

**Karynne Luana Chaves de Paula**

**FONTES DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E ÁCIDO LÁURICO  
INOCULADOS *IN OVO* DE CODORNAS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Regina Freitas Pinheiro

**Diamantina  
2019**

**ELABORADO COM OS DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A).**

P324f Paula, Karynne Luana Chaves.  
Fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico inoculados in ovo de codornas de corte / Karynne Luana Chaves Paula, 2019.  
124 p.

Orientadora: Sandra Regina Freitas Pinheiro

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Codornas. 2. Ovos. 3. Ácidos graxos essenciais. 4. Sistema imunológico. I. Pinheiro, Sandra Regina Freitas. II. Título. III.

Karynne Luana Chaves de Paula

FONTES DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E ÁCIDO LÁURICO INOCULADOS *IN*  
OVO DE CODORNAS DE CORTE

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Freitas Pinheiro

Data de aprovação 28 / 02 / 2019.

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Freitas Pinheiro

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM Campus JK  
Diamantina-MG

---

Prof. Dr. Lucas Lima Verardo

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM Campus JK  
Diamantina-MG

---

Prof. Dr. Adriano Geraldo

Instituto Federal de Minas Gerais – IFMG Campus Bambuí-MG

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Marinês de Castro

Unidade Central De Educação Faem Faculdade – UCEFF Chapecó-SC

Diamantina

2019



## DEDICATÓRIA

*À minha fonte de inoculação in Alma:  
Edna Maria Chaves de Paula,  
Dedico.*



## AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre me esperou com braços abertos e saudosos, nas minhas visitas em Bambuí, minha cidade. Com todo meu amor este agradecimento inicial, em destaque à minha mãe Edna Maria, por mesmo sem fazer ideia alguma do que é Zootecnia e muito menos um mestrado acadêmico, sempre acreditou que eu, por meio dos estudos, estava no caminho certo, me apoiando, socorrendo nos apertos, me ligando todos os dias, orando e torcendo por mim.

À Deus, pela presença onipotente, até mesmo quando eu não soube senti-lo.

À minha orientadora, professora Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Freitas Pinheiro. À ela, minha gratidão pela acolhida confortante, confiança, força e paz transmitida nos momentos tempestuosos e pela amizade sincera e ensinamentos, que serão sempre lembrados no decorrer da minha contínua marcha acadêmica e, sobretudo, na caminhada da vida.

Aos meus “escolhas certas”, Florence Dalila Peres e Jean Kaíque Valentim, que sempre me apoiaram no que sabemos fazer de melhor: escolhas erradas, e por tornarem a minha experiência em Diamantina ainda mais valiosa. Ao amigo Marco Antônio Faria, pela saudosa mania de ser lavadeira que perdeu o sabão em meus ouvidos, durante nossa maravilhosa fase dividindo apartamento.

Aos meus dois pedacinhos de IFMG–Bambuí, Diogo Alvarenga pelo desequilíbrio amoroso e por ter sido o melhor estagiário de todos os tempos e a Laryssa Alice, pela aventura em Diamantina e a participação singular na minha vida bem durante o auge das atividades do meu mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio da concessão da bolsa, pela colaboração na minha formação e na vida de milhares de estudantes pelo país afora, possibilitando o sequenciamento da pesquisa científica no Brasil.

À querida colombiana mais abasileirada do Brasil, Diana Mayuri Correa Castiblanco, que foi peça fundamental para a concretização da minha pesquisa. À sagaz Andressa Silva Santos, pelo companheirismo e ajuda, e por dividir as alegrias e os momentos de aperto.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhona e Mucurí (UFVJM), instalado no Departamento de Zootecnia (DZO), por ser o instrumento físico e burocrático para a realização deste curso, em particular à Elizangela pela prestatividade, carisma e tamanha eficiência na secretaria.

Aos professores do PPG-Zoo, por terem contribuído para a minha formação intelectual, ao grupo de melhoramento genético, na pessoa da Val, pelos ensinamentos no

galpão de cotornicultura e à toda a equipe de serviços gerais do DZO, pela simpatia e alegria espalhada nos várias bons dias trocados, mesmo quando eu chegava passando pelo piso branco num dia de faxina.

À granja Fujikura pela doação dos ovos férteis de codornas, essenciais para a condução dos trabalhos. Ao pós doutorando Felipe, ao amigo Vinícios Emanuel e aos amigos da Andressa que peguei emprestado, em que tais figuras chegaram na hora certa para contribuir em suas melhores maneiras durante as análises.

Ao melhor casal de farmacêuticos da UFVJM, professora Valéria e o técnico Tiago pela ajuda singular com as análises bioquímicas, agradecimentos estes, estendidos ao professor Wagner pela disponibilização do LabImuno e a professora Elizabeth, que tornou possível o uso do equipamento, salvando e dando luz ao que era pra ser um agosto sombrio.

À turma dos “bastidores”, seu Zezinho, Júlio, Geraldo e demais envolvidos, que sempre se dispuseram a ajudar e/ou socorrer frente aos obstáculos, do mais simples como trocar uma lâmpada até a necessidade de tamanha força física para transportar um saco de ração.

À melhor república de Diamantina, Vila 51, que foi a minha família na reta final do mestrado e me proporcionou a fantástica experiência de compartilhar o teto com pessoas “desconhecidas”, e, ao mesmo tempo, trazendo em si histórias em comum, nessa jornada acadêmica de nossas buscas por ideais e realizações profissionais.

Por fim, e não menos importante, a prefeitura de Diamantina por procionar o projeto “Esporte na praça”, do qual usufrui por vários meses, aos colegas da Zumba espalhados pelos bairros diamantinenses que passei e ao PRANEX (Projeto de Reeducação Alimentar e Nutricional associado ao Exercício Físico) da UFVJM que me assistiu gratuitamente para um novo estilo de vida, fazendo com que eu eliminasse alguns quilinhos e me incentivando para uma vida mais saudável, em meio as atribulações da labuta diária da vida de estudante.

## EPÍGRAFE

*“Well, now I get low and I get high,  
and when I can't get either, I really try...*

*...I'm Stayin' Alive!”*

(BEE GEE'S, 1977)



## RESUMO

A nutrição *in ovo* consiste numa técnica de fornecimento de nutrientes de forma precoce, visando a suplementação de nutrientes, como alguns ácidos graxos que desempenham papéis importantes na saúde das aves. Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da inoculação *in ovo* de duas fontes de ácidos graxos, sendo o ácido linoleico conjugado (CLA) e o ácido láurico (AL), respectivamente, sobre as propriedades imunológicas, de desempenho zootécnico e de características de carcaça de codornas de corte de 1 aos 35 dias de idade. Foram incubados 839 ovos férteis de codornas, distribuídos em delineamento inteiramente casualizados, em seis tratamentos e seis repetições contendo dez codornas por parcela. Utilizou-se óleo de milho para diluição do CLA e AL. Os tratamentos experimentais foram: T1: Tratamento controle, composto de ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluidor, óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50mL OM; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50mL OM. Ao 7º dia de incubação, os ovos foram inoculados com 0,05 mL do suplemento de acordo com os tratamentos propostos. Após o nascimento, as aves foram alojadas em gaiolas e manejadas sob desafio sanitário até os 35 dias, recebendo rações seguindo as recomendações de cada fase. O desempenho zootécnico foi avaliado por meio do consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. Aos 35 dias avaliou-se as características de carcaça (peso absoluto de coração, moela, peito e de coxa+sobrecoxa). Aos 21 e 35 dias de idade, averigou-se o peso absoluto dos órgãos (timo, baço, bursa de Fabrícus e fígado) e do perfil bioquímico sanguíneo por meio da alanina-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST), colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídes. As inoculações nos ovos não interferiram na eclodibilidade e o peso do pinto ao nascer, entretanto, a técnica de manejo *in ovo* pode incidir no percentual de nascimento, independente da substância inoculada. Aos 21 dias, não houve efeito significativo para as variáveis analisadas, exceto para teor de colesterol total no sangue das aves. Para a fase final observou-se efeito significativo para peso da moela, teores de colesterol total e AST no sangue. As suplementações de CLA *in ovos* reduziram o teor de colesterol total, enquanto o AL esteve relacionado com um aumento. As inoculações com CLA e AL *in ovo*, nos níveis mais baixos de inserção, reduziram os teores de AST no sangue das codornas aos 35 dias, em comparação ao tratamento controle e aos ovos inoculados com o diluente (T2).

**Palavras chave:** Ácidos graxos essenciais. Nutrição imune. Sistema imunológico.



## ABSTRACT

In ovo nutrition is an early nutrient delivery technique for nutrient supplementation, such as some fatty acids that play important roles in bird health. The objective of this study was to evaluate the effects of in ovo inoculation of two sources of fatty acids, with conjugated linoleic acid (CLA) and lauric acid (LA), respectively, on the immunological properties, zootechnical performance and carcass characteristics of quail from 1 to 35 days of age. A total of 839 fertile quail eggs were distributed in a completely randomized design in six treatments and six replicates containing ten quails per plot. Corn oil was used for dilution of CLA and AL. The experimental treatments were: T1: Control treatments, composed by whole eggs; T2: Eggs inoculated with diluent, corn oil (CO); T3: Eggs inoculated with CLA 120 mg/50mL CO; T4: Eggs inoculated with CLA 240 mg/50mL CO; T5: Eggs inoculated with LA 60 mg/50 mL CO and T6: Eggs inoculated with LA 90 mg/50 mL CO. At the 7th day of incubation, the eggs were inoculated with 0.05 mL of the supplement according to the proposed treatments. After birth, the birds were housed in cages and managed under sanitary challenge until the 35 days, receiving rations following the recommendations of each phase. The zootechnical performance was evaluated through feed intake, weight gain and feed conversion. At 35 days the carcass characteristics (absolute weight of heart, gizzard, chest and thigh + overcoat) were evaluated. The absolute weight of the organs (thymus, spleen, bursa of Fabricius and liver) and the blood biochemical profile were determined by means of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), cholesterol total, high density lipoprotein (HDL) and triglycerides. Egg inoculations did not interfere with hatchability and chick weight at birth, however, the in ovo management technique may affect the percentage of birth, regardless of the inoculated substance. At 21 days, there was no significant effect for the analyzed variables, except for total cholesterol content in the birds' blood. For the final phase, a significant effect was observed for gizzard weight, total cholesterol and AST levels in the blood. Supplementation of CLA in eggs reduced total cholesterol content, while LA supplementation was associated with increased CLA and LA in ovo inoculations at lower insertion levels reduced AST levels in quail blood at 35 days, in comparison to the control treatment and to the eggs inoculated with the diluent (T2).

**Keywords:** Essential fatty acid. Immune nutrition. Immunological system.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Estágios de desenvolvimento do embrião de codorna de corte na avaliação de embriodiagnóstico durante a incubação .....66
- Figura 2.** Gráfico de percentual de eclodibilidade dos ovos férteis incubados .....69



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1.** Levantamento de importantes estudos da administração de nutrientes *in ovo*.....31

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1.** Embriodiagnóstico e porcentagem de eclodibilidade de ovos de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico.....68

**Tabela 2.** Médias e desvios padrão para peso do ovo e peso do pinto ao nascer de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico e rendimento de pinto ao nascer.....71

**Tabela 3.** Médias e desvios padrão do consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico, de 1 a 21 dias de idade.....72

**Tabela 4.** Médias e desvios padrão para consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico em codornas de corte, de 22 a 35 dias de idade .....74

**Tabela 5.** Médias e desvios padrão para peso vivo (PV), peso absoluto de peito (PP) e peso absoluto de coxa+sobrecoxa (PCX+SB) de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico em codornas de corte, aos 35 dias de idade.....75

**Tabela 6.** Médias e desvios padrão do peso absoluto de órgãos metabolicamente ativos de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes ácido linoleico conjugado e ácido láurico, aos 21 e aos 35 dias de idade.....76

**Tabela 7.** Teste F de contrastes ortogonais do peso médio da moela de codornas de corte aos 35 dias, suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico.....77

### CAPÍTULO 3

**Tabela 1.** Médias de pesos absolutos e desvios padrão dos órgãos ligados ao sistema imunológico de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico em codornas de corte de aos 21 dias de idade.....93

**Tabela 2.** Médias de pesos absolutos e desvios padrão dos órgãos ligados ao sistema imunológico de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico em codornas de corte de aos 35 dias de idade.....94

## CAPÍTULO 4

**Tabela 1.** Perfil sérico bioquímico de codornas de corte aos 21 e 35 dias de idade, que foram suplementadas *in ovo* com fontes ácido linoleico conjugado e ácido láurico.....112

**Tabela 2.** Teste F de contrastes ortogonais do colesterol total e AST do soro de codornas de corte aos 35 dias de idades, que foram suplementadas *in ovo* com fontes ácido linoleico conjugado e ácido láurico.....114

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido graxo
AGCM	Ácido graxo de cadeia média
AL	Ácido Láurico
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CHO's	Carboidratos
CLA	<i>Conjugated Linoleic Acid</i>
Dm/l	Miligramas por decilitro
HDL	<i>High Density Lipoproteins</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor 1</i>
mg	Miligrama
UI/l	Unidade Internacional po Litro
PPAR- $\alpha$	Receptor ativado por proliferador de peroxissomo alfa



## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>21</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Coturnicultura no Brasil .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1.1 Alguns desafios e perspectivas na produção de codornas de corte .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2 Ácidos graxos na nutrição das aves.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.1 Ácido linoleico conjugado .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.2 Ácido láurico .....</b>	<b>28</b>
<b>2.3 Nutrição <i>in ovo</i> .....</b>	<b>29</b>
<b>2.4 Papel dos nutrientes no desenvolvimento embrionário e pós eclosão .....</b>	<b>33</b>
<b>2.5 Conceito e aplicação da nutrição imune .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6 Desenvolvimento do sistema imunológico.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.1 Alguns órgãos linfóides das aves .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6.1.1 Timo .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6.1.2 Baço .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6.1.3 Bursa de Fabricius .....</b>	<b>38</b>
<b>2.6.2 Órgão associado .....</b>	<b>38</b>
<b>2.6.2.1 Fígado .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7 Bioquímica sérica das aves.....</b>	<b>39</b>
<b>2.7.1 Parâmetros bioquímicos avaliados .....</b>	<b>40</b>
<b>2.7.1.1 Aspartato aminotransferase (AST).....</b>	<b>40</b>
<b>2.7.1.2 Alanina aminotransferase (ALT) .....</b>	<b>41</b>
<b>2.7.1.3 Triglicérides.....</b>	<b>41</b>
<b>2.7.1.4 Colesterol total .....</b>	<b>42</b>
<b>2.7.1.5 Lipoproteína de alta densidade - HDL .....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

<b>CAPÍTULO 2 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CARCAÇA DE CODORNAS EUROPEIAS SUPLEMENTADAS <i>IN OVO</i> COM FONTES DE ÁCIDO LINOÉLICO CONJUGADO E ÁCIDO LAURICO .....</b>	<b>59</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>64</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>78</b>

REFERÊNCIAS .....	79
-------------------	----

### **CAPÍTULO 3 – ÓRGÃOS LINFOIDES DE CODORNAS DE CORTE**

#### **SUPLEMENTADAS *IN OVO* COM FONTES ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E**

<b>ÁCIDO LÁURICO .....</b>	<b>85</b>
----------------------------	-----------

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>89</b>
---------------------------	-----------

<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>90</b>
------------------------------------	-----------

<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>93</b>
---------------------------------------	-----------

<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>96</b>
---------------------------	-----------

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>97</b>
--------------------------	-----------

### **CAPÍTULO 4 – PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO DE CODORNAS DE CORTE**

#### **SUPLEMENTADAS *IN OVO* COM FONTES DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO**

<b>E ÁCIDO LÁURICO .....</b>	<b>103</b>
------------------------------	------------

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>107</b>
---------------------------	------------

<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>108</b>
------------------------------------	------------

<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>111</b>
---------------------------------------	------------

<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>117</b>
---------------------------	------------

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>118</b>
--------------------------	------------

<b>ANEXOS .....</b>	<b>122</b>
---------------------	------------

## CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

### 1. INTRODUÇÃO

A criação de codornas de corte no Brasil é uma das atividades do setor avícola e tem ganhado espaço ao longo dos anos com a abertura de novos mercados, sendo bastante apreciada em nichos específicos de demanda, deixando de ser apenas uma criação de subsistência.

O desenvolvimento da coturnicultura de corte esbarra na escassez de informações no manejo como um todo, principalmente nas áreas de sanidade e nutrição. Tal fato dificulta a consolidação dos sistemas de criação e favorece o aumento no custo de produção desta espécie, como por exemplo, o fornecimento de rações que não se adéquam às reais exigências dessas aves.

Em função disso, é comum que a produção de codornas de corte seja associada ao modo empírico de criação, baseado nas informações disponíveis sobre codornas de postura da linhagem japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), conforme abordado por Almeida *et al.* (2002), que enfatiza a carência de mais pesquisas que envolvam o manejo como um todo, permitindo melhores resultados.

Neste sentido, as deficiências imunitárias das aves e os constantes desafios ligados à sanidade, encontrados nos sistemas produtivos, são preocupações diárias na produção das aves domésticas. Alimentação precisa é, por sua vez, uma ferramenta essencial nesse processo, sendo o fornecimento de dietas balanceadas, um dos pilares mais relevantes no estado físico da codorna para se obter um crescimento normal e otimizar a produção de ovos e/ou carne.

Estudos recentes tem investigado a interação dos nutrientes com atividades específicas e de suma importância no organismo, como a ação das células imonológicas. Por sua vasta complexidade, o sistema imunológico carece de uma gama de nutrientes de caráter essencial para que sua atividade seja eficiente, sendo que a suplementação nutricional pode ser, ainda, um campo promissor para exploração do potencial nutritivo sob as particularidades das ações imune no animal.

Dentre os nutrientes necessários para o desenvolvimento das aves, destacam-se os lipídeos que são fontes de ácidos graxos, os quais atuam em diversas funções metabólicas do organismo. As adequações dos nutrientes, como os ácidos graxos para aves, podem ocorrer de forma tradicional via dieta fornecida e formulada de acordo com as recomendações para cada fase do animal, adicionando fontes lipídicas ricas em ácidos graxos, advindo de óleos de origem vegetal e/ou gordura animal.

Entretanto, uma ferramenta de manejo relativamente recente, chamada de nutrição *in ovo*, trabalha a inserção e/ou suplementação de nutrientes no manejo alimentar para as aves de interesse zootécnico, visando unir o manejo sanitário e o nutricional, de forma precoce. A nutrição *in ovo* tem como propósito principal a oferta de nutrientes extras durante a formação embrionária da ave, com o intuito de corrigir possíveis carências nutricionais e proporcionar assim, benefícios para as aves ao nascer.

Diante deste cenário, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da inoculação *in ovo* do ácido linoleico conjugado (CLA) e do ácido láurico (AL), sobre as propriedades imunológicas, de desempenho zootécnico e de características de carcaça de codornas de corte de 1 aos 35 dias de idade.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Coturnicultura no Brasil**

Recebendo o nome de “coturnicultura”, a criação de codornas compõe o ramo das atividades avícolas a nível mundial há dezenas de anos. Segundo revisto por Pastore *et al.* (2012), atraídos inicialmente por suas características etológicas, as codornas foram introduzidas no Brasil em 1959, pelos imigrantes italianos e japoneses, e só a partir de 1963, o consumo dos ovos ganhou espaço.

A produção de ovos é destacada pelas codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), apresentando peso médio de 115 g ao 42º dia de vida, início da vida produtiva. Já a produção de carne está mais relacionada com as codornas européias (*Coturnix coturnix coturnix*) que demonstram precocidade quando comparadas com as japônicas, atingindo peso médio de 280 g aos 42 dias (CAVALCANTE *et al.*, 2010).

A produção de codornas no país é mais expressiva quando se fala de produção de ovos e concentra-se mais expoente nos polos centrais do Brasil. Os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2012) apontavam os estados de Minas Gerais e São Paulo como os maiores centros produtores de codornas. Desde então a produção das aves na região Sudeste continuou crescendo nos últimos anos, em que no ano de 2017, registrado por meio da Pesquisa da Pecuária Municipal, a concentração nesta região alcançou 96,75 milhões de animais, representando 62,5% do efetivo nacional. No setor de postura, os números são ainda maiores no sudeste, 190,49 milhões de dúzias, com 65,5% da produção nacional de ovos de codornas (IBGE, 2017).

Por apresentar rusticidade, possuir porte pequeno, ser de fácil manejo e ter boa adaptabilidade aos sistemas de criação, a coturnicultura pode requerer menos mão de obra, demandando pouco espaço e investimento para implementação inicial da atividade produtiva (BARRETO *et al.*, 2007).

Os ovos de codornas são bem aceitos e procurados pelo mercado consumidor entre crianças, jovens e adultos, tanto em conserva quanto *in natura*, estimulando a produção constante, ao passo que a apreciação da carne vem conquistando espaço vagarosamente, por esbarrar na questão sociocultural (BERTECHINI, 2010).

