em frangos com idade de quatro e oito semanas, e também não verificaram diferença significativa na proliferação de células estimuladas pelo mitógeno fitohemoaglutinina.

CONCLUSÃO

A inclusão de ácidos graxos da série ômega-3 na ração de frangos de corte alterou o desempenho produtivo das aves. Os melhores valores de conversão alimentar ficaram entre as aves suplementadas com óleo de linhaça.

A utilização do óleo de soja nas rações de frango de corte indicaram não ser a melhor escolha quando avaliamos a conversão alimentar das aves. Quando os frangos de corte foram submetidos a vacinação e alimentados com ração a base de óleo de soja apresentaram altos valores de conversão alimentar.

A vacinação contra o vírus de Newcastle não interferiu de forma relevante no desempenho dos frangos.

A adição de fontes ricas em ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 na dieta dos frangos teve efeito negativo na resposta imune das aves, diminuindo a produção de anticorpos e suprimindo a liberação de imunoglobulinas. Já a resposta imune celular não foi influenciada significativamente pela fonte de óleo da dieta.

REFERÊNCIAS

ABBAS A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Cellular and molecular immunology. 4. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000. 553 p.

AJUYAH, A.O.; LEE, K.H.; HARDIN, R.T.; SIM, J.S. Changes in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chicks fed full-fat oil seeds. **Poultry Science**, Champaing, v.70, n.11, p.2304-2314, 1991.

ALLEN, P.C.; DANFORTH, H.; LEVANDER, O.A. Interation of dietary flaxseed with coccidia infections in chickens. **Poultry Science**, Champaing, v.76, n.6, p. 822-827, 1997.

ALMEIDA, A.P.S. **Efeito do óleo de linhaça no desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de frangos de corte**. 2007. 99f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

ALMEIDA, A.P.S.; PINTO, M.F.; POLONI, L.B.; PONSANO, E.H.G.; GARCIA NETO, M. Efeito do consumo de óleo de linhaça e de vitamina E no desempenho e nas características de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n.3, p.698-705, 2009.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; FLEMMING, J.S.; GEMAEL, A.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1983. 425 p.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 303p.

BRUE, R.N.; LATSHAW, J.D. Energy utilization by the broiler chicken as affected by various fats and fat levels. **Poultry Science**, Champaign, v.64, n.11, p.2119-2130, 1985.

BURDGE, G.C.; WOOTTON, S.A. Conversion of α -linolenic to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in Young women. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.88, n.4, p.411-420, 2002.

CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v.55, n.2, p.737-774, 1996.

CALDER, P.C. Dietary fatty acids and the immune System. **Nutrition Review**, Malden, v.56, n.1, pt.2, p.S70-S83, 1998.

CARVALHO, W.A. Mecanismo de ação das drogas antiinflamatórias não esteróides: I – Ações farmacológicas das prostaglandinas leucotrienos. **Folha Médica**, Rio de Janeiro, v.100, p.37-44, 1990.

CAUGHEY, G.E.; MANTZIORIS, E.; GIBSON, R.A.; CLELAND, L.G.; JAMES, M.J. The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.63, n.1, p.116-122, 1996.

CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, Z.; COTO, C.; SACLAKI, P.; WALDROUP, P.W. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Champaign, v.5, n.11, p. 1001-1007, 2006.

CONNOR, W.E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.71, suppl. p.171S-5S, 2000.

CRESPO, N.; ESTEVE-GARCIA, E. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.1, p.71-78, 2001.

DVORIN, A.; ZOREF, Z.; MOKADY, S.; NITSAN, Z. Nutritional aspects of hydrogenated and regular soybean oil added to diets of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.77, n.6, p.820-825, 1998.

FASCINA, V.B. **Valor energético, desempenho, lipídeos séricos e composição corporal de frangos de corte recebendo óleo de soja e sebo bovino em diferentes combinações**. 2007. 42f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

GALLAI, V.; SARCHIELLI, P.; TREQUATTRINI, A.; FRANCESCHINI, M.; FLORIDI, A.; FIRENZE, C.; ALBERTI, A.; BENEDETTO, D.D.; STRAGLIOTTO, E. Cytokine secretion and eicosanoid production in the peripheral blood mononuclear cells of MS patients undergoing dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Neuroimmunology**, Bronx, v.56, n.2, p.143-153, 1995.

GARÓFOLO, A.; PETRILLI, A.S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Revista de nutrição**, Campinas, v.18, n.5, p. 611-621, 2006.

GERTNER, L.R.S.; SANTIN, E.; SAAD, M.B. Influência da fumosina sobre a resposta imunológica de aves: revisão bibliográfica. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias Ambientais**, Curitiba, v.6, n.3, p.401-411, 2008.

HALL, J.A.; JHA, S.; SKINNER, M.M.; CHERIAN, G. Maternal dietary n-3 fatty acids alter immune cell fatty acid composition and leukotriene production in growing chicks. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Corvallis, v.76, n.1, p.19-28, 2007.