### **2.1.1 Alguns desafios e perspectivas na produção de codornas de corte**

Ao longo dos últimos anos pode-se verificar em diversos trabalhos, a busca por melhores alternativas e tecnologias voltadas para o desenvolvimento da produção de codornas no Brasil, com pesquisas voltadas principalmente para a genética, nutrição e manejo das codornas. Mas a importância de estudos relacionados à coturnicultura não apresenta como base somente o interesse na codorna como animal modelo experimental, mas, também, como fonte alternativa e sustentável de alimento humano (KAYANG *et al.*, 2006).

Em 2002, Minvielle & Oguz já mencionavam que o emprego do melhoramento genético das aves para a produção de ovos com melhores valores nutricionais, qualidade e redução em colesterol estavam em desenvolvimento há muitos anos, sendo o primeiro relato abordado por Wilhelmson (1975), explorando parâmetros genéticos e composição dos ovos de codornas japonesas, ao passo que seleção para ganho de peso nas primeiras semanas de vida também tem sido estudado (AGGREY *et al.*, 2003).

Silva *et al.* (2012), abordaram a importância dos avanços na nutrição para estes animais, apontando as contribuições para o conhecimento das exigências nutricionais e suas consequências positivas na produção de fórmulas de dietas objetivando menores investimentos, ao mesmo tempo que se atende as necessidades nutritivas particulares da espécie e sua aptidão.

A qualidade da carne de codorna é reconhecida desde os povos mais antigos, por seu alto conteúdo em proteínas e por sua escassa infiltração de gordura, em que, aliada a rapidez do ciclo de crescimento, resulta numa carne muito tenra, de preparação gastronômica prática e de padrão superior (DALMAU, 2002). Contudo, a codorna como fonte de proteína na alimentação humana ainda está longe de configurar cenários produtivos consistentes.

Como abordado por Pastore *et al.* (2012), a utilização da codorna como ave fornecedora de carne para o mercado consumidor, normalmente provém de fêmeas de postura

após o fim de seus ciclos produtivos, sendo comum a presença de animais com idade avançada, não apresentando padrão para abate, e por consequência, gerando carcaça de pior qualidade.

Um dos grandes desafios é melhorar os índices produtivos ainda nas fases que antecedem a criação propriamente dita, como no incubatório. Nessa fase, as variáveis externas ligadas ao ambiente geram imprecisões no manejo. Pedroso *et al.* (2006), investigaram o desenvolvimento embrionário e a eclodibilidade de ovos de codornas, armazenados por diferentes períodos e incubados em umidades e temperaturas distintas, e observaram resultados em que houve a aceleração no desenvolvimento embrionário. De forma semelhante, Leandro *et al.* (2000), verificaram que a temperatura interfere na velocidade de desenvolvimento do embrião.

Vários fatores precisam ser melhor elucidados na incubação de ovos de codornas, principalmente porque influenciam diretamente no desenvolvimento embrionário. Contaminação causada por deficiências no processo do manejo nas granjas matrizeiras, na manipulação e seleção dos ovos, nos procedimentos de limpeza no incubatório e no armazenamento dos ovos férteis por tempo prolongado, são problemas corriqueiros (MAULDIN, 2001).

Para um detalhamento da fase embrionária em que ocorreu a mortalidade é necessário visualizar o ovo internamente, sendo essa técnica conhecida como embriodiagnóstico (GALINDO & LISETTE, 2005), prática pouco registrada na literatura, no manejo de incubação de ovos de codornas.

Segundo Martin (2003), fazer o diagnóstico dos problemas em torno da eclodibilidade é o principal instrumento de sucesso de um incubatório, uma vez que a avaliação da produtividade terá influência direta sob a porcentagem de nascidos. O autor enfatiza ainda, que realizar o embriodiagnóstico na rotina do incubatório, se mostra uma ferramenta importante para estabelecer as causas das perdas.

## **2.2 Ácidos graxos na nutrição das aves**

Os ácidos graxos presentes na composição da carcaça de animais monogástricos são reflexos do que é ofertado na dieta, sendo que ao serem ingeridos, passam pelo sistema digestório quase que sem alteração em sua composição (RULE *et al.*, 1995). Assim, enriquecer a alimentação com ácidos graxos de nosso interesse pode acarretar mudança no perfil lipídico destes animais (LAWRENCE & FOWLER, 1997).

O saco vitelínico, presente nos embriões das aves, é de fundamental importância, pois possui o material nutritivo que irá viabilizar o desenvolvimento do embrião, sendo fonte de vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos e energia. Segundo Powell *et al.* (2004), os lipídios são nutrientes considerados como maiores fontes de energia para os embriões das aves, e tal nutriente corresponde a cerca de 35% do volume inicial em energia que é consumido antes do nascimento.

Na última semana do período de incubação, uma grande quantidade relativa de material lipídico é usada para o desenvolvimento do embrião de galinhas (NOBLE & COCCHI, 1990), mas outra considerável proporção, permanece ao nascer e é utilizada até o quinto dia após o nascimento. Nesses cinco dias, os pintos obtêm os lipídios da gema via lipoproteína (LATOURET *et al.*, 1995).

O ácido linoleico deve estar presente na gema do ovo fértil para que pintos de qualidade sejam produzidos (GUSTIN, 2002). Latour *et al.* (1998), apontaram que o saco vitelino envolto ao embrião pode conter aproximadamente 14% de ácido linoleico, sendo que este valor pode representar em uma matriz jovem, 160 mg do conteúdo de seu ovo.

Nutrientes específicos podem favorecer a microbiota, a manutenção da integridade intestinal e atuar como substratos necessários para garantir a resposta imunológica satisfatória da ave (KLASING, 1998).

Dentre estes nutrientes indispensáveis ao desenvolvimento adequado da ave, destacam-se 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 necessitam e, por esse motivo, alguns são considerados essenciais, tais como o ácido linoleico (BAIÃO & LARA, 2005).

Várias pesquisas têm examinado a eficácia de diferentes ácidos graxos saturados e de cadeia curta e suas misturas sobre o desempenho, características de carcaça e a mortalidade em frangos de corte, assim como o potencial de desencadear respostas específicas.

Os ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido láurico, apresentam atividade antimicrobiana específica no intestino e tem vários efeitos benéficos adicionais como a redução do pH da digesta, aumento da secreção pancreática e efeitos tróficos sobre a mucosa gastrointestinal (DIBNER & BUTTIN, 2002).

Cave (1978), por exemplo, administrou ácidos graxos não esterificados por injeção intraperitoneal em pintinhos para verificar seus efeitos na atividade alimentar e a partir dos resultados, os relacionaram com a regulação do apetite. Em estudo similar nos anos seguintes,

porém fornecido em dietas isoenergéticas, o mesmo autor (CAVE, 1982), avaliou ácidos graxos de cadeia curta e média, utilizando ácido acético, propionico, butírico, capríco, caprílico, cáprico e láurico, notando-se uma redução no consumo com as adições dos ácidos caprílico e láurico comparado com a dieta controle com óleo de milho. Os ácidos graxos podem ser considerados como aditivos alimentares potenciais para o controle do apetite na produção avícola (CAVE, 1983).

Em codornas japonesas, a suplementação com 4% de óleo de peixe e 4% de óleo de soja promoveu aumento significativo nas concentrações de ômega-3 no saco vitelínico, entre eles, os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), em relação à suplementação em níveis semelhantes de outras fontes lipídicas, como óleo de girassol e óleo de oliva (GÜÇLÜ *et al.*, 2008).

### **2.2.1 Ácido linoleico conjugado**

O ácido linoleico conjugado (CLA) é considerado uma combinação de isômeros posicionais geométricos de ácido linoleico ácido (octadecadienóico, 18:2) e pode ser encontrado de forma natural em concentrações mais altas nos produtos alimentícios derivados de animais ruminantes (CHIN *et al.*, 1993), uma vez que estes o sintetizam.

É possível encontrar concentrações baixas de CLA em tecidos de seres humanos, porém, a origem deste ácido graxo não é bem definida na literatura, acreditando-se que no homem a formação de CLA aconteça pela autoxidação de ácidos graxos insaturados provenientes da dieta (VAN DEN BERG *et al.*, 1995).

A primeira evidência de que o CLA era capaz de afetar o sistema imune se deu com o aumento de respostas imunológicas e a redução do catabolismo imuno-mediado, estudados em pintinhos e ratos (COOK *et al.*, 1993).

Entre suas diversas funcionalidades, o CLA foi classificado como um composto anticarcinogênico, com potencial de ação sob os tumores em modelos animais, associado a redução na incidência, número e tamanho, auxiliando na susceptibilidade dos animais frente a patógenos e em consequência desviando menos energia da produção para a manutenção da defesa imunológica (HA *et al.*, 1990; IP *et al.*, 1991; GATTÁS & BRUMANO, 2005).

Yamasaki *et al.* (2000), estudando o efeito do CLA na peroxidação lipídica e alteração histológica nos tecidos do fígado de rato, relataram que a ação dos ácidos graxos linolênico e linoleico pode reverter quadros de recidivas e ações de radicais livres, pois apresentam propriedades anti-metastáticas e antiinflamatórias devido à inibição da angiogênese

e estímulo de vários componentes do sistema imunológico. Estudos usando diferentes modelos animais relacionaram o CLA a vários outros efeitos positivos que poderiam favorecer a saúde humana, incluindo a redução de aterosclerose e prevenção e tratamento do diabetes *mellitus* não dependente de insulina (SEBEDIO *et al.*, 1999).

A utilização de CLA na dieta dos animais tem o potencial de atuar na eficiência da produção animal de forma multifatorial, seja tornando o animal mais resistente contra a ação de doenças ou melhorando a qualidade final da carcaça (GATTÁS & BRUMANO, 2005).

Gattás & Brumano (2005), revisando sobre o CLA, concluíram em seus trabalhos que este ácido graxo na alimentação animal é um nutriente de destaque, ativador da lipólise, além de minimizar a lipogênese, atuando na melhora da qualidade da carcaça, diminuindo a porcentagem de gordura e conseqüentemente aumentando a proporção de carne na carcaça, além de influenciar a eficiência do sistema imune.

A suplementação de CLA na dieta para aves resulta em redução substancial da gordura acumulada no fígado e promove a incorporação de CLA nos lipídios hepáticos (BADINGA *et al.*, 2003).

Há também registros que mencionam efeitos negativos quando utilizado o CLA de forma suplementar, acarretando em danos produtivos em situações específicas. Alguns estudos demonstraram que o CLA teria uma influencia prejudicial nos ovos, como o aumento dos casos de mortalidade embrionária durante a incubação e a interferência no crescimento, quando ofertado em proporções inadequadas (AYDIN *et al.*, 1999; HERTAD *et al.*, 2000).

Além disso, o ácido linoleico conjugado, advindo da dieta, pode afetar a fluidez, permeabilidade, atividade receptora e função enzimática de biomembranas pela mudança da composição de ácidos graxos, principalmente a nível do intestino, acarretando em desordens e diminuindo o potencial de atividade dessas enzimas danificadas (MURPHY, 1990). Lee (1996), também cita que o CLA dietético tem demonstrado causar mortalidade completa em embriões de pintinho de galinhas poedeiras alimentadas com 0,5% de CLA.

Aydin e Cook (2004), ao avaliarem os efeitos da inclusão dietética do CLA nas rações para codornas de corte a partir da inclusão de óleo de canola (0,25; 0,5; 1; 2 e 3%) concluíram que o CLA tem potencial para induzir a mortalidade dos embriões e alterar a qualidade dos ovos dependendo da dose e do dia de inoculação, em que níveis mais altos resultaram em maior mortalidade embrionária.

As discussões acerca do CLA estão em fase contínua de exploração diante aos resultados já percebidos em muitos estudos. Embora os efeitos fisiológicos do CLA tenham

sido estudados, seus mecanismos de ação ainda são controversos e parecem ser dependentes da espécie animal, dose e duração dos experimentos.

### 2.2.2 Ácido láurico

O ácido láurico (ácido dodecanóico) é um ácido graxo saturado (C12:0) que ocorre extensivamente nas gorduras de sementes da família de plantas *Lauraceae*. É o ácido graxo dominante no óleo de canela (80-90%), óleo de coco (41-56%) e óleo de palma (41-55%) (GUNSTONE *et al.*, 1994).

É comum o uso de glicéridios ricos em ácido láurico na indústria alimentícia, como intensificadores de sabor ou *in natura*, por exemplo, no setor industrial como um todo, na produção de surfactantes, entre outros (EAVIS *et al.*, 1997). O óleo da semente de palmeira e o óleo de coco são as principais fontes de ácido láurico para esses usos, mas a incerteza sobre o preço do óleo de coco levou a um aumento do interesse em outras fontes de ácido láurico (GUNSTONE *et al.*, 1994).

De acordo com levantamento realizado por Neto *et al.* (2013), os ácidos graxos saturados presentes no óleo de coco são: capróico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico e esteárico e os insaturados são: oléico e linoléico, sendo o óleo de coco rico em ácido láurico, com concentração acima de 40%.

O óleo de coco, por ser rico em ácido graxo láurico, ganhou bastante destaque nos últimos anos no mercado, devido às características benéficas desse para a saúde, sendo relacionado à ação antibacteriana, antiviral e antifúngica (FIFE, 2005), contribuindo no combate de diversos microrganismos patogênicos.

Alguns trabalhos mostraram a atividade antibacteriana do ácido láurico, particularmente quando impregnada com filmes antimicrobianos (OUTTARA *et al.*, 2000; HOFFMANN *et al.*, 2001; DAWSON *et al.*, 2002). O ácido láurico também demonstra possuir atividade antifúngica, pois Rihakova *et al.* (2001), avaliando o efeito antifúngico de derivados de ácido láurico relataram sua atividade contra o *Aspergillus Níger*.

De forma semelhante, Bergsson *et al.* (2001) testaram a suscetibilidade de *Candida albicans* à vários ácidos graxos e seus monoglicerídeos e verificaram que o ácido láurico foi o mais ativo em baixas concentrações e após um longo período de incubação *in vitro* contra o fungo estudado, que é um patógeno de mamíferos.

O ácido láurico é precursor da monolaurina (PEREIRA *et al.*, 2004) que demonstra ação moduladora na proliferação de células imunes (WITCHER *et al.*, 1996) e possui atividade antimicrobiana (BERGSSON *et al.*, 2001).

Outro aspecto favorável do ácido láurico é a evidência de que ele suprime citocinas que são responsáveis pela inflamação tecidual como relatado por Sadeghi *et al.* (1999), os autores avaliaram o efeito de lipídios dietéticos com diferentes composições de ácidos graxos sobre a resposta de citocinas *in vivo* ao lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), em camundongos, e relataram que em quadros de inflamação da parede arterial, levando ao desenvolvimento de ateromas, o ácido láurico também tem efeito de supressão da inflamação.

Ding & Lilburn (1997), afirmam que a adição de óleo de coco modifica a composição dos ácidos graxos dos lipídios da gema, e que a incorporação de ácidos graxos de cadeia média, derivados do óleo de coco, em lipídios na gema da galinha é limitado, mas o que se é incorporado é prontamente utilizado pelo embrião.

### **2.3 Nutrição *in ovo***

O processo de crescimento do embrião das aves acontece diante da disponibilidade de nutrientes encontrados no ovo, no qual o desenvolvimento acelerado das atuais linhagens do mercado avícola implica em maiores necessidades metabólicas, fazendo com que a etapa advinda após a eclosão seja um momento crítico perante a busca pela eficiência produtiva (TORRE *et al.*, 1992; GONÇALVES *et al.*, 2013).

Gonçalves *et al.* (2013), apotam que para o crescimento do embrião é necessário certos substratos metabólicos, no qual o ovo assume o papel de estrutura física que permite o progresso embrionário. Entretanto, o ovo contém quantidade finita de nutrientes para que ocorra o desenvolvimento, crescimento embrionário e eclosão.

Ainda que o ovo seja considerado completo em termos nutricionais, os percentuais de aminoácidos, carboidratos, vitaminas, minerais e lipídeos, esses nutrientes podem estar aquém dos níveis desejáveis no terço final e durante a eclosão, especialmente em ave com elevado potencial de desempenho (GONÇALVES *et al.*, 2013).

Logo, muitas vezes esses nutrientes podem estar praticamente esgotados durante a eclosão, assim, a nutrição *in ovo* serve como ferramenta para superar limitações precoces do crescimento e desenvolvimento pós eclosão dos frangos de corte (FOYE *et al.*, 2006).

Os primeiros indícios da interferência de material exógeno dentro do ovo são relatados por volta da década de 80, com o intuito de expandir as técnicas de vacinação para doença de Marek, em que Sharma & Burmester (1982), foram os responsáveis pela pesquisa.

Os autores fizeram também os primeiros testes para o desenvolvimento da técnica abordando local e dia para a inoculação de acordo com o desenvolvimento embrionário, ainda sem o propósito nutritivo.

Al-Murrani (1982), foi o primeiro a estudar a melhora do peso corpóreo da ave utilizando a introdução de aminoácidos dentro do saco vitelino de embriões de galinha ao sétimo dia de incubação. No mesmo ano, pesquisas envolvendo a administração de nutrientes ainda dentro do ovo na fase de desenvolvimento embrionário são verificadas na literatura para aplicação em frango de corte (AL-MURRANI, 1982; DECUYPERE *et al.*, 1982; HARGIS *et al.*, 1989).

Desde então várias pesquisas foram desencadeadas trazendo o propósito da administração de nutrientes variados entre aminoácidos, carboidratos, ácidos graxos, minerais e vitaminas, em sua maioria com o objetivo de melhorar os índices de eclosão e ganhos produtivos. Algumas dessas pesquisas podem ser visualizadas na tabela 1.

O conceito de “nutrição *in ovo*”, também associado ao de “inoculação *in ovo*” é oriundo da tradução do inglês para o termo “*in egg feeding*” que foi instaurado de forma mais efetiva como ferramenta auxiliar do manejo nutricional no setor avícola apenas no ano de 2003 por Uni & Ferke.

O trabalho dos autores abordaram a introdução de nutrientes no ovo para nutrição precoce de embriões de linhagens comerciais de frango de corte e de perus, no período de desenvolvimento embrionário, resultando na patente registrada nos EUA no mesmo ano.

A partir de então, o conceito tomou notoriedade e tem sido instrumento de estudo de outras pesquisas que visam explorar os efeitos da nutrição suplementar *in ovo* sob vários aspectos positivos na vida pós eclosão das aves (FOYE *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2010).

**Tabela 1.** Levantamento de importantes estudos da administração de nutrientes *in ovo*

Autor(es)*	Espécies	Substância(s) inoculada(s)	Local(is) de aplicação
Al-Murrani (1982)	Frango	Aminoácidos	Gema
Decuypere <i>et al.</i> (1982)	Frango	Ácido iopanóico	Circulação alantoide
Hargis <i>et al.</i> (1989)	Frango	Hormônio do crescimento	Albúmen
Kocamis <i>et al.</i> (1989)	Frango	Hormônio do crescimento	Albúmen
Coles <i>et al.</i> (1999)	Frango	Peptídeos	Câmara de ar
McReynolds <i>et al.</i> (1999)	Frango	Aminoácidos	Líquido amniótico
Ohta e Kidd (2000)	Frango	Aminoácidos	Gema
Ohta <i>et al.</i> (2001)	Frango	Aminoácidos	Gema
Tako <i>et al.</i> (2005)	Frango	CHO's, zinco quelatado	Líquido amniótico
Bhanja <i>et al.</i> (2004)	Frango	Aminoácidos	Gema
Uni <i>et al.</i> (2005)	Frango	CHO's	Líquido amniótico
Foye (2005)	Peru	Clara de ovo, CHO's, arginina	Líquido amniótico
Moore (2005)	Peru	Clara de ovo, CHO's	Líquido amniótico
Bhanja <i>et al.</i> (2007)	Frango	Vitamina, ácido linoléico	Gema
Zhai <i>et al.</i> (2008)	Poedeira	L-carnitina	Líquido amniótico
Kadam <i>et al.</i> (2008)	Frango	L-treonina	Gema
Bhanja <i>et al.</i> (2008)	Frango	Glicose	Gema
Santos <i>et al.</i> (2010)	Frango	Maltose, multivitamínico, glicina zinco, glutamina	Líquido amniótico
Campos <i>et al.</i> (2011)	Frango	CHO's, vitaminas e minerais	Líquido amniótico
Bakayaraj <i>et al.</i> (2011)	Frango	Aminoácidos, AG, minerais e vitaminas	Câmara de ar
Al-Daraji <i>et al.</i> (2012)	Codorna	Arginina	Câmara de ar
Liu <i>et al.</i> (2012)	Pato	IGF-1	Albúmen
Nowaczewski <i>et al.</i> (2012)	Galinha, pato	Vitamina	Câmara de ar
Moghaddam <i>et al.</i> (2014)	Frango	Geléia real	Câmara de ar e saco vitelínico
Kermanshahi <i>et al.</i> (2016)	Codorna	Treonina	Dentro e fora da câmara de ar
Goel <i>et al.</i> (2017)	Frango	Nanopartículas	Câmara de ar e saco vitelínico
Bhattacharyya <i>et al.</i> (2018)	Peru	Aminoácidos, AG	Albúmen

\*Estudos citados nesta tabela são apenas uma amostra da vasta literatura.

A prática possibilita uma melhor condição nutricional ao nascimento, possibilitando vantagens extras nos primeiros períodos após a eclosão, etapa caracterizada por grande nível de estresse a que a ave está sujeita, creditada à mudança de ambiente e frequente manipulação.

Entre os pontos positivos listados, destacam-se o aproveitamento de nutrientes na alimentação com mais eficiência, diminuição nas taxas de mortalidade dos pintinhos, estímulo da resposta imune efetiva precoce e ganhos no desenvolvimento muscular e rendimento de peito, reduzindo-se o custo produtivo por quilograma de carne produzida (UNI & FERKET, 2003).

Mesmo com a tecnologia patenteada há mais de quinze anos, ainda há inconstâncias sobre melhor local de aplicação, dia da inoculação e solução nutritiva a ser inoculada, o que dificulta a adoção industrial da técnica pelo mercado avícola, mas ao mesmo tempo contribui para que novos esforços científicos sejam empregados. As respostas positivas também são dependentes do conhecimento da osmolaridade da solução injetada no âmnio (FERKET *et al.*, 2005).

Concentrações desajustadas e os diferentes tipos de nutrientes em soluções a serem inoculados, podem gerar um desequilíbrio osmótico dentro do ovo, o que leva o cessamento do desenvolvimento embrionário e, por conseguinte, o óbito (DAMASCENO *et al.*, 2017).

Muitos estudos têm sido realizados sobre o efeito da nutrição *in ovo* sobre a eclodibilidade e desempenho inicial de crescimento. Ohta e Kidd (2000), demonstraram que diferentes locais de injeção e datas de inoculação *in ovo* afetam diferentemente a eclosão; portanto, para recomendar o melhor procedimento para a suplementação do embrião, é preciso entender as diferentes características fisiológicas associadas em cada fase do desenvolvimento embrionário.

Ohta *et al.* (1999), aplicando a inoculação de aminoácidos dentro do saco vitelino em ovos férteis de frango de corte no sétimo dia de incubação, concluíram que a taxa de eclosão não foi afetada, e observaram aumento do peso corporal dos pintos ao nascer em relação ao peso do ovo. Entretanto, os embriões que receberam o mesmo tratamento, porém inoculados no décimo quarto de incubação, apresentaram maior taxa de eclosão e uma melhor taxa de crescimento após a eclosão até os 28 dias de idade.

Com a predominância da aplicação da técnica de nutrição *in ovo* para frangos, estes que necessitam de 21 dias de período incubação, tem-se verificado que a inoculação é mais recorrente no momento da transferência ao nascedouro, por volta do 17º ao 18º dia de

incubação, quando o embrião começa a ingerir oralmente o líquido amniótico e, conseqüentemente, as substâncias inoculadas são ingeridas (PESSÔA *et al.*, 2012).

Além disso, tem-se demonstrado que o embrião possui enzimas digestivas que tornam possível a alimentação na fase pré-eclosão. Apesar desses dados, essa técnica é recente e pouco se sabe acerca dos níveis e tipos de nutrientes que podem ser utilizados na nutrição do embrião. Sklan & Noy (2000), observaram que a passagem do conteúdo da gema para o trato intestinal é maior quando a ave é alimentada, quando comparada com o jejum, nas primeiras horas de vida pós eclosão. A nutrição *in ovo* poderia assim, anteceder o manejo nutricional nos primeiros instantes de vida da ave.

Com intuito de suprir as necessidades do mercado, o enfoque das pesquisas tem sido a busca por alimentos e nutrientes que, ao serem suplementados às dietas, atuem melhorando a qualidade dos produtos sem afetar a eficiência alimentar (NUNES *et al.*, 2010).

Considerando que alguns possuem a capacidade de alterar eventos genéticos, influenciando a saúde e desenvolvimento dos animais (GONÇALVES *et al.*, 2009), a suplementação destes nutrientes na fase embrionária possibilitaria melhores respostas metabólicas em um organismo em formação, favorecendo a expressão de genes de interesse em fase posterior.

## **2.4 Papel dos nutrientes no desenvolvimento embrionário e pós eclosão**

As atividades enzimáticas digestivas estão presentes desde a fase embrionária das aves, bem como os mecanismos que englobam a ação absorptiva de nutrientes, principalmente nas mediações do intestino. A endoderme do saco vitelino secreta enzimas extracelulares que tem função de atuar frente ao substrato, possibilitando a absorção dos produtos da digestão, até mesmo de moléculas maiores (SKLAN & NOY, 2000).

No período de incubação, estes produtos digestíveis fornecem a energia e os nutrientes e são oriundos da gema, que contém em sua maioria lipídios e concentrações menores de proteínas e carboidratos. Os lipídios da gema são diretamente transportados para o sangue do embrião por endocitose, mas após a eclosão, o conteúdo de gema é absorvido tanto pela membrana do saco vitelino quanto pelo divertículo de Meckel e é digerido e absorvido pelo trato intestinal (MORAN JR., 2007).

Entre as macromoléculas encontradas no saco vitelínico, proteínas e lipídeos figuram entre os que mais contribuem à síntese celular e também fornecem amparo para a construção da imunidade passiva em comparação ao suprimento das exigências energéticas,

assim, quando não há o não fornecimento extra de energia, farão com que esses nutrientes sejam naturalmente destinados para esta finalidade (OTHA *et al.*, 2004).

Há uma variedade de nutrientes com potenciais utilização na nutrição *in ovo*, entre eles: ácidos graxos, aminoácidos, carboidratos, minerais e vitaminas. A escolha ideal da solução para suplementação deve levar em consideração características da substância a ser inoculada, tais quais o volume, osmolaridade e viscosidade (UNI *et al.*, 2005).

Muitos dos trabalhos realizados *in ovo* utilizaram-se de vitaminas, aminoácidos e carboidratos buscando estimular o crescimento e aumento do peso dos pintos precocemente (OHTA *et al.*, 2001; UNI & FERKET, 2004; IPEK *et al.*, 2004; UNI *et al.*, 2005).

A administração de nutrientes *in ovo* incide em efeitos diretos sobre a eclodibilidade, desenvolvimento do sistema digestório, peso vivo e estado nutricional pós-eclosão, já que o acesso ao alimento é fundamental para o desenvolvimento precoce de pintos nos primeiros dias de vida (UNI & FERKET, 2004).

Sklan *et al.* (2003), reafirma o potencial da nutrição na fase pré-eclosão ressaltando a presença de enzimas digestivas no embrião na fase final da incubação. Em pintos de corte, a partir do décimo quinto dia de incubação há ingestão do fluido amniótico, sendo que, ao enriquecê-lo com substâncias nutritivas, pode haver melhora no desempenho das aves nos primeiros dias, uma vez que teriam aporte extra de nutrientes (KLASING, 1998).

## **2.5 Conceito e aplicação da nutrição imune**

É sabido que os avanços no melhoramento genético das aves proporcionaram um salto de eficiência produtiva respeitável. Porém, é perceptível de igual forma dentro dos aspectos sanitários, a insuficiência da resposta imune das aves em relação ao seu potencial de produção. As técnicas aplicadas na produção que envolvem o manejo, a genética e a nutrição influenciam naturalmente na saúde destes animais (RIBEIRO *et al.*, 2008).

A área do saber que engloba as possíveis interações entre nutrição e sistema imune, nos últimos anos, tem desencadeado inúmeras pesquisas expressivas no cenário científico da produção avícola e inclusive, para a normatização de uso de quimioterápicos na produção de aves no mercado (VIEIRA *et al.*, 2015).

Os avanços nas pesquisas tem possibilitado ao longo dos anos um melhor conhecimento do sistema imunológico das aves de produção, permitindo maiores respostas no que tange à complexidade dos processos interativos entre os fatores nutricionais e as respostas

imunes, porém, ainda carece de muitos esclarecimentos sobre o assunto (SANTIN & MORAES, 2014).

O equilíbrio entre a boa funcionalidade do sistema imune (imunocompetência) e os desafios de campo é o fator determinante da saúde de um animal. O sistema imunológico das aves opera de acordo com os mesmos princípios do sistema imunológico dos mamíferos (SHARMA & BURMASTER, 1982).

Vieira *et al.* (2015), revisando os principais aspectos da interrelação nutrição e imunidade em aves sob estresse, dispuseram que a nutrição tem função essencial no desenvolvimento da imunidade, uma vez que, as atividades do sistema imunológico, assim como outros sistemas do organismo, necessitam diretamente de energia e de inúmeros nutrientes específicos. Os autores ressaltaram que o sistema imune requer recursos orgânicos que podem comprometer o bom desempenho animal, isso porque, quando ativado, este sistema desvia parte de proteínas, vitaminas, energia e minerais para a reação inflamatória e diminui a disponibilidade deste para produção de carne e ovos.

Ferreira & Souza (2005), discorreram sobre a definição do termo imunonutrição, em que abordaram que a suplementação utilizando determinados nutrientes e/ou diferentes níveis de inserções, tem efeito influenciador nas atividades orgânicas como no caso das funções do sistema imune, bem como, nas ações reprodutivas e funcionalidade do coração, além de outros órgãos. De acordo com os autores, esta linha de pesquisa é muito estudada por outros pesquisadores.

Spinosa *et al.* (1999), abordaram em seus trabalhos que o mau funcionamento das atividades imunes no organismo estão ligados à desnutrição, deficiências ou carências nutricionais. Segundo os autores, isso ocorre devido à diminuição de diversos fatores como a secreção e afinidade dos anticorpos por seus antígenos; a imunidade mediada por células; a produção de linfócitos; a síntese de proteínas do sistema complemento; e a função fagocitária.

Além das ações diretas de células especializadas e anticorpos, as defesas do organismo também são influenciadas pela ação de substâncias com ação antioxidante, as quais são extremamente dependentes do funcionamento metabólico e da alimentação (KUSS, 2005). Estas substâncias antioxidantes têm a função de neutralizar o estresse oxidativo gerado durante exercícios, ferimentos, doenças, presença de alérgenos, etc, bloqueando a oxidação dos fosfolípidos e proteínas essenciais às membranas celulares.

Segundo Kuss (2005), os antioxidantes representam a defesa dos organismos contra as espécies reativas de oxigênio, podendo ser divididos em dois tipos principais: os não enzimáticos e os enzimáticos.

Sabendo que a alimentação na produção animal, corresponde a cerca de 60 a 70% do ônus da criação, se faz imprescindível fornecer rações balanceadas com proporções adequadas em nutrientes para se alcançar o sucesso produtivo e atender as necessidades básicas das aves (MURAKAMI, 1998; ROSTAGNO *et al.*, 2017).

Não somente pelo fato de atender as necessidades vitais de manutenção dos animais, mas pelo potencial que a nutrição oferece no desempenho como todo, é preciso ressaltar a importância dos cuidados com a alimentação do sistema produtivo.

## **2.6 Desenvolvimento do sistema imunológico**

Quando se fala em estudos do sistema imunológico em aves, a maioria das pesquisas são voltadas para a espécie *Gallus gallus domesticus*, que é popularmente a galinha doméstica a qual conhecemos. Tal fato é corriqueiro graças ao seu ciclo produtivo ser rápido, além de sua importância econômica, o que viabiliza ainda mais tais pesquisas (DAVISON, 2008; TIZARD, 2010; BROWNLIE & ALLAN, 2011), embora também, patos, sejam vistos como potenciais contribuintes nos estudos das atividades imunológicas (DAVISON, 2008; BROWNLIE & ALLAN, 2011).

As aves apresentam órgãos linfóides primários e secundários. Os primários são a bursa de Fabrício e o timo que são responsáveis pelos mecanismos de imunidade adquirida, ambos os órgãos dão origem às células do sistema imune, sendo formadores de linfócitos (TANYOLAÇ *et al.*, 1993). Já os secundários são o baço, a medula óssea e o tecido linfóide intestinal (O'MALLEY, 2005; OLÁH & VERVELDE, 2008).

No processo de evolução do embrião, células hematopoiéticas embrionárias imaturas movimentam-se do saco embrionário até a corrente sanguínea do embrião e deste para o baço, onde irão formar os glóbulos vermelhos e brancos. A partir disto, colonizam os órgãos primários (bursa e timo) por meio de fatores quimiotáticos que atraem as células e permitem a colonização destes órgãos por volta do sexto dia de incubação para o timo e na bursa, por volta do décimo dia de incubação (OLÁH & VERVELDE, 2008), até a terceira semana após a eclosão quando ocorre a maturação dos órgãos primários e secundários (JUUL-MADSEN, 2008).

A formação e maturação precoce do sistema imunológico se mostra um diferencial muito evidente nas aves, em comparação a outras espécies, obtendo resposta adaptativa dos órgãos primários, como o timo e a bursa. A receptividade do timo embrionário, por volta do 6º dia de incubação, e da bursa, por volta do 10º dia, permite a formação destes linfócitos, que na vida embrionária são morfologicamente iguais aos de aves pós nascimento, mas que ainda têm funcionalidade limitada (CARON, 2015).

O sistema imune da ave é complexo e compreende uma série de células e fatores solúveis que devem trabalhar juntos para produzir uma resposta imune protetora (TIZARD, 2008), exercendo um papel crítico na defesa da ave contra patógenos. Funciona de maneira semelhante aos mamíferos embora a estrutura e diferenciação dos órgãos linfóides nas aves apresentem diferenças marcantes.

## **2.6.1 Alguns órgãos linfóides das aves**

### **2.6.1.1 Timo**

Caracterizado por um linfoepitélio, o timo é um órgão que possui em sua formação dois lobos, compostos de pequenos lóbulos constituídos de córtex escuro e uma medula mais clara, localizado no pescoço das aves próximo à veia jugular. O timo nos animais jovens encontra-se mais desenvolvido e tende a regressar em seu tamanho, com o início da maturidade sexual (GETTY, 1986; O'MALLEY, 2005; DYCE *et al.*, 2010).

Contém linfócitos T (células T), derivados de células-tronco produzidas na região para-aórtica e que migraram para o saco vitelínico antes de adentrar o timo, os quais sofrem maturação e diferenciação neste órgão, correspondendo a aproximadamente 70% da população total de linfócitos no sangue (PENDL & TZARD, 2016). O timo ainda contém pequena quantidade de linfócitos B (células B), que migraram para seu parênquima após a eclosão (SCHMIDT *et al.*, 2003).

### **2.6.1.2 Baço**

O baço nas aves possui uma estrutura semelhante ao observado nos mamíferos, porém a diferenciação entre polpa vermelha e polpa branca não é tão evidente (DYCE *et al.*, 2010). Localiza-se entre o proventrículo e o ventrículo e possui como função a fagocitose de eritrócitos velhos e a produção de anticorpos. Não apresenta um significativo reservatório de sangue como é visto nos mamíferos (SCHMIDT *et al.*, 2003).

Seu formato pode variar de oval nos pombos e galinhas, triangular nos patos e gansos e alongado nos periquitos (GETTY, 1986; O'MALLEY, 2005), mas, apresenta-se de forma esférica em grande parte das aves, não demonstrando distinção entre polpa vermelha e polpa branca (SCHMIDT *et al.*, 2003).

### **2.6.1.3 Bursa de Fabricius**

A bursa de Fabricius (bursa cloacalis ou bolsa de Fabricio) é um órgão linfoepitelial, descrito inicialmente por Hieronymus Fabricius no século XVII e encontrada com exclusividade nas aves (RATCHLIFFE, 2002).

A atuação da bursa na imunidade foi relatada pela primeira vez por Glick *et al.* (1956), em que, testando o envolvimento do órgão na produção de anticorpos, os autores avaliaram 85 frangos jovens machos e fêmeas, que tiveram cirurgicamente a bolsa removida.

Localizada na porção final do intestino grosso, próximo a cloaca, a bursa de Fabricius é composta de linfócitos acoplados em tecido epitelial, onde suas dobras se alastram pela fração interna do lúmen, espalhando folículos linfóides. A bursa apresenta funcionalidade de maturar e de diferenciar as células do sistema formador de anticorpos. Podem ser encontrados mais de 90% de células B (TIZARD, 1998).

Dessa forma, é um dos órgãos de participação efetiva na imunidade das aves, apresentando-se com uma estrutura anatômica ideal para a diferenciação dos linfócitos B. Fellah *et al.* (2008), demonstraram tal importância em ensaios com animais bursectomizados, em que foi constatado perda da resposta imune humoral nos indivíduos observados.

## **2.6.2 Órgão associado**

### **2.6.2.1 Fígado**

Classificado como uma glândula, o fígado é a maior estrutura glandular presente no organismo das aves e localiza-se cranioventralmente ao abdômen, estando apenas caudal ao coração e separado pelo diafragma (MCLEOD *et al.*, 1964; FITZGERALD, 1969).

Apresentando-se suspenso pelo peritônio na cavidade celômica hepática dorsal e ventral, direita e esquerda (GETTY, 1986), seu volume pode sofrer variação de acordo com a alimentação, podendo ser aumentado ou diminuído, em função das quantidades e características da ingesta (MCLEOD, 1939).

O tamanho e peso do fígado da codorna adulta variam, dependendo do sexo da mesma. Fêmeas poedeiras apresentam, em média, fígado pesando 4,8% do peso do corpo,

aproximadamente, enquanto no macho o peso do fígado é de 3,1%, sendo assim, as fêmeas possuem fígado 1,57 vezes maior que o macho (FITZGERALD, 1969). A coloração do fígado das codornas varia entre o vermelho amarronzado e se desfaz com facilidade (FITZGERALD, 1969).

O fígado não se trata de um órgão linfoide por classificação biológica, porém, esta associado as atividades imunes do organismo uma vez que é o local de produção de grande parte da linfa, por meio dos vasos linfáticos derivados do fígado, é possível recrutar, mobilizar e deslocar linfócitos até zonas específicas como parte da resposta imune (KINDT *et al.*, 2008).

Souza *et al.* (2017), abordam que o sistema imune do trato gastrointestinal é frequentemente exposto a inúmeros fatores estressantes, como patógenos, agentes físicos e químicos provenientes principalmente dos alimentos. Manifestações leves associadas as células de defesa, podem ser encontradas em órgãos linfóides primários e secundários, como intestino e no parênquima hepático (TIZARD, 1996).

Entre suas atividades vitais, as células e enzimas do fígado, estão relacionadas com atividades imunológicas, coagulação e de substâncias transportadoras de oxigênio e gorduras (FLAUZINA, 2007).

## **2.7 Bioquímica sérica das aves**

Os constituintes bioquímicos do sangue podem refletir com credibilidade a estabilidade entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes no tecido animal. A esta estabilidade dá-se o nome de homeostase, no qual uma complexidade de mecanismos metabólico-hormonais estão envolvidos. Quando o estado homostático é quebrado, têm-se uma queda na produtividade zootécnica, e de acordo com o nível de redução, doenças na produção podem surgir na criação (GONZÁLEZ *et al.*, 2000).

Para que os diversos testes diagnósticos sejam válidos, seja qual for a origem do laboratório ou da metodologia utilizada, o alcance de resultados de confiança incide diretamente nos procedimentos corretos da coleta e da manutenção recomendada das amostras (WEISER, 2015), sendo necessário a observância da aplicação adequada do período de jejum, que, segundo Harr (2002), seria um período genérico de até 12 horas, enfatizando que há divergências conforme às especificidades de cada momento e espécie animal trabalhada.

Quando abordado na prática, nem sempre há a possibilidade de aplicação de um período padrão de jejum, uma vez que a fisiologia digestiva das aves, por possuírem papo para

armazenamento de alimento, atua mesmo na ausência do fornecimento de alimento (CAPITELLI & CROSTA, 2013).

Embora seja um procedimento naturalmente mais delicado, a coleta e análise sanguínea são práticas que podem ser aplicadas inclusive em aves de menor porte, como as codornas. Campbell & Ellis (2007), afirmam que uma ave com estado de saúde pleno, possui entre 6 a 12% de sangue, correspondendo a 10% em média do seu peso corporal. O volume total de sangue varia entre as espécies (CAMPBELL, ELLIS, 2007), e até mesmo entre os sexos, sendo que algumas fêmeas de *Gallus gallus domesticus* possuem maior volume sanguíneo que os machos da mesma espécie (JAIN, 1993).

Entre alguns autores, a estimativa segura de coleta de sangue é de 1% do peso corporal da ave (RUPLEY, 1999; BIRCHARD, 2000; THRALL *et al.*, 2004) com ressalva à casos de debilitações clínicas como em quadros de anêmia ou hipovolêmia. Para se evitar maiores complicações, o ideal é a utilização de amostra com menor volume possível, que não afete a realização das análises (PETRAK, 1982; BENEZ, 2001).

O plasma é comumente usado para análises bioquímicas clínicas aviárias. Os testes bioquímicos plasmáticos comumente utilizados e mais úteis são a determinação de aspartato aminotransferase, ácido úrico, creatinina, proteínas totais, entre outros (RUPLEY, 1999).