HAWKES, J.S.; JAMES, M.J.; CLELAND, L.G. Biological activity of prostaglandin E₃ with regard to edema formation in mice. **Agents Actions**, New Jersey, v.35, n.1-2, p.85-87, 1992.

HE, X.; WEYAND, C.M.; GORONZY, J.J.; ZHONG, W.; STUART, J.M. Bi-directional modulation of T cell-dependent antibody production by prostaglandin E₂. **International Immunology**, Oxford, v.14, n.1, p. 69-77, 2002.

HULAN, H.W.; ACKMAN, R.G.; RATNAYAKE, W.M.N.; PROUDFOOT, F.G. Omega-3 fatty acid levels and performance of broilers chickens fed redfish meal or redfish oil. **Canadian Journal of Animal Science**, Calgary, v.68, n.1, p. 533-547, 1988.

HULAN, H.W.; ACKMAN, R.G.; RATNAYAKE, W.M.N.; PROUDFOOT, F.G. Omega-3 fatty acid levels and general performance of commercial broilers fed practical levels of redfish meal. **Poultry Science**, Champaign, v.68, n.1, p.153-162, 1989.

JAMES, M.J.; GIBSON, R.A.; CLELAND, L.G. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.71, n.1, p.343S-348S, 2000.

JAMES, M.J.; CLELAND, L.G.; GIBSON, R.A.; HAWKES, J.S. Interaction between fish and vegetable oils in relation to rat leucocyte leukotriene production. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 121, n.5, p. 631-637, 1991.

JOLLY, C.A.; JIANG, Y.; CHAPKIN, R.S.; MCMURRAY, D.N. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 127, n.1, p.37-43, 1997.

JUNQUEIRA, O. M.; ANDREOTTI, M.O.; ARAÚJO, L.F.; DUARTE, K.F.; CANCHERINI, L.C.; RODRIGUES, E.A. Valor energético de algumas fontes lipídicas determinado com frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.6, p.2335-2339, 2005.

KELLEY, D.S.; BRANCH, L.B.; LOVE, J.E.; TAYLOR, P.C.; RIVERA, Y.M.; YACONO, J.M. Dietary α -linolenic acid and immunocompetence in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.53, n.1, p.40-46, 1991.

KLASING, K.C.; JOHNSTONE, B.J. Monokines in growth and development. **Poultry Science**, Champaign, v.70, n.8, p.1781-1789, 1991.

KLOSTERMAN, H.J.; LAMOUREUX, G.L.; PARSONS, J.L. Isolation, characterization, and synthesis of linatine. A vitamin B6 antagonist from flaxseed (*Linum usitatissimum*). **Biochemistry**, Washington, v.6, n.1, p.170-177, 1967.

KORVER, D.R.; KLASING, K.C. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses in chicks. **Journal of nutrition**, Bethesda, v.127, n.10, p.2039-2046, 1997.

KORVER, D.R.; ROURA, E.; KLASING, K.C. Effect of dietary energy level and oil source on broiler performance and response to an inflammatory challenge. **Poultry Science**, Champaign, v.77, n.8, p.1217-1227, 1998.

LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C.; AGUILAR, C.A.L.; CANÇADO, S.V.; FIUZA, M.A.; RIBEIRO, B.R.C. Efeito de fontes lipídicas sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, n.6, p. 792-798, 2005.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D.; CASTON, L.J. Response of layers to dietary flaxseed according to body weight classification at maturity. **Journal Applied Poultry Research**, Guelph, v.9, n.3, p.297-302, 2000.

LIN, E.C.C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v.46, p.765-795, 1977.

LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCCELLS, M.D.; BARROETA, A.C.; GRASHORN, M.A. N-3 enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: fish oil. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.3, P. 741-752, 2001.

MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.6, p.761-770, 2006.

MENDES, A.A.; PATRÍCIO, I.S. Controles, registros e avaliação do desempenho de frangos de corte. IN: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. **Produção de frangos de corte**. 1.ed. Campinas: Facta, 2004. 356p.

MOREIRA, A.; RODRIGUES, J.; FONSECA, J.; VAZ, M. Ácidos gordos poliinsaturados n-3 e resposta imunológica. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**, Porto, v.8, p. 237-250, 2001.

MURAKAMI, K.T.T.; PINTO, M.F.; LIMA, V.M.F. Ácidos graxos ômega-3 e imunologia de frangos de corte. **Revista Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v.15, n.2, supl.1, p.112, 2008.

MURAKAMI, K.T.T.; PINTO, M.F.; PONSANO, E.H.G. Desempenho produtivo e qualidade da carne de frangos alimentados com ração contendo óleo de linhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.4, p.401-407, 2010.

NAOUM, P.C. Citocinas e interleucinas. **Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto**, São José do Rio Preto, Nov. 2009. Disponível em:<<http://www.ciencianews.com.br/cien-news/citocinas.pdf>>. Acesso em:10 jun. 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1994. 155p.