### **2.7.1 Parâmetros bioquímicos avaliados**

#### **2.7.1.1 Aspartato aminotransferase (AST)**

A atividade da enzima AST nos tecidos varia entre as diferentes espécies de aves, sendo encontrada, principalmente no fígado e músculos (CAPITELLI & CROSTA, 2013), mas também está presente no coração, cérebro e rins (BURR, 1989; HOCHLEITHNER, 1994). Por esta razão a interpretação do aumento da atividade sérica desta enzima torna-se um desafio (CAMPBELL, 2015).

De maneira genérica a AST é uma enzima sensível, porém pouco específica nos casos de problemas hepáticos (HARR, 2002), devendo-se mensurar a atividade da creatinina quinase (CK) simultaneamente para a diferenciação entre lesão muscular e dano hepático (RUPLEY 1999; SCHMIDT *et al.*, 2007; CAMPBELL, 2015).

Segundo aborda Benez (2001), a elevação nos níveis de AST são indicativos de danos hepáticos ou musculares, mas a grande parte das causas do aumento das concentrações de AST no soro se dá pelas lesões originadas no fígado.

Rupley (1999), denota que, geralmente os aumentos acentuados (> 4 vezes o limite superior de normalidade) são decorrentes de necrose hepática e as elevações suaves ou moderadas (2 a 4 vezes o limite superior de normalidade) são associados à lesão muscular esquelética. Também são causas de elevações desta enzima as deficiências de vitamina E, selênio ou metionina, intoxicação por pesticidas ou tetracloreto de carbono (HOCHLEITHNER, 1994; RUPLEY 1999; CAMPBEL 2015).

### **2.7.1.2 Alanina aminotransferase (ALT)**

Podendo ser encontrada em maiores concentrações no fígado, no músculo esquelético e em vários outros tecidos de aves (LUMEIJ, 1994), esta enzima é responsável pela catalização e a transaminação reversível da L-alanina e o 2-oxoglutarato a piruvato e L-glutamato.

De acordo com Kaneko (2008), assim como outras transaminases, a ALT tem atuação no catabolismo de aminoácidos e no transporte de nitrogênio entre os órgãos. Sua atividade carece de um cofator, o piroxidal 5 fosfato (PP), que se encontra no soro em quantidades suficientes para garantir a atividade máxima da mesma. Assim, para a sua análise, muitos reagentes incorporam este cofator (KANEKO *et al.*, 2008).

A atividade sérica da ALT não é um teste específico para a detecção de doença hepatocelular em aves (CAMPBEL, 2015). Tal atividade nas aves pode estar elevada em decorrência de dano em múltiplos tecidos, dificultando a sua interpretação (HARR, 2002). Justifica-se sua dosagem em elevação na ocorrência de hemólise *in vitro*, pois a atividade desta enzima nas hemácias é 1,6 vezes maior se comparada ao soro (HOCHLEITHNER, 1994; CAMPBEL, 2015).

### **2.7.1.3 Triglicerídeos**

Os triglicerídeos são sintetizados na mucosa intestinal e no fígado a partir dos componentes da digestão e absorção de ácidos graxos, logo pode ocorrer aumento em casos de inanição, peritonite relacionada à produção de ovos, lipidose hepática, hiperadrenocorticismos, exercícios e estresse por contenção (HOCHLEITHNER, 1994; RUPLEY, 1999). Suas concentrações podem variar em função de vários fatores como: dieta, clima, sexo e fatores hormonais e portanto, um valor de referência padrão em condições normais não tem sido bem estudado em aves (HOCHLEITHNER, 1994), sendo a maioria dos valores divulgados, associados com algum tipo de experimentação.

Hochleithner (1994), relata que entre os métodos mais utilizados para se mensurar os triglicerídeos se dá primeiramente pela leitura do glicerol, sendo este um produto após a fragmentação da molécula triglicérides, assim, por consequência, os procedimentos que elevam os níveis glicéricos no sangue, como atividades bruscas ou estresse por contenção, podendo transmitir níveis de triglicerídeos elevados erroneamente (HOCHLEITHNER, 1994).

#### **2.7.1.4 Colesterol total**

Vários são os tecidos do organismo nos quais o colesterol pode ser sintetizado, mas é no fígado o principal local de síntese endógena (SCHMIDT *et al.*, 2007). Rupley (1999) e Campbel (2015), apontam a inanição, hepatopatia, fibrose hepática, xantomose, obstrução e hiperplasia do ducto biliar como causas de hipercolesterolemia. No entanto, elevações do colesterol nem sempre estarão relacionadas a condições patológicas, como ocorre no fornecimento de dieta com alto teor de gordura, hipotireoidismo, lipemia, formação do ovo e vitelogenese conforme citado por Harr (2002) e Campbel (2015).

Os lipídios séricos podem vir da absorção intestinal dos lipídios ingeridos, da mobilização dos lipídios decorrente de estocagem no tecido adiposo ou de processos metabólicos. A quantidade e o tipo de alimento, entre outros fatores, influenciam as concentrações lipídicas no plasma. Dada a importância do colesterol nas diversas funções metabólicas, mesmo quando este não é disponibilizado na dieta, o organismo cria alternativas para sua síntese de novo, por meio do transporte reverso do colesterol (SILVA *et al.*, 2012).

#### **2.7.1.5 Lipoproteína de alta densidade - HDL**

As lipoproteínas de alta densidade, conhecidas pela sigla na língua inglesa HDL (*High-density lipoproteins*) são sintetizadas no intestino e no fígado e é a menor das lipoproteínas mais densas (CASTELLI *et al.*, 1997).

A HDL atua na remoção do excesso do colesterol dos tecidos periféricos e também age inibindo a oxidação da LDL, além de proteger a formação de aterosclerose (STEINBERG, 2009). Embora sua ação fundamental seja o transporte reverso do colesterol, anteriormente relatado, outros efeitos foram descritos *in vitro* e em animais de experimentação, tais como: antioxidante, antiinflamatório, antiagregante plaquetário, anticoagulante, pró-fibrinolítico e de proteção endotelial (ORANI & VAUGHAN, 2000); NOFER *et al.*, 2002; ASSMANN & GOTTO, 2004)

## REFERÊNCIAS

- AGGREY, S. E.; ANKRA-BADU, G. A.; MARKS, H. L. Effect of long-term divergent selection on growth characteristics in Japanese quail. **Poultry Science**, v. 82, p. 538-542, 2003.
- AL-DARAJI, H. J.; AL-MASHADANI, A. A.; AL-HAYANI, W. K.; AL-HASSANI, A. S.; MIRZA, H. A. Effect of in ovo injection with L-arginine on productive and physiological traits of Japanese quail. **South African Journal of Animal Science**, v. 42, p. 139 –145, 2012.
- ALMEIDA, M. I. M. DE; OLIVEIRA, E. G. DE; RAMOS, P. R. R. *et al.* Desempenho produtivo para corte de machos de codornas (*Coturnix Sp.*) de duas linhagens, submetidos a dois ambientes nutricionais. *In: Simpósio nacional de melhoramento animal*, 6, 2002, Campo Grande, **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2002.
- AL-MURRANI, W.K. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v. 23, p. 171-174, 1982.
- ASSMANN, G.; GOTTO, A. M. HDL-cholesterol and protective factors in atherosclerosis. **Circulation**, v. 109, p. 8-14, 2004.
- AYDIN, R.; COOK, M. E. The Effect of Dietary Conjugated Linoleic Acid on Egg Yolk Fatty Acids and Hatchability in Japanese Quail. **Poultry Science**, v. 83, p. 2016–2022, 2004.
- AYDIN, R.; PARIZA, M. W.; COOK, M. E. Dietary conjugated linoleic acid inhibits the hatchability of pigeon eggs. **Poultry Science**, v. 78, p. 80-81, 1999.
- BAIÃO, N. C.; LARA, L. J. C. Oil and fat in broiler nutrition. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, p. 129-141, 2005.
- BAKYARAJ, S.; BHANJA, S. K.; MAJUMDAR, S.; DASH, B. Modulation of post-hatch growth and immunity through in ovo supplemented nutrients in broiler chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 313-320, 2012.
- BALABAN, M.; HILL, J. Effects of thyroxine level and temperature manipulations upon the hatching of chick embryos (*Gallus domesticus*). **Developmental Psychobiology**, v. 4, p. 17-35, 2004.

BALNAVE, D. The importance of linoleic acid in poultry diets. *In: Recent Advances in Animal Nutrition Conference Proceedings - University of New England, 1981; Australia. Armidale: University of New England, p. 187-196, 1981.*

BADINGA, L.; SELBERG, K. T.; DINGES, A. C.; *et al.* Dietary Conjugated Linoleic Acid Alters Hepatic Lipid Content and Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 111-116, 2003.

BARRETO, S. L. T.; PEREIRA, C. A.; UMIGI, R. T.; ROCHA, T. C.; ARAUJO, M. S.; SILVA, C. S.; TORRES FILHO, R. A. Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesas na fase inicial do ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 68-78, 2007.

BERGSSON, G.; ARNFINNSSON, J.; STEINGRIMSSON, O.; THORMAR, H. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, p. 3209–3212, 2001.

BERTECHINI, A. G. The quail production. *In: World's poultry congress, Salvador-BA. Anais...* Salvador: [WPSA], p.5-9, 2012.

BAKYARAJ, S.; BHANJA, S. K.; *et al.* Modulation of post-hatch growth and immunity through *in ovo* supplemented nutrients oiler chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 313–320, 2011.

BHANJA, S. K.; MANDAL, A. B.; AGARWAL, S. K.; MAJUMDAR, S. Effect of *in ovo* glucose injection on the post-hatch growth, digestive organ development and blood biochemical profiles in broiler chickens. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.78, p. 869-872, 2008.

BHANJA, S. K.; MANDAL, A. B.; AGARWAL, S. K.; MAJUMDAR, S.; BHATTACHARYYA, A. Effect of *in ovo* injection of vitamins on the chick weight and post-hatch growth performance in broiler chickens. *In: 16th European Symposium on Poultry Nutrition*, p. 143-146, 2007.

BHANJA, S. K.; MANDAL, A. B.; JOHRI, T. S. Standardization of injection site, needle length, embryonic age and concentration of amino acids for *in ovo* injection in broiler breeder eggs. **Indian Journal of Poultry Science**, v. 39, p. 105-111, 2004.

BHATTACHARYYA, A.; MAJUMDAR, S.; BHANJA, S. K.; MANDAL, A. B.; KADAM, M. Effect of maternal dietary manipulation and *in ovo* injection of nutrients on the hatchability indices, post-hatch growth, feed consumption, feed conversion ratio and immunocompetence traits of turkey poult. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, p. 287-294, 2018.

BIRCHARD, S. F.; SHERDING, R. G. Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2003

BOSCH, G.; BEERDA, B.; HENDRIKS, W. H. *et al.* Impact of nutrition on canine behaviour: current status and possible mechanisms. **Nutrition Research Reviews**, v. 20, p. 180-194, 2007.

BROWNLIE, R.; ALLAN, B. Avian toll-like receptors review. Cell tissue research, Berlin, v. 343, p. 121-130, 2011.

BURR, E. W. Diseases of cage birds. Iowa: Iowa State University Press, 1989. 247p.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de Ingredientes na alimentação animal**. 2.ed. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2010. 430p.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica Clínica das Aves. In: THRALL, M. A. *et al.* Hematologia e **Bioquímica Clínica Veterinária**. 2ª ed. Roca, 2015, 688 p.

CAMPOS, A. M. A.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; SILVA, E. A.; ALBINO, L. F. T.; NOGUEIRA, E. T. Efeito da inoculação de soluções nutritivas *in ovo* sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n.8, p. 1712-1717, 2011.

CAMPOS, A. M. A. **Efeito da inoculação in ovo de soluções nutritivas sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa. 67 pp, 2007.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, p. 71–120, 2013.

CASTELLI, W. P.; DOYLE, J. T.; GORDON, T.; *et al.* HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. **Circulation**, v. 55, p. 767-772, 1977.

CAVALCANTE, D. T.; LIMA, R. C.; COSTA, F. G. P. *et al.* Características de Carcaça de Codornas Europeias Alimentadas com Diferentes Níveis Protéico. **Revista Científica de Produção Animal**, v.12, p.53-55, 2010.

CAVE, N. A. G. The influence of non-esterified fatty acids on feeding activity of chicks. **Poultry Science**, v. 57, p. 1124, 1978.

CAVE, N. A. G. Effect of dietary short- and medium-chain fatty acids on feed intake by chicks. **Poultry Science**, v. 61, p. 1147-1153, 1982.

CAVE, N. A. G. Glycine- and fatty acid-induced restriction of feed intake: effects on body weight and hatching egg production of broiler breeders restricted from day of hatching. **Poultry Science**, v. 62, p. 125-132, 1983.

CHIN, S. F., STORKSON, J. M., LIU, W. *et al.* Conjugated linoleic acid (9,11-and 10, 12-octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 694-701, 1993.

CHEN, W.; WANG, R.; XIONG, X. L.; WAN, H. F.; XU, J.; PENG, J. Influence of *in ovo* injection of disaccharides, glutamine and  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate on the development of small intestine in duck embryos and neonates. **British Poultry Science**, v. 51, p. 592-601, 2010.

COLES, B.; CROOM, W.; BRAKE, J. *et al.* *In ovo* peptide YY administration improves growth and feed conversion ratios in week-old broiler chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1320-1322, 1999.

COSTA, F. G. P. *et al.* O zootecnista e as biotecnologias em nutrição de aves e suínos. *In*: ZOOTEC 2008, João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, 2008.

COOK, M. E.; MILLER, C. C.; PARK, Y.; PARIZA, M. Immune modulation by altered nutriente metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. **Poultry Science**, v. 72, p. 1301-1305, 1993.

DALMAU, A. B. Sistemas produtivos de codornices Espanã. *In: Simpósio Internacional de Coturnicultura*, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: NECTA/DZO/UFLA, p. 49-65. 2002.

DAMASCENO, J. L.; CRUZ, F. G. G.; MELO, R. D.; FEIJO, J. C.; RUFINO, J. P.F.; VALENTIM, F. M.; OLIVEIRA, J. P. C. Inoculação de proteína isolada de soja em ovos embrionados oriundos de matrizes semipesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 5, p. 1259-1266, 2017.

DAVISON, F. The importance of the avian immune system and its unique features. *In: Avian Immunology*. 1. Ed. San Diego: Elsevier, 2008. cap.1, p. 1-11.

DAWSON, P. L., CARL, G. D.; ACTON, J. C.; HAN, I. Y. Effect of lauric acid and nisin impregnated soy-based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. **Poultry Science**. v. 81, p. 721–726, 2002.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453-463, 2002.

DING, S. T.; LILBURN, M. S. Inclusion of coconut oil in diets for turkeys breeders and its effects on embryonic yolk and liver fatty acids. **Poultry Science**, v. 76, p. 1714-1721, 1997.

DECUYPERE, E.; KUHN, E.; CLIJMANS, B.; NOUWEN, E.; MICHELS, H. Effect of blocking T4-monodeiodination on hatching in chickens. **Poultry Science**, v. 61, p. 1194-1201 1982.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4 ed. Ed. Elsevier Saunders, Rio de Janeiro, 2010, 834p.

EAVIS, R. M.; BOOTH, E. J.; WALKER, K. C.; TAYLOR, B. R.; WIGHT-MAN, P. S. Effect of lauric acid and nisin impregnated soy based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. **Poultry Science**, v. 81, p.721-726. 1997.

FELLAH, J. S.; JAFREDO, T.; DUNON, D. Development of avian immune system. *In: Davison, F.; Kaspers, B.; Schat, K. A. Avian Immunology*, Cap. 4, p. 5-67, 2008.

FIFE, Bruce Coconut Cures. Piccadilly Brooks, Ltd. pp. 184-185. ISBN 978-0-941599-60 3.2005.

FITZGERALD, T. L. *The Coturnix Quail Anatomy and Histology*. The Iowa State University Press, Ames, 1969.

FLAUZINA, L. P. **Desempenho produtivo e biometria de vísceras de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade de Brasília /Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2007.

FOYE, O. T.; FERKET, P. R.; UNI, Z. The effects of *in ovo* feeding arginine,  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl-butyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. **Poultry Science**, v. 86, p. 2343-2349, 2007.

FOYE, O. T.; FERKET, P. R.; UNI, Z. Effect of *in ovo* feeding egg white protein, beta-hydroxybeta-methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. **Poultry Science**, v. 85, n. 11, p. 1185–1192, 2006.

GALINDO, R.; LISETTE, S. Embriodiagnosis y ovoscopia - análisis y control de calidad de los huevos incubables. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Espanha, v.6, n.3, p.1-25, 2005.

GATTÁS, G. BRUMANO, G. Ácido linoleico conjugado (CLA). **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, p. 164-171, 2005.

GETTY, R. **Anatomia dos Animais Domésticos**. Vol.2. 5ª ed. Editora. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1986, p. 1677-1962.

GIBB, B.; GIBB, R.; GIBB, M. Stayin' Alive. *In: Saturday Night Fever: The Original Movie Sound Track*.Canada. RSO Records Inc, 1977. Vinyl. Side One, A1.

GLICK, B.; CHANG, T. S.; JAAP, R. G. The bursa of Fabricius and antibody production. **Poultry Science**, v. 35, p. 224-225, 1956.

GOEL, A.; BHANJA, S. K.; MEHRA, M.; MAJUMDAR, S.; MANDAL, A. B. *In ovo* silver nanoparticle supplementation for improving the post-hatch immunity status of broiler chickens, **Archives of Animal Nutrition**, v. 71, p. 384-394, 2017.

GONÇALVES, F. M.; CORRÊA, M. N.; ANCIUTI, M. A.; GENTILINI, F. P.; ZANUSSO, J. T.; RUTZ, F. Nutrigenômica: situação e perspectivas na alimentação animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 104, p. 569-572, 2009.

GONÇALVES, F. M.; SANTOS, V. L.; CONTREIRA, C. L. *et al.* Nutrição *in ovo*: estratégia para nutrição de precisão em sistemas de produção avícola. Universidade Federal de Pelotas. Brasil. **Archivos de zootecnia**, v. 62, p. 46, 2013.

GONZÁLEZ, F.; SILVA, S. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2<sup>a</sup> ed. edição. 2006.

GÜÇLÜ, B. K.; UYANIK, F.; İŞCAN, K. M. Effects of dietary oil sources on egg quality, fatty acid composition of eggs and blood lipids in laying quail. **South African Journal Animal Science**, v. 38, p. 91-100, 2008.

GUNSTONE, E. D., HARWOOD, J. L., PADLEY, F. B. *The Lipid Handbook*. Chapman and Hall, London, 1994.

GUSTIN, P. C. Manejo dos pintos no incubatório, expedição, transporte e alojamento na granja. *In*: MACARI, M.; GONZALES, E. (Eds). Manejo da incubação. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2003.

HA, Y. L.; STORKSON, J.; PARIZA, M. W. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Research**, v. 50, p. 1097-1101, 1990.

HARGIS, P.; PARDUE, S.; LEE, A.; SANDEL, G. *In ovo* growth hormone alters growth and adipose tissue development of chickens. **Growth Dev Aging**, v. 53, p. 93-99, 1989.

HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 140–151, 2002.

HAVENSTEIN, G. B.; FERKET, P. R.; SCHEIDELER, S. E.; RIVES, D. V. Carcass composition and yield of 1991 vs 1957 broilers when fed “typical” 1957 and 1991 broiler diets. **Poultry Science**, v. 73, p. 1795-1804, 1994.

HERTAD, O.; OVERLAND, M.; HAUG, A. *et al.* Reproductive performance of broiler breeder hens fed  $\omega$ -3 fatty acid-rich fish oil. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science**, v. 50, p. 121-128, 2000.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries *In: RITCHIE, B.W et al.* Avian medicine: principles and application. Lake Worth: Wingers Publishing, p. 176-198, 1994.

HOFFMANN, K. L., HAN, I. Y.; DAWSON P. L. Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid and EDTA. **Journal of Food Protection**, v. 64, p.885–889, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal (PPM), 24 Set. 2018. Disponível em <[https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com\\_mediaibge/arquivos/f13cd3617a3c09b83c68d32086056084.pdf](https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/f13cd3617a3c09b83c68d32086056084.pdf)> Acesso em: 11/12/2018.

IP, C.; CHIN, S. F.; SCIMECA, J. A.; PARIZA, M. W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. **Cancer Research**, v. 51, n. 22, p. 6118-6124, 1991.

IPEK, A.; SAHAN, U.; YILMA, B. The effects of in ovo ascorbic acid and glucose injection in broiler breeder eggs on hatchability and chick weight. **Archiv für Geflügelkunde**, v. 68, p. 132-135, 2004.

JAIN, N. C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993, 417p.

JUUL-MADSEN, H. R.; VIERTLBOECK, B.; SMITH, A. L.; GÖBEL, T. W. F. Avian innate immune responses. *In: Avian Immunology*. 1. Ed. San Diego: Elsevier, 2008. cap.7, p. 129-158.

KADAM, D. M. M.; BHANJA, S.; MANDAL, A.; THAKUR, R. *et al.* Effect of *in ovo* threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 49, p. 736-741, 2008.

KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4<sup>o</sup> ed. San Diego: Academic, 1989. 932p.

KAYANG, B. B.; FILLON, V.; INOUE-MURAYAMA, M.; MIWA, M.; *et al.* Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. **BMC genomics**, v. 7, p. 101, 2006.

KERMANSHAHI, H.; GOLIAN, A.; GHOFRANI, D.; EMAMI, N. K.; DANESHMAND, A.; TABARI, D. G.; IBRAHIM, S. A. Effect of *in ovo* injection of threonine on immunoglobulin A gene expression in the intestine of Japanese quail at hatch. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, p. 10-14, 2017.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. *Imunologia de Kuby*. 6<sup>a</sup> ed. São Paulo, Revinter, 2008, 662p.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v. 77, p. 1119-1125, 1998.

KOCAMIS, H.; YENI, Y.; KIRKPATRICK-KELLER, D.; KILLEFER, J. Postnatal growth of broilers in response to *in ovo* administration of chicken growth hormone. **British Poultry Science**, v. 78, 1219-1226, 1999.

LAWRENCE, T. L.J.; FOWLER, V. R. Compensatory Growth. In: *Growth of farm animals*. CAB International, p. 219-246, 1997.

LATOUR, M.; PEEBLES, E. D.; DOYLE, S. M. *et al.* Broiler breeder age and dietary fat influence the yolk fatty acid profiles of fresh eggs and newly hatched chicks. **Poultry Science**, v. 77, n.1, p. 47-53, 1998.

LEE, K. N.; PARIZA, M. W.; NTAMBI, J. M. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 248, p. 817-21, 1998.

LEANDRO, N. S. M.; GONZALES, E.; VAROLI JR., J. C. V.; *et al.* Hatchability and chick quality of broiler breeder eggs submitted to stress due to temperature. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n.1, p. 39-44, 2000.

LIU, H.; WANG, J.; ZHANG, R.; CHEN, X.; YU, H.; JIN, H. *et al.* *In ovo* feeding of IGF-1 to ducks influences neonatal skeletal muscle hypertrophy and muscle mass growth upon satellite cell activation. **Journal of Cellular Physiology**, v. 227, p. 1465-1475, 2012.

- LUMEIJ, J. T. Avian clinical enzymology. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicin**, v. 3, p. 14-24, 1994.
- MAULDIN, J. M. Factors affecting hatchability, *In: Commercial chicken meat and egg production*. 5. ed. [S.L: s.n.], p.727-773, 2001.
- MARTIN, S. A importância do embriodiagnóstico. **Ave World**, n.5, p.16-20, 2003
- MCLEOD, W. M. Anatomy of the digestive tract of domestic fowl. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 34, p. 722-727, 1939.
- MCLEOD, W. M.; TROTTER, D. M.; LUMB, J. W. Avian anatomy. Minnessota: Burgeas Publishing Company, p. 66-68, 1964.
- MCREYNOLDS, J.; CALDWELL, D.; BARNHART, E. *et al.* The effect of *in ovo* or day-of-hatch subcutaneous antibiotic administration on competitive exclusion culture (PREEMPT) establishment in neonatal chickens. **Poultry Science**, v. 79, p. 1524-1530, 2000.
- MILLER, C. C.; PARK, Y.; PARIZA, M. W.; COOK, M. E. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic response due to endotoxin injection. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 198, p. 1107-1112, 1994.
- MINVIELLE, F.; OGUZ, Y. Effect of genetics and breeding on egg quality of Japanese quail. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 291-295. 2002.
- MOGHADDAM, A. A.; BORJI, M.; KOMAZANI, D. Taxa de eclosão e crescimento embrionário de pintos de corte após injeção *in ovo* geléia real. **British Poultry Science**, v. 55, p. 391-397, 2014.
- MOORE, D. T. **The influence of early nutrition on muscle development in the poult**. PhD thesis, North Carolina State University, Raleigh, NC, 175p, 2005.
- MORAN JR., E. T. Nutrition of the Developing Embryo and Hatchling. **Poultry Science**, v. 86, p. 1043-1049, 2007.
- MURAKAMI, A. E. Nutrição e alimentação de codornas em postura. *In: Simpósio sobre nutrição e tecnologia da produção de rações*, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas, p.19-38, 1998.

MURPHY, M. G. Dietary fatty acids and membrane protein function. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 1, p. 68-73, 1990.

NETO, N. S.; SANTOS, J. R. M.; MARTINS, J. S. M. *et al.* Caracterização química e físico-química do óleo de coco extra virgem (*Cocos nucifera L.*). In: 5º Congresso Norte-Nordeste de Química, Natal-RN, 2003.

NOBLE, R. C.; COCCHI, M. Lipid metabolism and the neonatal chicken. **Progress in Lipid Research**, v. 29, p. 107-140, 1990.

NOFER JR, K. B.; FOBKER, M. *et al.* HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. **Atherosclerosis**, v. 161, p. 1-16, 2002.

NOWACZEWSKI, S.; KONTECKA, H.; KRYSZTIANIAK, S. Effect of *in ovo* injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. **Folia Biologica**, v. 60, p. 93-97, 2012.

NOY, Y.; SKLAN, D. 2001. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch. **Poultry Science**, v. 80, p. 1490-1495, 2001.

NUNES, J. K.; MAIER, J. C.; ROSSI, P.; DALLMANN, P. R.; *et al.* Suplementação de extrato de levedura na dieta de poedeiras: qualidade de ovos. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, p. 369-377, 2010.

OLÁH, I. VERVELDE, L. Structure of the avian lymphoid system. In: Avian Immunology. 1. Ed. San Diego: Elsevier. cap.2, p. 13-50, 2008.

O'MALLEY, B. **Clinical anatomy and physiology of exotic species**. London: Saunders Elsevier, 276 p., 2005.

OHTA, Y.; KIDD, M. Optimum site for *in ovo* amino acid injection in broiler breeder eggs. **Poultry Science**, v. 80, p. 1425-1429, 2001.

OHTA, Y.; KIDD, M.; ISHIBASHI, T. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after *in ovo* administration of amino acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 1430-1436, 2001.

OHTA, Y.; TSUSHIMA, N.; KOIDE, K. KIDD, M.; ISHIBASHI, T. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1493-1498, 1999.

OHTA, Y.; YOSHIDA, T. AND TSUSHIMA, N. Comparison between broilers and layers for growth and protein use by embryos. **Poultry Science**, v. 83, p. 783-787, 2004.

ORANI, J. F.; VAUGHAN, A. M. ABCA1 mediated transport of cellular cholesterol and phospholipids to HDL apolipoproteins. **Curr Opin Lipidol**, v. 11, p. 253-260, 2000.

OUTTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BEGIR, A.; HOLLEY, R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, p. 139-148, 2000.

PASTORE, S. M.; OLIVEIRA, W. P.; MUNIZ, J. C. L. Panorama da Coturnicultura no Brasil. **Revista Eletrônica Nutritime**, art.180, v. 9, n.6, p. 2041-2049, 2012.

PEDROSO, A. A.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H.; CHAVES, L. S. Desenvolvimento embrionário e eclodibilidade de ovos de codornas armazenados por diferentes períodos e incubados em umidades e temperaturas distintas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 35, n.6, p. 2344-2349, 2006.

PENDL, H.; TZARD, I. Immunology. *In*: Speer BL. Current therapy in avian medicine and surgery. California: ELSEVIER, p. 400-432, 2016.

PEREIRA, C. C.; DA SILVA, M. A.; LANGONE, M. A. Enzymatic Synthesis of Monolaurin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 113, p. 433-445, 2004.

PESSÔA, G. B. S.; TAVERNARI, F. C.; VIEIRA, R. A.; ALBINO, L. F. T. Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n.3, p. 755-774, 2012.

POWELL, K. A.; DEANS, E. A.; SPEAKE, B. K. Fatty acid etherification in the yolk sac membrane of the avian embryo. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 174, n.2, p. 163-168, 2004.

RAUW, W. M.; KANIS, E.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; GROMMERS, F. J. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. **Livestock Production Science**, v. 56, p. 15-33, 1998.

RATCHLIFFE, M. J. H. B cell development in gut associated lymphoid tissues. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 87, p. 337-340, 2002.

RIBEIRO, A. M. L.; VOGT, L. K.; CANAL, C. W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A. F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 636-644, 2008.

RIHAKOVA, Z.; PLOCKOVA, M.; FILIP, SMIDRKAL, V. J. Antifungal activity of lauric acid derivatives against *Aspergillus niger*. **European Food Research and Technology**, v. 213, p. 488-490, 2001.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. Tabelas brasileiras para suínos e aves. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 141p., 2000.

RULE, D. C.; SMITH S. B.; ROMANS, J. R. Fatty acid composition of muscle and adipose tissue of meat animals. In: The biology of fat in meat animals-Current advances (Ed. S. B. Smith and D. R. Smith). **The American Society of Animal Science**, Champaign, Illinois. pp. 144-165, 1995.

RUPLEY, A. E. Manual de Clínica Aviária. São Paulo: Roca, 582p., 1999.

SADEGHI, S.; WALLACE, F. A.; CALDER, P. C. Dietary lipids modify the cytokine response to bacterial lipopolysaccharide in mice. **Immunology**, v. 96:3, p. 404-410, 1999.

SANTIN, E. Modulando o sistema imune das aves para incrementar produtividade. Avicultura, 2009. Disponível em: <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/sistema-imune-aves-rodutividade-t36830.htm> Acesso em: 02/11/2018.

SANTIN, E.; MORAES, M. L. Imunidade e nutrição das aves. VI Congresso Latino Americano de Nutrição Animal - SALA AVES 23 a 26 de setembro de 2014. Estância de São Pedro, SP, Brasil. Disponível em: <http://www.cbna.com.br/site/documentos/clana/pal>

estras/Palestras%20AVES/Palestra%20Elizabeth%20Santin%20EDITORADA.pdf>. Acesso em: 02/11/2018.

SANTOS, T. T. D.; CORZO, A.; KIDD, M. T.; MCDANIEL, C. D.; TORRES FILHO, R. A.; ARAUJO, L. F. Influence of *in ovo* inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, p. 1-12, 2010.

SCHMIDT, E. M. S.; PAULILLO, A. C.; SANTIN, E.; DITTRICH, R. L.; OLIVEIRA, E. G. Hematological and serum chemistry values for the ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*): variation with sex and age. **International Journal Poultry Science**, v. 6, n. 2, p. 137-139, 2007.

SCHMIDT, R. E.; REAVILL, D. R.; PHALEN, D. N. Pathology of pet and aviary birds. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2003. 234p.

SEBEDIO, J. L.; GNÄDIG, S.; CHARDIGNY, J. M. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 2, n. 6, p. 499-506, 1999.

SHARMA, J. M.; BURMESTER, B. R. Resistance of Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. **Avian Diseases**, v. 26, 134-149, 1982.

SILVA, J. E. S.; MOURA, A. M. A.; NOGUEIRA, R. A. Efeito dos ácidos graxos essenciais sobre lipídemia e vascularização da membrana vitelina de codornas japonesas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.6, p. 1603-1612, 2012.

SILVA, J. H. V.; FILHO, J. J.; COSTA, F. G. P. *et al.* Exigências nutricionais de codornas. In: XXI Congresso Brasileiro de Cootecnia - Zootec 2011. Maceió: **Anais...** Maceió – Al, 2011.

SKLAN, D.; NOY, Y. Hydrolysis and absorption in the intestine of newly hatched chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1306-1310, 2000.

SPINOSA, H. S. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

STEINBERG, D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. **Journal of lipid research**, v. 50, p. 376-381, 2009.

TANYOLAÇ, A. *et al.* Ozel Histoloji. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, p.163-172, 1993.

TAKO, E.; FERKET, P. R.; UNI, Z. Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestinal functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, p. 339-346, 2005.

TAKO, P.; FERKET, P.; UNI, Z. Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate on the development of chicken intestine. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2023-2028, 2004.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. 8ªEd. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 587p. Português.

THRALL, M. A.; BAKER, D.C.; DENICOLA, D.; *et al.* Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 518 p

TORRE, B. L.; TOVAR, J. A.; URIARTE, S.; ALDAZABAL, P. The nutrition of the fetus with intestinal atresia: studies in the chick embryo model. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 27, n. 10, p. 1325-1328, 1992.

UNI, Z.; FERKET, P. R. 2003. Enhancement of development of oviparous species by *in ovo* feeding. US Patent nº 6592878. <http://patentscope.wipo.int/search/en/WO2002012436>.

UNI, Z.; FERKET, P. R. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 1, p. 101-111, 2004.

UNI, Z.; FERKET, P. R.; TAKO, E.; KEDAR, O. *In ovo* feeding improves energy status of lateterm chicken embryos. **Poultry Science**, v. 84: 764-770, 2005.

VAN DEN BERG, J. J.; COOK, N. E.; TRIBBLE, D. L. Reinvestigation of the antioxidante properties of conjugated linoleic acid. **Lipids**, v. 30, p. 599-605, 1995.

VIEIRA, D. V. G.; ALVES, C. F.; ALVES, F. L.; PARENTE, I. P.; *et al.* Principais aspectos da interrelação nutrição e imunidade em aves sob estresse. **Revista Eletrônica Nutritime**. Vol. 12, Nº 06, 2015. Disponível em:<[http://www.nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/342\\_-\\_4400-4410\\_-\\_NRE\\_126\\_nov-dez\\_2015.pdf](http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/342_-_4400-4410_-_NRE_126_nov-dez_2015.pdf)>. Acesso em: 02/11/2018.

WEISER, G. Tecnologia Laboratorial em Medica Veterinária In. THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2<sup>a</sup> ed. Roca, 2015.

WITCHER, K. J.; NOVICK, R. P.; SCHLIEVERT, P. M. Modulation of immune cell proliferation by glycerol monolaurate. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 3, p. 10-13, 1996.

YAMASAKI, M.; MANSO, K.; MISHIMA, H.; KIMURA, G.; *et al.* Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid peroxidation and histological change in rat liver tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 6367-6371, 2000.

ZHAI, W.; NEUMAN, S.; LATOUR, M. A.; HESTER, P. Y. The effect of *in ovo* injection of L-carnitine on hatchability of white leghorns. **Poultry Science**, v. 87, p. 569-572, 2008.

## CAPÍTULO 2 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CARÇA DE CODORNAS EUROPEIAS SUPLEMENTADAS *IN OVO* COM FONTES DE ÁCIDO LINOÉLICO CONJUGADO E ÁCIDO LAURICO

### RESUMO

A suplementação de nutrientes específicos de forma precoce, dentro do ovo, é uma técnica de manejo que pode influenciar na produtividade das aves. Este trabalho teve como objetivo avaliar a taxa de eclodibilidade e a relação entre o peso do ovo e do pintinho ao nascer, o desempenho produtivo e as características de carcaça de codornas de corte (*Coturnix coturnix*), suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e de ácido láurico. Foram incubados 839 ovos férteis de codornas, distribuídos em delineamento inteiramente casualizados com seis tratamentos e seis repetições, sendo: T1: Tratamento controle composto de ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluidor: óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL O ; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM. Ao 7º dia de incubação, os ovos foram inoculados aproximadamente a três mm da câmara de ar, adentrando o albúmem, com 0,05 mL do suplemento de acordo com os tratamentos. O nascimento das aves ocorreu entre o 17º e 18º dia de incubação, sendo os ovos não eclodidos submetidos ao embriodiagnóstico. Após o nascimento, as aves foram pesadas e alojadas em gaiolas, contendo 10 codornas por parcela, adotando manejo em desafio sanitário até os 35 dias. Avaliou-se o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, e aos 35 dias de idade, 2 aves de cada parcela foram abatidas, esviceradas, registrando o peso absoluto de peito, de coxa+sobrecoxa e dos órgãos metabolicamente ativos (moela e coração). Para a fase de 1 a 21 dias não houve efeito ( $P > 0,05$ ) nas variáveis de desempenho frente às inoculações dos ácidos graxos *in ovo*, assim como para as características de carcaça aos 21 dias. Verificou-se que aves provenientes de ovos não inoculados apresentaram maior peso da moela ( $P < 0,05$ ) na fase final em relação àquelas que receberam inoculações (OM, CLA e AL). Ovos inoculados com AL e CLA apresentaram percentuais de eclodibilidade menor em relação aos demais tratamentos, mostrando que a suplementação pode exercer influência no nascimento.

**Palavras chave:** ácido graxo, nutrição *in ovo*, suplementação.



## CHAPTER 2 – PERFORMANCE AND CARCASS CHARACTERISTICS OF EUROPEAN QUAILS SUPPLEMENTED IN EGG WITH SOURCES OF CONJUGATED LINOLEIC ACID AND LAURIC ACID

### ABSTRACT

Supplementation of specific nutrients early in the egg is a management technique that can influence poultry productivity. The objective of this study was to evaluate the rate of egg hatchability and the relationship between egg and chick weight at birth, productive performance and carcass characteristics of quail (*Coturnix coturnix*) supplemented in ovo with sources of conjugated linoleic acid and lauric acid. A total of 839 fertile quails eggs were incubated in a completely randomized design with six treatments and six replicates: T1: Control treatment, composed by whole eggs; T2: Eggs inoculated with diluent: corn oil (CO); T3: Eggs inoculated with CLA 120 mg/50 mL CO; T4: Eggs inoculated with CLA 240 mg/50 mL CO; T5: Eggs inoculated with AL 60 mg/50 mL CO and T6: Eggs inoculated with AL 90 mg/50 mL CO. At the 7th day of incubation, the eggs were inoculated approximately 3 mm from the air chamber, entering the album, with 0.05 ml of the supplement according to the treatments. The birth of the birds occurred between the 17th and 18th day of incubation, with the eggs not hatching submitted to embryogenesis. After birth, the birds were weighed and housed in cages, containing 10 quails per plot, adopting management in sanitary challenge up to 35 days. The feed consumption, weight gain and feed conversion were evaluated, and at 35 days of age, 2 birds from each plot were slaughtered, with absolute chest weight, thigh + overcoat and metabolically active organs (gizzard and heart). For the 1 to 21 days period there was no effect ( $P>0.05$ ) on the performance variables against in ovo fatty acid inoculations, as well as on carcass characteristics at 21 days. It was verified that poultry from uninoculated eggs presented greater weight of the gizzard ( $P<0.05$ ) in the final phase in relation to those that received inoculations (CO, CLA and LA). Eggs inoculated with LA and CLA presented lower hatchability percentages in relation to the other treatments, showing that supplementation may exert influence at birth.

**Keywords:** fatty acid, nutrition in egg, supplementation.



## 1. INTRODUÇÃO

Pesquisas científicas que abordam as fases de incubação, o desenvolvimento embrionário dos pintinhos que antecedem a vida pós eclosão, são escassas e se fazem necessárias para a obtenção de melhores índices zootécnicos dos plantéis avícolas.

A vacinação *in ovo* já era uma realidade há mais de dez anos atrás e hoje já tem se tornado ferramenta de manejo precoce nas incubadoras, permitindo imunização futura dos pintinhos sem impacto no desenvolvimento dos embriões ou taxa de eclosão. Partindo desse princípio, a tecnologia de administração de substâncias *in ovo* ganhou destaque juntamente com o manejo nutricional, ou seja, a nutrição *in ovo* (OHTA *et al.*, 2001).

Em linhas gerais, o procedimento é feito perfurando-se a casca do ovo embrionado e inoculando-se o nutriente no conteúdo interno do ovo por meio de uma seringa (GONZALES *et al.*, 2003; LEITÃO *et al.*, 2005), permitindo a suplementação de nutrientes para embriões de frangos de corte o que naturalmente, pode ser expandido às demais aves de interesse zootécnico.

Compreender a fase de desenvolvimento embrionária e o tempo de incubação mais propício para a injeção no ovo são as questões chaves que devem ser estudadas para maximizar a eclodibilidade e qualidade do pintinho pós eclosão. Ohta e Kidd (2001) relatam que o local e a data da inoculação *in ovo* afetam a eclosão; portanto, para segmentar locais preferidos dentro do ovo embrionado, é preciso entender as diferentes características fisiológicas associadas à fase de desenvolvimento embrionário.

Todas essas necessidades são cruciais para que a suplementação das substâncias nutritivas de forma precoce na fase de pré-eclosão, atinja o objetivo de ser uma ferramenta de manejo nutricional que proporciona melhores condições para o desenvolvimento inicial do sistema gastrointestinal e assim, acelerar as atividades enzimáticas digestivas, além de contribuir para o crescimento mais avançado das vilosidades intestinais (GEYRA *et al.*, 2001; LEITÃO *et al.*, 2005), com o viés de favorecer a viabilidade econômica produtiva.

Associado a isso, é possível explorar a nutrição precoce por meio da abordagem da imunonutrição que busca modular respostas, não somente para favorecer o desempenho pós eclosão, como também para preparar o animal para os desafios sanitários que os sistemas produtivos acarretam.

O ácido linoleico conjugado está associado ao aumento da eficiência do sistema imune, sendo um importante anticancerígeno, tornando o animal menos susceptível à ação de doenças e em consequência desviando menos energia da produção para a manutenção da defesa imunológica (GATTÁS & BRUMANO, 2005).