NAVIDSHAD, B. Effects of fish oil on growth performance and carcass characteristics of broiler chicks fed a low-protein diet. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v.11, n.5, p. 635-638, 2009.

NAYEBPOR, M.; FARHOMAND, P.; HASHEMI, A. Effects of different levels of direct fed microbial (*Primalac*) on growth performance and humoral immune response in broiler chickens. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Urmia, v.6, n.11, p.1308-1313, 2007.

PADILHA, A.D.G. **Antioxidante natural de erva mate na conservação da carne de frango *in vivo***. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PARMENTIER, H.K.; NIEUWLAND, M.G.B.; BARWEGEN, M.W.; KWAKKEL, R.P.; SCHRAMA, J.W. Dietary unsaturated fatty acids affect antibody responses and growth of chickens divergently selected for humoral responses to sheep red blood cells. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.8, p.1164-1171, 1997.

PERECIN, D.; CARGNELUTTI FILHO, A. Efeitos por comparações e por experimento em interações de experimentos fatoriais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.1, p.68-72, 2008.

PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I.; DRIVER, J.P.; ATENCIO, A.; FOSTER, E.H. **Poultry nutrition and feeding**: a textbook. Victoria: Trafford, 2005. 449 p.

PITA, M.C.G. **Fontes marinhas e vegetais de PUFAs na dieta de galinhas poedeiras**: efeito na composição lipídica da gema do ovo e tempo de incorporação dos ácidos graxos. 2007. 136f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

POND, W.G.; CHURCH, D.C.; POND, K.R. **Basic animal nutrition and feeding**. 4th. ed. New York: John Wiley, 1995. 615p.

PUTHPONGSIRIPORN, U.; SCHEIDELER, S.E. Effects of dietary ratio of linoleic to linolenic acid on performance, antibody production, and in vitro lymphocyte proliferation in two strains of leghorn pullet chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.84, n.6, p.846–857, 2005.

QIU, X. Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6-4, 7, 10, 13, 16, 19): two distinct pathways. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Corvallis, v.68, n.2, p.181-186, 2003.

ROBINSON, D.R.; XU, L.; TATENO, S.; GUO, M.; COLVIN, R.B. Suppression of autoimmune disease by dietary n-3 fatty acids. **Journal of Lipid Research**, Boston, v.34, n.8, p.1435-1444, 1993.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, L.S.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.

SAS Institute Inc. **SAS OnlineDoc®**, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

SHAIKH, S.R.; EDIDIN, M. Polyunsaturated fatty acids, membrane organization, T cells, and antigen presentation. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.84, n.6, p.1277-1289, 2006.

SIJBEN, J.W.C.; NIEUWLAND, M.G.B.; KEMP, B.; PARMENTIER, H.K.; SCHRAMA, J.W. Interactions and Antigen Dependence of Dietary n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Antibody Responsiveness in Growing Layer Hens. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.7, p.885-893, 2001.

SILVA, I.C.M. **Resposta imune e desempenho de frangos de corte submetidos a variações dietéticas de vitamina e selênio**. 2009, 176f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SIMONS, K.; TOOMRE, D. Lipid rafts and signal transduction. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Dresden, v.1, n.1, p.31-41, 2000.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, London, v.233, n.6, p.674-688, 2008.

SIMOPOULOS, A.P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, Stanford, v.21, n.6, p.495-505, 2002.

SIMOPOULOS, A.P. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Reviews International**, New York, v.20, n.1, p.77-90, 2004.

TAMEHIRO, C.Y. **Efeito da vitamina E na resposta imune humoral e celular de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japônica*)**. 2006. 64f. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução**, 5. ed. São Paulo: Rocca, 1998. 545 p.

VAZ, J.S.; DEBONI, F.; AZEVEDO, M.J.; GROSS, J.L.; ZELMANOVITZ, T. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gordura. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n.4, p.489-500, 2006.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v.19, n.4, p.400-407, 1996.

VILLAVERDE, C. **Interaction between dietary polyunsaturated fatty acids and vitamin E in body lipid composition and α -tocopherol content of broiler**

chickens. 2005. 154f. Tese (Doutorado) – Universitat Autònoma de Barcelona Facultat de Veterinària, Bellaterra, 2005.

VOGT, L.K. **Avaliação da imunocompetência e alternativas para a modulação nutricional de frangos de corte**. 2005. 111f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

WANG, Y.W.; FIELD, C.J.; SIM, J.S. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.79, n.12, p.1741-1748, 2000.

YAQOOB, P. Fatty acids and the immune system: from basic science to clinical applications. **Proceedings of the Nutrition Society**, Maastricht, v.63, n.1, p.89-104, 2004.

YUDDIM, K.A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J.A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Galveston, v.18, n.4-5, p.383-399, 2000.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1992.

ZUANAZE, M.A.F. **Sistema imune das aves (parte II)**. 2003. Disponível em: <http://www.biovet.com.br/site/start/downloads/7054_info_tec_12.pdf>. Acesso em: 30 maio 2010.