O ácido láurico é um antibiótico potente, creditado por muitos com forte supressão não apenas de infecções bacterianas, mas também de infecções fúngicas e virais (FIFE, 2005).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a taxa de eclodibilidade e a relação entre o peso do ovo e do pintinho ao nascer, o desempenho produtivo e as características de carcaça de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e de ácido láurico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Incubatório e no Laboratório de Pesquisas com Animais Monogástricos, ambos pertencentes ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, nos meses de julho a setembro de 2018. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFVJM, com o protocolo nº 026/2017. Os períodos experimentais constaram da fase de incubação, com duração de 18 dias e fase de crescimento das aves, as quais foram avaliadas de 1 a 21 e 22 a 35 dias de idade.

Foram incubados 839 ovos férteis de codornas de corte. Todos os ovos foram inspecionados e submetidos à avaliação de qualidade externa da casca, na qual realizou-se a exclusão dos trincados ou com deformações, descartando para a incubação, também, os ovos abaixo de 8 gramas e acima de 16 gramas.

Os ovos férteis incubados foram provenientes do lote de matrizes da linhagem europeia com 29 semanas de idade, do estabelecimento comercial “Granja Fujikura”, localizada em Suzano, SP. Os ovos foram enumerados com pincel para controle dos tratamentos e pesados em balança de precisão digital com erro de 0,001 kg. O peso individual de cada ovo foi computado para cálculo do rendimento de pinto de codorna, que foi expresso em % por meio da fórmula:

$$\text{Rendimento de pintos} = \frac{\text{Peso médio do pinto}}{\text{Peso médio do ovo fresco}} \times 100$$

Utilizou-se a incubadora da marca COPEMARQ, modelo Labo 13, previamente desinfetada e equipada com controle automático de temperatura, umidade e viragem dos ovos, com capacidade de 4.000 ovos de codornas. A temperatura e a viragem foram controladas automaticamente por um termostato digital acoplado à máquina. A temperatura utilizada durante a incubação foi de 37,5 °C e a umidade relativa de 60% e, aos 15 dias de incubação, os

ovos foram transferidos para o nascedouro, com ajuste de temperatura para 36,5 °C e a umidade de 70%.

Para a suplementação do CLA foi utilizado o produto Lipo-6 CLA, da marca comercial Nutrex Research, de concentração 1000 mg e para a suplementação do AL, utilizou-se o óleo de coco extravirgem, de origem comercial, sendo a embalagem de 200 mL, pertencente à marca Copra Coco.

Para a composição dos tratamentos com os suplementos de ácidos graxos, os óleos comerciais foram pesados nas devidas proporções e diluídos em 50 mL com o diluïdor (óleo de milho). Os tratamentos experimentais seguiram as seguintes nomeações: T1: Tratamento controle composto por ovos íntegros, sem inoculação; T2: Ovos inoculados com diluïdor: óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL OM; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM.

No sétimo dia de incubação os ovos receberam as inoculações dos tratamentos experimentais. O procedimento iniciou-se com a retirada dos ovos previamente numerados para distinção dos tratamentos, sendo manipulado um tratamento de cada vez. Após a desinfecção do local de aplicação do suplemento com solução etanol 100%, os ovos foram perfurados e então, injetados com 0,05 mL do suplemento, por meio de seringas descartáveis de 1 mL na região do albúmen, aproximadamente, 3 mm abaixo da casca.

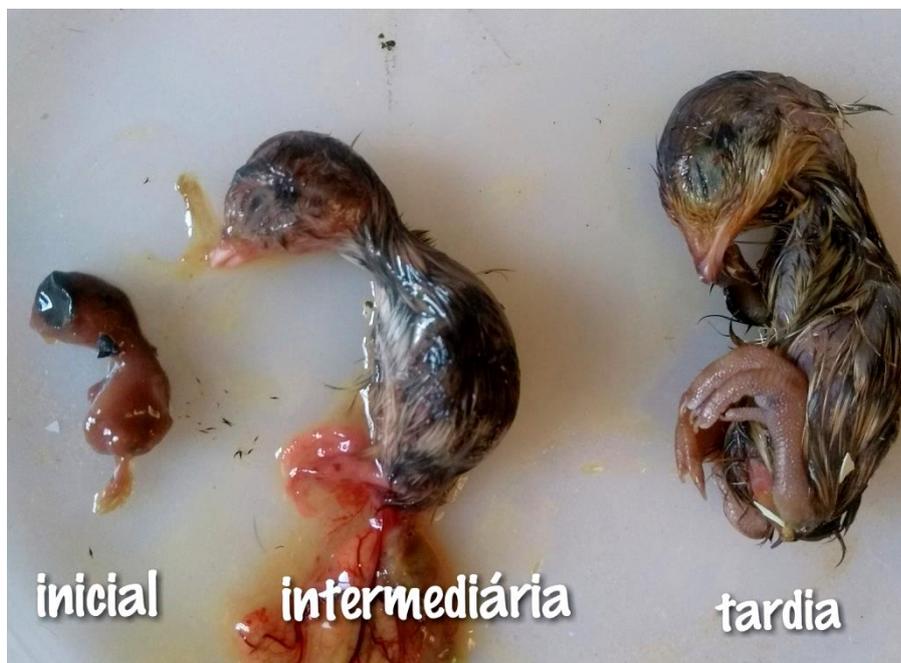
A duração do procedimento de inoculação para cada tratamento foi de 40 minutos aproximadamente, dessa forma, para garantir que todos os tratamentos fossem submetidos ao mesmo período de tempo fora da incubadora. Os ovos íntegros do tratamento controle (T1) que compuseram esse tratamento também foram retirados da máquina e exposto ao mesmo ambiente para padronizar a retirada da máquina incubadora em todos os tratamentos.

No décimo quinto dia de incubação os ovos foram transferidos para o nascedouro, e, neste momento, alocados em pequenos sacos de tecido perfurado, composto em 100% de poliamida, popularmente chamado de filó, com coloração distinta conforme o tratamento, a fim de que ao nascerem, as aves não se misturassem nas bandejas do equipamento.

Os ovos que não oclodidos foram submetidos à avaliação de embriodiagnóstico visual (figura 1), conforme retratado por Galindo e Lisette (2005), classificando as ocorrências como ovos inférteis, morte inicial, morte intermediária e morte tardia expressando-se a frequência em porcentagem. Os percentuais de eclosão foram registrados, sendo os resultados obtidos por meio da fórmula:

$$\text{Taxa de eclos\~{a}o: } \frac{\text{Total dos pintos nascidos}}{\text{Total de ovos f\~{e}rteis incubados}} \times 100$$

**Figura 1.** Est\~{a}gios de desenvolvimento do embri\~{a}o de codorna de corte na avalia\~{c}\~{a}o de embriodiagn\~{o}stico durante a incubaa\~{c}\~{a}o.



Fonte: Arquivo pr\~{o}prio da autora.

Ao nascerem, as aves foram retiradas dos sacos, pesadas, selecionadas de acordo com a faixa m\~{e}dia de peso e transportadas para o local de cria\~{c}\~{a}o, sendo distribu\~{i}das de acordo com seus respectivos tratamentos. As instala\~{c}\~{o}es para cria\~{c}\~{a}o foram compostas de gaiolas de arame galvanizado (60 cm de comprimento, 60 cm de largura e 35 cm de altura; 360 cm<sup>2</sup>/aves), munidas de comedouro tipo calha, bebedouro tipo copo de press\~{a}o e l\~{a}mpadas incandescentes de 100 watts para aquecimento das aves.

Para as fases de cria\~{c}\~{a}o, utilizou-se 360 codornas de corte, n\~{a}o sexadas, distribu\~{i}das em delineamento inteiramente casualizados, totalizando em seis tratamentos, com seis repeti\~{c}\~{o}es de dez codornas por parcela, aplicando os mesmos tratamentos definidos na fase de incubaa\~{c}\~{a}o.

O fornecimento de \~{a}gua e ra\~{c}\~{a}o para as codornas foram \~{a} vontade. As ra\~{c}\~{o}es experimentais foram elaboradas com base em dietas convencionais para codorna de corte, igual para todas parcelas e formuladas a base de milho e farelo de soja, em atendimento das exig\~{e}ncias nutricionais recomendadas por Silva & Costa (2009), e a composi\~{c}\~{a}o nutricional

dos ingredientes conforme descrito por Rostagno *et al.* (2017), sendo isoenergéticas e isoproteicas, elaboradas para a fase inicial de criação (1 a 21 dias) e fase final de crescimento (22 a 35 dias) (ANEXO 1).

Os variáveis climáticas foram monitorados diariamente as 8:00 e as 16:00 horas por meio de termômetros de máxima e mínima e de umidade relativa do ar e ao final da fase experimental foram calculadas as médias.

O manejo diário consistiu na aferição das variáveis climáticas (temperatura e umidade), fornecimento de ração, água e o acompanhamento diário das aves. Como forma de desafio sanitário para estímulo do sistema imune, foi adotada a não limpeza regular dos bebedouros e do piso das gaiolas (fornadas com jornal) e a ausência da execução do cronograma de vacinas indicadas para a espécie.

As variáveis de desempenho avaliadas foram o consumo de ração (g /ave), o ganho de peso (g /ave) e a conversão alimentar (g / g) sendo computadas aos 21 e aos 35 dias de idade. O consumo de ração foi determinado entre a diferença da ração fornecida e a sobra de ração pesada ao final da fase, dividindo-se pelo número de aves da parcela. Para o cálculo do ganho de peso por ave, as aves foram pesadas no primeiro dia e ao término da fase experimental, sendo calculado pela diferença entre o término da fase com o início. A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo médio de ração pelo ganho médio de peso das aves de cada parcela.

A mortalidade foi monitorada diariamente para a correção do consumo e de conversão alimentar considerando-se o dia do óbito das aves em relação ao período da fase, conforme descrito por Sakomura & Rostagno (2016).

Aos 35 dias de idade foram retiradas duas aves de cada unidade experimental para avaliação do peso absoluto dos órgãos de interesse na pesquisa. As aves foram identificadas, pesadas individualmente e submetidas a jejum alimentar de seis horas. Logo após, foram abatidas, depenadas, evisceradas e efetuados os cortes e as pesagens. Os parâmetros avaliados foram o peso vivo (g), o peso de cortes nobres (peito e coxa+sobrecoxa) e o peso dos órgãos metabolicamente ativos, moela (limpa) e coração, sendo todos expressos em peso absoluto.

Os resultados foram analisados por meio do programa R (R CORE TEAM, 2017) ao nível de 5% significância, sendo submetidos à análise para verificar o atendimento das pressuposições. Para verificar a distribuição normal dos erros, aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. A homocedasticidade foi avaliada pelo teste de Bartlett e a independência dos erros foi avaliada pelo teste Durbin-Watson. Quando necessário foi realizada a transformação

dos dados pelo método Box-Cox, após verificou-se as pressuposições com os dados transformados.

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para variáveis que não atendiam às pressuposições. E para aquelas que atenderam aos pressupostos foram aplicadas a análise de variância (ANOVA) entre os tratamentos, bem como os contrastes ortogonais para comparação dos resultados obtidos entre as aves que receberam os tratamentos controles com cada um dos níveis de suplementação dos ácidos graxos testados (CLA e AL) inoculados *in* ovos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ovos eclodiram entre o décimo sétimo e décimo oitavo dia de incubação, sendo que, aqueles que não obtiveram sucesso na eclosão, foram submetidos ao embriodiagnóstico e os resultados da avaliação estão expressos na tabela 1.

**Tabela 1.** Embriodiagnóstico de codornas de corte suplementadas *in* ovo com ácido linoleico conjugado e ácido láurico após o décimo oitavo dia de incubação

Tratamento	Ovos incubados férteis	Nascimento	Mortes			
			Inicial	Intermediária	Tardia	Total
Controle OI	139	103	13	8	15	36
OM	127	93	9	13	12	34
CLA 120 mg	142	88	11	27	16	54
CLA 240 mg	146	93	15	22	16	53
AL 60 mg	132	83	11	16	22	49
AL 90 mg	153	104	15	22	12	49
<b>TOTAL</b>	<b>839</b>	<b>564</b>	<b>74</b>	<b>108</b>	<b>93</b>	<b>275</b>

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico.

Pelo embriodiagnóstico realizado é possível perceber, de forma descritiva, que houve maior mortalidade embrionária *in* ovos inoculados com CLA e AL, durante a fase intermediária de desenvolvimento, sendo que as inoculações com CLA proporcionaram maior índice de morte em comparação ao AL.

Aydin & Cook (2004), adicionaram diferentes níveis de CLA na dieta das matrizes e relataram mortes embrionárias em ovos de codornas de corte durante a incubação, e

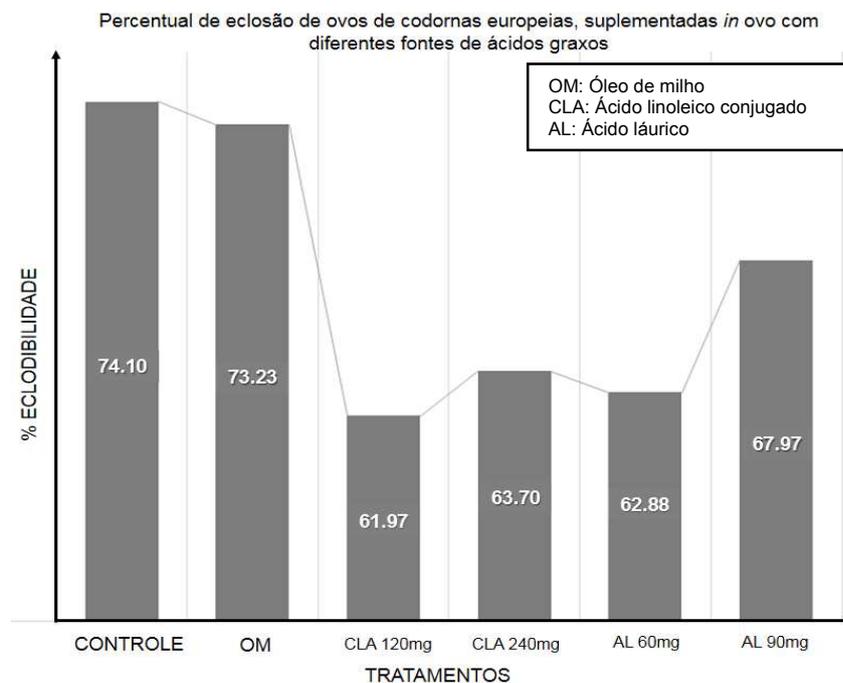
justificaram que tais consequências estariam relacionadas à alteração da relação entre ácidos graxos saturados e insaturados dentro do ovo.

Durante essa fase, o saco vitelínico fornece vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais e fosfolipídios para os embriões e são utilizados para a formação de tecidos, além de ser a única fonte energética disponível. Portanto, mudanças no conteúdo do saco vitelínico pode incidir em influência direta no embrião em desenvolvimento.

A suplementação alimentar em ração de matrizes de corte em níveis de 0,25% ou 0,50% de CLA não afetou significativamente os resultados de embriodiagnóstico (número de pintos mortos inicial, intermediário ou tardio), em comparação as aves que receberam a dieta controle, segundo relatado por Latour *et al.* (2000), mostrando que os efeitos adversos da toxicidade do CLA são diminutos quando ofertados via oral, em aves na fase de reprodução.

A figura 2 traz o gráfico de percentual de eclosão para caráter descritivo de acordo com os tratamentos. Pode-se perceber que os ovos íntegros pertencentes ao grupo controle (T1) apresentaram melhor percentual de eclosão (74,10%), assim como os ovos inoculados com óleo de milho (OM, T2 com 73,23%). Este resultado demonstra que uma possível interferência negativa na % eclodibilidade (abaixo de 70%), esteja relacionada com a inoculação de diferentes níveis, e não da aplicação da técnica da nutrição *in ovo*.

**Figura 2.** Gráfico de percentual de eclodibilidade dos ovos férteis incubados.



Fonte: Elabora com dados oriundos da presente pesquisa.

Mehr *et al.* (2014), também trabalharam com a inoculação *in ovo* de CLA na câmara de ar, porém em ovos de matrizes de frangos de corte. Contrariando os resultados encontrados nesta pesquisa, os autores observaram maior percentual de eclodibilidade com os tratamentos que foram inoculados com CLA, apresentando taxa de eclodibilidade de 90,2% nos ovos inoculados (níveis de 150 ppm de CLA) e 90,5%, nos ovos inoculados com 300 ppm de CLA.

Mesmo com a queda na eclodibilidade entre os tratamentos que receberam as inoculações com CLA e AL, é válido ressaltar que resultados similares para porcentagem de nascimento de codornas de corte, foram descritos por outros autores, com ou sem suplementação *in ovos* (PEDROSO *et al.*, 2006; CARNIER *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2015).

São escassas as pesquisas que abordam a nutrição *in ovo* de codornas. A grande parte dos trabalhos que empregaram a técnica até o presente momento trabalharam com frango de corte ou galinhas poedeiras e com nutrientes diversos. Pesquisas distintas com inoculações *in ovo* de frangos de corte mostram que a eclodibilidade varia de acordo com as substâncias inoculadas.

Campos *et al.* (2011), estudando o efeito da inoculação *in ovo* de solução salina 0,5%; solução de 2,0% de glicose + 2,0% de sacarose; solução de 2,5% de glicose + 3,0% de sacarose; solução de vitaminas e solução de minerais quelatados, relataram que houve diminuição na eclodibilidade, aumento do número de ovos bicados e não-nascidos, sendo que os ovos íntegros apresentaram maior porcentagem, com 93% de eclosão.

Porém, Ohta *et al.* (2001), trabalhando com ovos de matrizes de frango de corte, inocularam soluções contendo 18 aminoácidos (ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, glicina, alanina, valina, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histinina, argenina, prolina, triptofano e tirosina) dentro do saco vitelino dos ovos com 7 dias de incubação e observaram que a taxa de eclosão não foi afetada, quando avaliado a porcentagem de eclodibilidade na aplicação da técnica de inoculação *in ovo*.

Direferentemente, Al-Daraji *et al.* (2012), ao avaliarem a injeção de 2 e 3% de L-arginina em ovos férteis codornas de corte ou japonesa, perceberam uma melhora significativa na taxa de eclosão e peso vivo corporal inicial e final.

Além do período de estocagem dos ovos, outros fatores podem influenciar o peso do pintinho ao nascer, como a idade das aves reprodutoras e o tempo de incubação (SMITH & BOHREN, 1975; PAIVA *et al.*, 2010). Contudo, alguns autores relatam que a determinação do peso ao nascimento está mais vinculada ao peso do ovo (SILVERSIDES & SCOTT, 2001; TONA *et al.*, 2002).

O peso do ovo e o peso do pinto não obtiveram diferenças estatísticas ( $P>0,05$ ) de acordo com o exposto na tabela 2, em função dos tratamentos aplicados. Uma vez adotado o manejo de homogeneização dos ovos incubados, espera-se naturalmente que o peso do ovo não demonstre alterações significativas, mas a suplementação dos óleos poderiam afetar o peso do pinto ao nascer, como já registrado em estudo anterior realizado por Martins (2017), tal fato não observado na presente pesquisa.

**Tabela 2.** Médias e desvios padrão para peso do ovo, peso do pinto ao nascer e rendimento de pinto de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Parâmetros		
	Peso do ovo (g)	Peso do pinto (g)	Rendimento de pinto (%)
Controle OI	14,85±0,96	10,11±0,92	68,08
OM	14,58±1,10	10,12±0,75	69,41
CLA 120 mg	14,72±1,04	10,26±0,80	69,70
CLA 240 mg	15,04±1,07	10,24±0,87	68,09
AL 60 mg	14,88±1,04	10,19±0,89	68,48
AL 90 mg	14,68±1,20	10,11±0,97	68,87
P valor	0,4182	0,9168	---
CV (%)	7,35	8,71	---

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%).

O peso da codorna, principalmente no início da produção, influenciará o tamanho do ovo, que de acordo com Albino & Barreto (2003), é em média, de 11 e 14 g para as linhagens japonesa e europeia, respectivamente, sendo que o peso do pinto à eclosão tem relação direta com o peso do ovo, correspondendo de 62 a 76% deste peso (ALBINO & BARRETO, 2003; GUIMARÃES *et al.*, 2013). O rendimento de pinto das codornas entre os tratamentos estudados (tabela 2) apresentaram média geral de 68,77%, estando dentro do preconizado para a espécie, como abordado pelos autores acima.

Vieira *et al.* (2006), avaliaram o efeito de injeções de glutamina e de lisina sobre o parâmetros de desempenho em frangos de corte de 1 a 7 dias, e não constataram alteração no peso médio corporal das aves ao nascer. No entanto, Pedroso *et al.* (2006), aplicando a inoculação de ácido linoleico, glicose e glutamina em ovos de matrizes pesadas aos 16 dias de

incubação, observaram aumento da mortalidade embrionária e diminuição da eclodibilidade dos ovos em resposta à inoculação de ácido linoleico ou glicose.

Franco (2007), não verificou diferenças no peso absoluto do pinto provenientes de matrizes que receberam dieta sem CLA (controle) ou contendo 0,18%; 0,36% e 0,54% da mistura de isômeros de CLA. Em estudo similar, Silvério (2016) avaliou a inclusão de 0% e 0,023% de CLA na dieta de matrizes pesadas e, constatou pintinhos menores com a inclusão de CLA. De forma semelhante, Pedroso *et al.* (2006), obtiveram pintos mais leves com a inoculação *in ovo* de diferentes níveis de ácido linoleico.

A suplementação *in ovo* com ácido linoleico conjugado e ácido láurico não demonstraram influências ( $P>0,05$ ) sobre os resultados de desempenho zootécnico na fase de 1 a 21 dias, para nenhuma das variáveis analisadas (tabela 3).

**Tabela 3.** Médias e desvios padrão do consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de codornas de corte de 1 a 21 dias de idade suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Parâmetros		
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA (g/g)
Controle OI	226,14±7,45	122,60±4,14	1,84±0,071
OM	232,45±10,73	122,68±5,25	1,89±0,12
CLA 120 mg	234,15±29,39	126,83±4,72	1,84±0,18
CLA 240 mg	221,10±9,54	120,740±3,72	1,83±0,03
AL 60 mg	220,43±9,69	124,73±5,77	1,76±0,07
AL 90 mg	239,95±27,08	125,13±9,39	1,92±0,18
P valor	0,321*	0,5266	0,517*
CV (%)	5,84	4,69	4,22

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoléico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%). \*Teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

A literatura é extremamente escassa em informações sobre os efeitos do ácido láurico no desempenho zootécnico das aves e é um pouco mais promissora quando abordado o uso do ácido linoleico conjugado. Entretanto, utilizando a ferramenta de inoculação *in ovo*, pouco se tem a respeito dos ácidos graxos estudados na presente pesquisa.

A interferência da imunestimulação no desempenho de frangos de corte e suínos, foram descritas por alguns autores (HEVENER *et al.*, 1999; TAKAHASHI *et al.*, 2000;

RAHIMI *et al.*, 2011), em que há um pressuposto de efeitos adversos diante da necessidade do organismo animal em reparticionar mais nutrientes para o desenvolvimento dos órgãos imunológicos, reduzindo assim a disponibilidade de nutrientes para o crescimento.

As médias das variáveis CR, GP e CA similares, mostraram neste estudo, que o potencial de ação do CLA e do AL não acarretaram em prejuízos no desempenho dessas aves, que além de não observados diferenças significativas entre os tratamentos inoculados comparado aos ovos íntegros, no geral todos os grupos obtiveram índices zootécnicos dentro do preconizado para a espécie conforme Silva (2009) e Silva *et al.* (2012).

Latour *et al.* (2000), ofertaram CLA na dieta de matrizes de corte, a fim de verificarem o efeito nos pintinhos ao nascerem. Os autores relatam que houve alterações nas composições de ácidos graxos no fígado e na gema de pintos neonatais dessas matrizes, mas não alteraram o consumo de ração, peso dos ovos, fertilidade e eclodibilidade dos ovos, mortalidade e peso corporal dos pintos.

Ao avaliar a inoculação do CLA em ovos de frangos de corte, Mehr *et al.* (2014), observaram aumento do consumo de ração e ganho de peso das aves de 1 a 42 dias de idade, em comparação às aves que receberam inoculação com o diluente e sem inoculações. Os autores verificaram melhor resultado para conversão alimentar de aves que receberam maior nível de CLA (300 mg) comparado às aves que não receberam inoculações, ou inoculações com diluente e CLA 150 mg.

A suplementação com 5% de óleo de milho ou 5% de CLA purificado na dieta para frangos de corte machos, no período de 1 a 21 dias, foi estudada por Badinga *et al.* (2003). Os autores verificaram que as aves que receberam CLA purificado tiveram queda no consumo de ração, e conseqüentemente, valores reduzidos do ganho de peso médio diário resultando em pior conversão alimentar.

Fontes de óleos (soja, linhaça e sardinha) e sua relevância no desempenho e na imunidade de frangos de corte foram estudados por Pinto *et al.* (2004). Assim como nesta pesquisa, mesmo que de forma diferente ao suplementar, os autores verificaram que o tipo de óleo adicionado na dieta dos frangos não acarretou em influência nas variáveis de desempenho, como o ganho de peso e peso final.

Wignjoesastro *et al.* (1972), executaram um dos trabalhos pioneiros com o uso de óleo de coco na avicultura. Os autores estudaram os efeitos da inserção de 10% de óleo de coco nas rações de galinhas poedeiras Leghorn e obtiveram significância para o ganho de peso, em que as aves que receberam o óleo obtiveram 136 gramas, enquanto aquelas que não foram suplementadas com óleo de coco perderam 79 gramas.

De forma semelhante, para a fase de crescimento/final não houve efeito ( $P \geq 0,05$ ) das inoculações dos ácidos graxos (CLA e AL) *in ovo* de codornas de corte em relação ao tratamento sem inoculação (T1), tabela 4.

**Tabela 4.** Médias e desvios padrão para consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de codornas de corte de 22 a 35 dias de idade, suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Parâmetros		
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA (g/g)
Controle OI	318,51±20,78	90,19±7,00	3,54±0,31
OM	311,38±11,76	87,39±2,60	3,56±0,12
CLA 120 mg	326,39±12,66	91,18±4,68	3,58±0,18
CLA 240 mg	328,08±12,60	93,14±3,91	3,52±0,19
AL 60 mg	333,77±16,34	96,06±6,19	3,47±0,11
AL 90 mg	333,95±18,19	90,29±8,83	3,71±0,30
P valor	0,1216	0,2205	0,5473
CV (%)	4,84	6,46	6,21

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoléico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%).

Trabalhando com frangos de corte na fase final (22 aos 35 dias de idade), Ko *et al.* (2004), forneceram três dietas experimentais com diferentes combinações (1,5% de óleo de milho, 0,75% de óleo de milho mais 0,75% de CLA, e 1,5% de CLA), sendo todas isoenergéticas, e não observaram diferença para o ganho de peso dos animais.

Contudo, pode-se afirmar que os efeitos dos ácidos graxos no desempenho das aves dependem de vários fatores como níveis de inserção, espécie e manejo adotado.

É perceptível que as informações de literatura disponíveis atualmente sobre o uso de CLA e AL na nutrição de aves estão baseadas em pesquisas realizadas com frangos e poedeiras, que em comparação às codornas, tem uma visibilidade comercial extremamente maior. A razão disso pode estar atrelada ao mercado, que incita a produção de alimentos ricos em nutrientes, como ovos enriquecidos com CLA, principalmente, como também a entrega de uma carne com perfis de ácidos graxos benéficos à saúde do consumidor.

O peso vivo e os pesos dos cortes nobres das codornas de corte (peso do peito e de coxa + sobrecoxa) foram observados e não apresentaram diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as

suplementações *in ovo* com CLA e AL, em comparação aos ovos íntegros sem inoculação e os ovos inoculados somente com o diluïdor, na fase de incubação (tabela 5).

**Tabela 5.** Médias e desvios padrão para peso vivo (PV), peso absoluto de peito (PP) e peso absoluto de coxa+sobrecoxa (PCX+SB) de codornas de corte aos 35 dias de idade, suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Parâmetros		
	PV (g)	PP (g)	PCX+SB (g)
Controle OI	229,16±13,45	61,83±4,13	38,33±2,13
OM	227,33±4,17	61,16±0,98	37,75±1,36
CLA 120 mg	229,91±9,47	60,50±1,76	39,33±1,36
CLA 240 mg	230,83±9,55	61,16±1,96	39,08±2,49
AL 60 mg	242,25±6,97	67,66±4,72	41,08±2,51
AL 90 mg	228,33±9,02	60,58±3,98	38,00±2,96
P valor	0,0884	0,093*	0,142
CV (%)	3,98	2,01	5,71

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%). \*Teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Pessoti *et al.* (2004) forneceram diferentes níveis de CLA em dietas para machos e fêmeas da linhagem Ross, e reportaram significância da suplementação de CLA no peso final nas fêmeas. As fêmeas apresentaram médias maiores de peso e supostamente a resposta de tal efeito se deve a uma maior predisposição de adiposidade na carcaça inata das fêmeas.

As evidências da influência do CLA no peso corpóreo são explícitas (EVANS *et al.*, 2002) em que os efeitos do CLA na redução da gordura corporal ocorrem na fase de diferenciação dos adipócitos, pela diminuição no tamanho dessas células (PARK *et al.* 1997), no entanto, o mesmo efeito da suplementação *in ovo*, sobre o desempenho produtivo, não foram encontrados neste trabalho, havendo a necessidade de uma suplementação contínua após o nascimento.

Dietas ricas em ácido láurico e ácido mirístico proporcionaram maior peso de peito em frangos de corte comparados com o grupo controle, sem a suplementação dos ácidos graxos, conforme relatos de Zeitz *et al.* (2015).

Os órgãos de função metabólica, moela e coração, foram avaliados aos 21 e aos 35 dias de idade. As médias de peso absoluto do coração permaneceram sem efeito significativo ( $P > 0,05$ ) diante dos tratamentos estudados (Tabela 6). Já para o peso absoluto da moela pode-

se perceber diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os ovos íntegros em relação à inoculação com o CLA 240 mg e AL 60 mg na fase final.

**Tabela 6.** Médias e desvios padrão do peso absoluto de órgãos metabolicamente ativos de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico, aos 21 e aos 35 dias de idade

Tratamentos	Parâmetros			
	Coração (g)		Moela (g)	
	21 dias	35 dias	21 dias	35 dias
Controle OI	0,94±0,05	1,77±0,28	3,65±0,19	4,13±0,21*
OM	1,12±0,07	1,75±0,22	3,30±0,27	4,40±0,25
CLA 120 mg	0,95±0,12	1,74±0,12	3,62±0,45	4,13±0,21
CLA 240 mg	1,01±0,12	1,89±0,17	3,30±0,35	4,69±0,44*
AL 60 mg	0,98±0,14	1,93±0,28	3,53±0,41	4,75±0,33*
AL 90 mg	1,03±0,15	1,81±0,29	3,33±0,43	4,51±0,58
P valor	0,3256	0,6696	0,1553	0,0193
CV (%)	10,62	13,17	11,78	8,27

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%). \*Significativo ao nível de 5%.

A estrutura da moela está ligada diretamente aos alimentos consumidos pela ave e a otimização no aproveitamento do mesmo, afinal, este órgão influencia o consumo de ração pela redução de partícula. Portanto, maior peso de moela indica maior capacidade de maceração e mistura eficaz do bolo alimentar com frações enzimáticas de carboidrases (amilase) e, principalmente, com o muco que irá contribuir nos processos digestivos subsequentes. Assim, esse maior desenvolvimento da moela poderia proporcionar, melhor desempenho pela efetiva assimilação dos nutrientes presentes na ração.

Observou-se por meio dos contrastes ortogonais menor ( $P < 0,05$ ) peso médio da moela das aves que não receberam as inoculações de ácidos graxos *in ovo* (T1) e os demais tratamentos (com inoculações) (tabela 7).

**Tabela 7.** Teste F de contrastes ortogonais do peso médio da moela de codornas de corte aos 35 dias, suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Valor de F
Controle x Demais	0,0309
Controle x CLA 240	0,0118
Controle x AL 60	0,0061
CLA 120 x CLA 240	0,0129

OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico.

As aves suplementadas *in ovo* com AL 60 mg e CLA 240 mg obtiveram maior peso médio (4,75 e 4,69 g, respectivamente) da moela em relação àquelas que não receberam inoculações (4,13 g). Em relação às inoculações do CLA *in ovos* verifica-se que houve diferenças entre as dosagens para o peso da moela, ou seja, houve aumento do peso à medida que aumentou o nível de CLA.

Em lote misto de codornas europeias, Veras (2017), encontrou efeito significativo para o peso da moela aos 45 dias de idade com a inclusão de 2% de óleo de canola e 2% de óleo de coco, apresentando menor peso absoluto (3,72 e 3,42 g, respectivamente) em comparação aos valores médios verificados no presente estudo, em que todas as médias estiveram acima dos valores encontrados pela autora.

A literatura é ineficiente para respaldar com clareza o comportamento dos dados observados, principalmente sob o uso de ácido láurico. Por outro lado, Silvério (2016), averigou que pintos de um dia provenientes de matrizes de corte que receberam CLA (com inclusão de 0,023% na dieta) apresentaram maiores pesos absolutos de pró-ventrículo e moela, podendo indicar uma interferência precoce na produtividade, atrelada à suplementação desse ácido graxo.

Níveis diferentes dos avaliados nessa pesquisa devem ser explorados para verificar a influência do CLA e do AL no desempenho e nas características de carcaça, por meio da nutrição *in ovo*. Vários fatores podem interferir com o sucesso da técnica de nutrição *in ovo* e precisam ser explorados, como qual nutriente deve ser suplementado, a dosagem do mesmo, o local de inoculação no ovo e a data ideal para inoculação dos ovos na incubadora.

A explicação para a ausência de variações de resultados entre os tratamentos do presente experimento pode estar atrelada ao próprio método de suplementação, uma vez que, a maioria dos trabalhos anteriores que verificaram alterações quando utilizado tais ácidos, abordaram a inclusão via oral, e com uma frequência diária no plano de alimentação.

#### 4. CONCLUSÃO

O fornecimento de ácido linoleico conjugado e ácido láurico *in* ovos de codornas de corte não altera seu desempenho produtivo após nascimento, durante as fases inicial e de crescimento, assim como não altera as características de carcaça, porém pode estar associado a uma queda no percentual de eclodibilidade dos ovos. O peso médio da moela de aves oriundas dos ovos íntegros mostraram-se inferiores em comparação às aves que receberam as demais inoculações, e maiores pesos foram obtidos em aves que receberam as inoculações com CLA 240 e AL 60.

## REFERÊNCIAS

- AL-DARAJI, H. J.; AL-MASHADANI, A. A.; AL-HAYANI, W. K.; AL-HASSANI, A. S.; MIRZA, H. A. Effect of in ovo injection with L-arginine on productive and physiological traits of Japanese quail. **South African Journal of Animal Science**, v. 42, p. 139-145, 2012.
- ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Criação de codornas para a produção de ovos e carne**. Viçosa: Aprenda Fácil. 268 p., 2003.
- ARAÚJO, I. C. S.; MESQUITA, M. A.; ANDRADE, M. A.; CASTEJON, F. V.; CAFÉ, M. B.; ARNHOLD, E.; LEANDRO, N. S. M. Efeito do período e temperatura de armazenamento de ovos férteis sobre o rendimento de incubação e características de qualidade de codornas neonatas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n.6, p. 1693-1702, 2015.
- AYDIN, R.; COOK, M. E. The Effect of Dietary Conjugated Linoleic Acid on Egg Yolk Fatty Acids and Hatchability in Japanese Quail. **Poultry Science**, v. 83, p. 2016–2022, 2004.
- BADINGA, L.; SELBERG, K. T.; DINGES, A. C.; *et al.* Dietary Conjugated Linoleic Acid Alters Hepatic Lipid Content and Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 111-116, 2003.
- CAMPOS, A. M. A.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; SILVA, E. A.; ALBINO, L. F. T.; NOGUEIRA, E. T. Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.8, p.1712-1717, 2011.
- CAMPOS, A. M. A. **Efeito da inoculação in ovo de soluções nutritivas sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa. 67 pp, 2007.
- CARNEIR, T. C.; CARLESSO DOS SANTOS, T.; MURAKAMI, A. E.; ROSSI, R. M.; FANHANI, J. C.; STEFANELLO, C. Influência da idade dos reprodutores de codornas de postura na reprodução, na qualidade de ovos e na morfologia dos órgãos genitais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 2449-2465, 2014.

EVANS, M. E.; BROWN, J. M.; MCINTOSH, M. K. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, p. 508-516, 2002.

FIFE, Bruce Coconut Cures. Piccadilly Brooks, Ltd. pp. 184-185. ISBN 978-0-941599-603.2005.

FRANCO, E. Z. **Efeito do ácido linoléico conjugado na dieta de matrizes de corte e sua progênie.** (Dissertação de mestrado) Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria, p. 55, 2007.

GATTÁS, G. BRUMANO, G. Ácido linoleico conjugado (CLA). **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, p. 164-171, 2005.

GALINDO, R.; LISETTE, S. Embriodiagnosis y ovoscopia - análisis y control de calidad de los huevos incubables. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 6, n.3, p. 1-25, 2005.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 776-782, 2001.

GONZALES, E.; OLIVEIRA, A. S.; CRUZ, C. P. *et al.* In ovo supplementation of 25(OH)D3 to broiler embryos. In: European symposium on poultry nutrition, 2003, Lillehammer. **Anais...** Lillehammer: Science Association, 2003. p. 72-74.

HEVENER, W. P.; ROUTH, A.; ALMOND, G. W. Effects of Immune Challenge on Concentrations of Serum Insulin-like Growth Factor-I and Growth Performance in Pigs. **Canadian Veterinary Journal**, v. 40, p.782-786, 1999.

KO, Y. H.; YANG, H. Y; JANG, I. S. Effect of conjugated linoleic acid on intestinal and hepatic antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, p. 1162-1167, 2004.

LATOUR, M. A.; DEVITT A. A.; MEUNIER, R. A.; STEWART, J. J.; WATKINS, B. A. Effects of conjugated linoleic acid. 1. Fatty acid modification of yolks and neonatal fatty acid metabolism. **Poultry Science**, v. 79, p. 817-821, 2000.

LEITÃO, R. A.; LENDRO, N. S. M.; PEDROSO, A. A. *et al.* Efeito da suplementação de glicose in ovo sobre o desempenho inicial de pintos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, p. 69, 2005.

LIMA, A. C. F. *et al.* Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 200-207, 2003.

MARTINS, P. C. **Suplementação de ácido linoleico conjugado na dieta de matrizes de frango de corte e de sua progênie**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 179 p., 2017.

MEHR, M. A.; HASSANABADI, A.; MIRGHELENJ, S. A.; KERMANSHASI, H. Effects of in ovo injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broiler chickens. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.12, n. 2, p. 455-461, 2014.

MURAKAMI, A. E. Nutrição e alimentação de codornas em postura. In: Simpósio sobre nutrição e tecnologia da produção de rações, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas, p.19-38, 1998.

OHTA, Y.; KIDD, M. Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs. **Poultry Science**, v. 80, p. 1425-1429, 2001.

OHTA, Y.; KIDD, M.; ISHIBASHI, T. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 1430-1436, 2001.

OHTA, Y.; TSUSHIMA, N.; KOIDE, K.; KIDD, M.; ISHIBASHI, T. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. **Poultry Science**, v. 78, p. 1493-1498, 1999.

OLIVEIRA, N. T. E.; SILVA, M. A.; SOARES, R. T. N. *et al.* Exigências de proteína bruta e energia metabolizável para codornas japonesas machos criadas para a produção de carne. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, p. 196-203, 2002.

PARK, C. S.; MARX, G. D.; MOON, Y. S.; WIESENORN, D.; CHANG, K. C.; HOFMAN, V. L., 1997. Alternative uses of sunflower. In: Schneiter AA (ed) Sunflower technology and production - ASA, CSSA and SSSA International Annual Meetings. 1997. **Proceedings...** Madison, Wisconsin, pp765-807.

PINTO, M. F.; LIMA, V. M. F.; RIBEIRO, S. C. *et al.* Fontes de óleo na dieta e sua influência no desempenho e na imunidade de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.5, p. 409-414, 2014.

PEDROSO, A. A.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H.; CHAVES, L. S. Desenvolvimento embrionário e eclodibilidade de ovos de codornas armazenados por diferentes períodos e incubados em umidades e temperaturas distintas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 35, n.6, p. 2344-2349, 2006.

PESSOTTI, B. M. S.; CASAGRANDE, F. P.; COLNAGO, G. L.; ZANINI, S. F. Uso de ácido linoléico conjugado em dietas de frangos tratados com duas fontes de óleos sobre o metabolismo lipídico animal. *In*: VIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 2004, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade do Vale do Paraíba.

RAHIMI, S.; ZADEH, Z. T.; TORSHIZI, M. A. K.; OMIDBAIGI, R.; ROKNI, H. Effect of the Three Herbal Extracts on Growth Performance, Immune System, Blood Factors and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens. **Journal of agricultural science and technology**, v. 13, n. 4, p. 527-539. 2011.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Versão 3.5.2 "Eggshell Igloo", 2017.

REZENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; McMANUS, C. *et al.* Desempenho produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n.3, p. 353-358, 2004.

ROSTAGNO, H. S.; *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, 252p., 2011.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2ª Edição. Jaboticabal: Funep, 262 p., 2016.

SANTOS, A. L. S. *et al.* Níveis de inclusão de farinha de penas na dieta sobre o desempenho e características de carcaça de codornas para corte. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n.1, p.27-30, 2006.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e européias**. 2. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2009. 110p.

SILVA, J. H. V.; JORDÃO FILHO, J.; COSTA, F. G. P.; LACERDA, P. B.; VARGAS, D. G. V.; LIMA, M. R. Exigências nutricionais de codornas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p. 775-790, 2012.

SILVÉRIO, P. S. **Inclusão do CLA na dieta de matrizes de corte e tempos de armazenamento de ovos incubáveis sobre o rendimento da incubação e qualidade da progênie**. 2016. xix, 98 f., *il.* Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SILVERSIDES, F. G.; SCOTT, T. A. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. **Poultry Science**, v. 80, n. 11, p. 1240-1245, 2001.

TAKAHASHI, K. T., MASHIKO, Y.; AKIBA, Y. Effect of Dietary Concentration of Xylitol on Growth in Male Broiler Chicks during Immunological Stress. **Poultry Science**, v. 79, p. 743-747, 2000.

TONA, K.; BAMELIS, F.; DE KETELAERE, B.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E. Effect of induced molting on albumen quality, hatchability, and chick body weight from broilers breeders. **Poultry Science**, v. 81, n. 3, p. 327-332, 2002.

UNI, Z.; FERKET, P. R. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 1, p. 101-111, Mar. 2004.

VERAS, A. G. Rações enriquecidas com óleo de coco e óleo de canola no desempenho e perfil lipídico da carne de codornas europeias. 2017. 64f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

VIEIRA, B. S.; FARIA FILHO, D. E.; TORRES, K. A. A; *et al.* Administração *in ovo* de glutamina e de lisina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos na primeira semana pós-eclosão. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 3, p. 242-247, 2006.

WIGNJOSOESASTRO, N.; BROOKS, C. C. HERRICK, R. B. The Effect of Coconut Meal and Coconut Oil in Poultry Rations on the Performance of Laying Hens. **Avicultura**, v. 51, p.1126-1132, 1972.

WILLIAMS, C. M. *et al.* Isolation, identification and characteriazation of a feather degrading bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n.6, p.1509-1515, 1990.

WILLEMSEN, H.; DEBONNE, M.; SWENNEN, Q.; *et al.* Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. **World's Poultry Science**, v. 66, p. 177-188, 2010.

ZEITZ, J. O.; FENNHOFF, J.; KLUGE, H. Effects of dietary fats rich in lauric and myristic acid on performance, intestinal morphology, gut microbes, and meat quality in broilers. **Poultry Science**, v. 94, p. 2404-2413, 2015.

### CAPÍTULO 3 – ÓRGÃOS LINFOIDES DE CODORNAS DE CORTE SUPLEMENTADAS *IN OVO* COM FONTES ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E ÁCIDO LÁURICO

#### RESUMO

A técnica da nutrição *in ovo* permite fornecer nutrientes para as aves de forma precoce, podendo influenciar no desenvolvimento embrionário durante a incubação. Alguns ácidos graxos tem potencial de modular respostas imunes no organismo, favorecendo o desenvolvimento de certos órgãos linfóides. Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da suplementação *in ovo* com ácido linoleico conjugado (CLA) e ácido láurico (AL), sobre o desenvolvimento dos órgãos ligados às atividades imunes de codornas de corte no 21° e 35° dia de idade. Foram incubados 839 ovos férteis de codornas, após serem pesados, enumerados e distribuídos em delineamento inteiramente casualizados conforme os tratamentos experimentais: T1: Tratamento Controle, composto por ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluidor: óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL OM ; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM. Ao sétimo dia de incubação, os ovos foram inoculados com 0,05 mL do suplemento de acordo com os tratamentos. Após o nascimento, as aves foram pesadas e destinadas para composição dos seis tratamentos em seis repetições de 10 aves por parcela, totalizando em 360 aves. Adotou-se o manejo com desafio sanitário até os 35 dias. Aos 21° e 35° dia de idade foram avaliadas o peso absoluto dos órgãos linfóides (timo, baço e bursa de Fabrícus) e do fígado. Não houve influência ( $P>0,05$ ) do peso absoluto do fígado, baço, timo e bursa de Fabricius de codornas de corte quando avaliadas sob suplementação *in ovo* de ácido linoleico conjugado e ácido láurico *in ovo* aos 21 e 35 dias de idade.

**Palavras chave:** *Coturnix coturnix*, baço, Bursa de Fabrícus, fígado, timo.



### CHAPTER 3 – LYMPHOCIDAL ORGANS OF QUAIL SUPPLEMENTED IN EGG WITH SOURCES CONJUGATED LINOLEIC ACID AND LAURIC ACID

#### ABSTRACT

The in ovo nutrition technique allows to provide nutrients to the birds in an early manner, and can influence the embryonic development during the incubation. Some fatty acids have the potential to modulate immune responses in the body, favoring the development of certain lymphoid organs. The objective of this work was to evaluate the effects of in ovo supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) and lauric acid (LA) on the development of the organs linked to the immune activities of cut quails at the 21st and 35th days of age. 839 fertile quail eggs were incubated after weighing, enumerated and distributed in a completely randomized design according to the experimental treatments: T1: Control treatment, composed by whole eggs; T2: Eggs inoculated with diluent: corn oil (CO); T3: Eggs inoculated with CLA 120 mg/50 mL CO; T4: Eggs inoculated with CLA 240 mg/50 mL CO; T5: Eggs inoculated with LA 60 mg/50 mL CO and T6: Eggs inoculated with LA 90 mg/50 mL CO. On the seventh day of incubation, the eggs were inoculated with 0.05 ml of the supplement according to the treatments. After birth, the birds were weighed and destined to compose the six treatments in six replicates of 10 birds per plot, totaling 360 birds. Management with sanitary challenge was adopted up to 35 days. The absolute weight of the lymphoid organs (thymus, spleen and bursa of Fabrícus) and of the liver were evaluated at the 21st and 35th day of age. There was no influence ( $P>0.05$ ) on the absolute weight of the liver, spleen, thymus and Fabricius bursa of cut quails when evaluated under in vitro supplementation of conjugated linoleic acid and lauric acid in ovo at 21 and 35 days of age.

**Keywords:** Bursa of Fabrícus, *Coturnix coturnix*, liver, spleen, thymus.



## 1. INTRODUÇÃO

Frangos e codornas de corte são exemplos de aves domésticas as quais permanecem de 30 a 40% de sua vida útil dentro do ovo (HULET *et al.*, 2007). Portanto, qualquer atividade que cause interferência no desenvolvimento dos embriões tem poder de influenciar positivamente ou negativamente no desempenho produtivo e na saúde das mesmas após o nascimento. Estudos que viabilizam técnicas de manejo avançadas para as aves, ainda na fase de desenvolvimento embrionário tem sido objetivo de pesquisa nos últimos 20 anos.

Klasing (1998), revisando a modulação nutricional em função da resistência a doenças infecciosas, ressaltou que a nutrição pode impactar o desenvolvimento do sistema imunológico, tanto *in ovo* como nas primeiras semanas após a eclosão. O autor apontou que deficiências nos níveis de nutrientes disponíveis ou tipo de ingrediente utilizado pode afetar o desenvolvimento de eventos, como a formação de órgãos linfóides e a propagação de linfócitos, acarretando possível influência indesejável para o sistema imunológico das aves no decorrer de sua vida.

A utilização de imunoestimulantes é uma solução para melhorar a imunidade dos animais e diminuir sua suscetibilidade a quadro de doenças infecciosas (LIU, 1999). A resposta imune das aves pode ser modulada pelas características da dieta, em que pequenas alterações nos níveis nutricionais ou de ingredientes usados podem tornar a ave mais ou menos susceptível a doenças, como no caso de alguns ácidos graxos de potencial, tais como o ácido linoleico conjugado (CLA) e o ácido láurico (AL).

O CLA deriva do ácido linoleico, sendo um composto isomerado, presente em grandes quantidades nos lipídios do leite e no tecido muscular dos ruminantes (PREUSS *et al.*, 2013). É capaz de estimular a síntese de imunoglobulinas e reduzir a produção de citocinas proinflamatórias, desta forma modulando a resposta inflamatória (O'SHEA *et al.* 2004; DILZER & PARK, 2012; PREUSS *et al.*, 2013).

O AL, por sua vez, é altamente encontrado no óleo de coco, e, possui atividades imunológicas, sendo relatado em diversos trabalhos por suas propriedades antiviral, antibacteriana e antiprotozoários (BERGSSON *et al.*, 1998; RADZUAN *et al.*, 1999; GIL, 2003).

Órgãos linfóides como o baço, a bursa de Fabricius e o timo são de fundamental importância para as aves, pois em seus compartimentos ocorre o processo de maturação dos linfócitos B e T, respectivamente (BITTENCOURT, 2007). Uma das formas de avaliar a capacidade do sistema imunológico é a mensuração de seu desenvolvimento pelo órgãos, em que seu peso reflete a capacidade do organismo de produzir células de defesa durante um

desafio (POPE, 1991; FASINA *et al.*, 2006; ABDEL-FATTAH *et al.*, 2008) e seu aumento ocorre em presença de estímulo antigênico e em situações de estresse (DONKER & BEUVING, 1989; VOGT, 2005).

Assim, o presente estudo teve como objetivo, avaliar o desenvolvimento dos órgãos envolvidos com a atividade imune, de codornas de corte aos 21° e 35° dia de idade, suplementadas *in ovo* com ácido linoleico conjugado e ácido láurico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Incubatório e no Laboratório de Pesquisas com Animais Monogástricos, ambos pertencentes ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, nos meses de julho a setembro de 2018. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFVJM, com o protocolo nº 026/2017. Os períodos experimentais constaram da fase de incubação, com duração de 18 dias e fase de crescimento das aves, nas quais foram avaliadas aos 21 e aos 35 dias de idade.

Os ovos foram provenientes do lote de matrizes linhagem européia com 29 semanas de idade, do estabelecimento comercial “Granja Fujikura”, localizada em Suzano, SP. Todos os ovos foram inspecionados e submetidos à avaliação de qualidade externa da casca, na qual realizou-se a exclusão dos trincados ou com deformações, sendo posteriormente armazenados em temperatura ambiente.

Foram incubados 839 ovos férteis de codornas de corte, os quais passaram por seleção prévia, excluindo os ovos sujos, trincados ou disformes, descartando para a incubação, também, os ovos abaixo de 8 gramas e acima de 16 gramas. Após selecionados, foram enumerados com pincel para controle dos tratamentos e pesados em balança de precisão digital com sensibilidade de 0,001 kg.

Utilizou-se a incubadora da marca COPEMARQ, modelo Labo 13, previamente desinfetada e equipada com controle automático de temperatura, umidade e controle da viragem dos ovos, com capacidade de 4.000 ovos de codornas. A temperatura e a viragem foram controladas automaticamente por um termostato digital acoplado à máquina. A temperatura utilizada durante a incubação foi de 37,5 °C e a umidade relativa de 60%, aos 15 dias de incubação, os ovos foram transferidos para o nascedouro, com ajuste de temperatura para 36,5 °C e a umidade de 70%.

Os produtos Lipo-6 CLA, da marca comercial Nutrex Research, de concentração 1000 mg e o óleo de coco extravirgem, também disponível no comércio, na versão embalagem

de 200 mL, pertencente à marca Copra Coco, foram utilizados para o preparo das soluções a serem inoculadas. Os óleos comerciais foram pesados nas devidas proporções propostas e diluídos em 50 mL do diluïdor (óleo de milho) para a produção das soluções nos níveis desejados para a pesquisa.

Os tratamentos foram denominados de T1: Tratamento controle, composto por ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluïdor: óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL OM ; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM.

No sétimo dia de incubação os ovos receberam a inoculação *in ovo* dos tratamentos experimentais. O procedimento iniciou-se com a retirada dos ovos da incubadora, previamente marcados para distinção dos tratamentos, sendo manipulado um tratamento de cada vez. Após a desinfecção do local de aplicação do suplemento com solução etanol 100%, os ovos foram perfurados e injetados com 0,05 mL do suplemento, por meio de seringas descartáveis de 1 mL na região do albúmen, aproximadamente, 3 mm abaixo da casca adentrando pela ponta central na câmara de ar.

O procedimento completo para cada tratamento levou 40 minutos aproximadamente, dessa forma, para garantir que todos os tratamentos fossem submetidos ao mesmo período fora da incubadora, os ovos íntegros (T1) que compuseram esse tratamento também foram retirados da máquina pelo mesmo período.

No décimo quinto dia de incubação os ovos foram transferidos para o nascedouro, e, neste momento, alocados em pequenos sacos de tecido perfurado, composto em 100% de poliamida, com coloração distinta conforme o tratamento, a fim de que ao nascerem, as aves não se misturassem nas bandejas do equipamento.

A janela de nascimento ocorreu entre o décimo sétimo e décimo oitavo dia de incubação. Ao nascerem, as aves foram retiradas dos sacos, pesadas e selecionadas de acordo com a faixa média de peso, sendo transportados para o Laboratório de Pesquisas com Animais Monogástricos, e lá, acondicionadas em instalações compostas de gaiolas de arame galvanizado (60 cm de comprimento, 60 cm de largura e 35 cm de altura; 360 cm<sup>2</sup>/aves), contendo comedouro tipo calha, bebedouro tipo copo de pressão e lâmpadas incandescentes de 100 watts para manter o aquecimento, distribuídas de acordo com seus respectivos tratamentos.

Para as fases de criação, utilizou-se 360 codornas de corte, não sexadas, distribuídas em delineamento inteiramente casualizados, totalizando em seis tratamentos, com seis repetições de 10 codornas por parcela, sendo os tratamentos seguindo os mesmos da fase de incubação.

O fornecimento de água e ração para as codornas foram à vontade. As rações experimentais foram elaboradas com base em dietas convencionais para codorna de corte, igual para todas parcelas e formuladas a base de milho e farelo de soja, em atendimento das exigências nutricionais recomendadas por Silva & Costa (2009) e a composição nutricional dos ingredientes conforme descrito por Rostagno *et al.* (2017), sendo isoenergéticas e isoproteicas, elaboradas para a fase inicial de criação (1 a 21 dias) e fase final de crescimento (22 a 35 dias) (ANEXO 1).

Os dados climáticos foram monitorados diariamente as 8:00 e as 16:00 horas por meio de termômetros de máxima e mínima e de umidade relativa do ar e ao final da fase experimental foram calculadas as médias. O manejo diário consistiu na aferição das variáveis climáticas, fornecimento de ração, água e o acompanhamento diário das aves. Como forma de desafio sanitário para estímulo do sistema imune, foi adotado a não limpeza regular dos bebedouros e do piso das gaiolas (fornadas com jornal) e a ausência da execução do cronograma de vacinas indicadas para a espécie.

Aos 21º e 35º dias de idade foram retiradas duas aves de cada unidade experimental. As aves foram identificadas, pesadas individualmente e submetidas a jejum alimentar de seis horas. Logo após, foram abatidas por descolamento cervical, depenadas, evisceradas, efetuados os cortes e separação dos órgãos linfóides, sendo eles timo, baço e a bursa de Fabricius, e o fígado como órgão associado ligado ao sistema imonológico, expressos em gramas.

Para a coleta dos órgãos, inicialmente a pele sobre a musculatura do peito foi retirada e a incisão estendida pelo pescoço da ave, inserindo-se o bisturi no tecido cutâneo do pescoço e cortando-se até a mandíbula inferior. A pele incisada foi refletida para trás, para a coleta do timo. A junção do saco pericárdico ao esterno foi rompida e o esterno removido por si só. Neste ponto, o coração e o fígado foram expostos e coletados. Com a carcaça aberta, após a remoção e o descarte do trato gastrointestinal, a moela e o baço foram coletados. Na porção final do intestino, sobre a parede dorsal da cloaca, após identificação da bursa de Fabricius, esta foi coletada. Todos os órgãos foram pesados e descartados posteriormente.

Os resultados foram analisados por meio do programa R (R CORE TEAM, 2017) ao nível de 5% significância, sendo submetidos à análise para verificar o atendimento das pressuposições. Para verificar a distribuição normal dos erros, aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. A homocedasticidade foi avaliada pelo teste de Bartlett e a independência dos erros foi avaliada pelo teste Durbin-Watson. Quando necessário foi realizada a transformação dos dados pelo método Box-cox, após verificou-se as pressuposições com os dados transformados.

Após verificação das pressuposições, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) entre os tratamentos por meio do teste F, bem como os contrastes ortogonais para comparação dos resultados obtidos entre as aves que receberam os tratamentos controles com cada um dos níveis de suplementação dos ácidos graxos testados (CLA e AL) inoculados *in ovos*.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso absoluto dos órgãos linfóides (timo, baço, bursa da Fabricius) e do fígado, das aves que receberam a inoculação *in ovo* de OM, CLA e AL, comparados com aquelas que não receberam (tratamento controle, T1), não demonstrou efeito significativo ( $P>0,05$ ) para as fases de 21 e 35 dias de idade (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Médias de pesos absolutos e desvios padrão dos órgãos ligados ao sistema imunológico de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico em codornas de corte de aos 21 dias de idade

Tratamentos	Parâmetros			
	Timo (g)	Baço (g)	Bursa de Fabricuis (g)	Fígado (g)
Controle OI	0,31±0,09	0,08±0,01	0,15±0,01	3,91±0,25
OM	0,32±0,09	0,10±0,02	0,19±0,05	4,40±0,74
CLA 120 mg	0,37±0,16	0,09±0,02	0,16±0,04	3,92±0,73
CLA 240 mg	0,29±0,13	0,08±0,01	0,15±0,04	3,78±0,71
AL 60 mg	0,33±0,07	0,09±0,03	0,18±0,04	4,26±0,70
AL 90 mg	0,33±0,13	0,10±0,02	0,17±0,02	4,19±1,14
P valor	0,9242	0,3466	0,5720	0,6961
CV (%)	36,32	25,99	24,00	18,66

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%).

Sobrecargas contínuas de ácidos graxos podem alterar o peso do fígado, como também outras lesões, como a incidência de quadros inflamatórios. Considerando o exposto, pode-se presumir que a partir da observação deste órgão, no presente estudo, as aves apresentaram o fígado em bom estado de saúde. Isto pode estar atrelado ao tipo de metodologia utilizada (nutrição *in ovo*), sendo a quantidade de óleo inoculado insuficiente para gerar tais consequências na vida adulta das aves.

No caso do aumento do fígado associado à inflamação, também é possível considerá-lo saudável nas aves do presente estudo, com a ausência de diferenças no peso médio desse órgão. Nesse caso, o ambiente de criação e o manejo em desafio sanitário aplicado poderia ser precursor de tais danos, entretanto, o fígado das codornas avaliadas, não apresentaram alterações que pudessem ser associadas a quadros de enfermidades conhecidas, o que leva a pressupor uma equidade no desenvolvimento deste órgão, independente da inoculação de CLA ou AL.

**Tabela 2.** Médias de pesos absolutos e desvios padrão dos órgãos ligados ao sistema imunológico de codornas de corte suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico aos 35 dias de idade

Tratamentos	Parâmetros			
	Timo (g)	Baço (g)	Bursa de Fabricius (g)	Fígado (g)
Controle OI	0,44±0,16	0,13±0,03	0,30±0,03	4,51±0,84
OM	0,32±0,18	0,11±0,04	0,35±0,12	4,49±0,96
CLA 120 mg	0,37±0,16	0,14±0,03	0,31±0,05	4,44±1,06
CLA 240 mg	0,43±0,14	0,12±0,02	0,31±0,07	4,44±0,36
AL 60 mg	0,49±0,11	0,13±0,02	0,34±0,02	4,84±0,42
AL 90 mg	0,55±0,13	0,12±0,02	0,34±0,03	4,59±0,75
P valor	0,2286	0,5963	0,6080	0,1923
CV (%)	36,06	36,06	23,83	17,11

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%).

Fazendo o uso suplementar de CLA pela via oral, Badinga *et al.* (2003), estudaram as implicações do CLA (5%) e do óleo de milho (5%) na dieta de frangos de corte sobre o conteúdo lipídico hepático e a composição em ácidos graxos e perceberam aumento no peso do fígado (% do peso corporal) das aves suplementadas com CLA, em comparação à dieta contendo OM.

Em outro estudo, Pessoti *et al.* (2004), adicionaram 0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1% de CLA em duas dietas distintas quanto à fonte fornecedora (óleos de soja e de canola). Os autores observaram efeito significativo da interação (fonte de óleo x nível de CLA) com menor peso do fígado em fêmeas da linhagem Ross, com a utilização de diferentes níveis de CLA, sendo

0,25 a 1% de CLA na dieta com óleo de canola, e a explicação poderia ser o efeito da redução do acúmulo de gorduras creditado ao CLA.

Entretanto, Jang *et al.* (2004), forneceram dietas com três níveis de diferentes fontes de ácidos graxos (1,5% de óleo de milho; 0,75% de óleo de milho + 0,75% de CLA e 1,5% de CLA) para frangos de corte machos do 22º ao 35º dia de vida e concluíram que existem algumas evidências que a presença de CLA nos tecidos pode afetar o sistema de defesa antioxidante hepático, bem como o metabolismo lipídico no fígado, alterando o peso do órgão.

Assim, pode-se ressaltar que a determinação do peso do fígado das aves alimentadas com dietas contendo ácidos graxos deve ser minuciosa quanto à avaliação do cenário de criação, abordando o ambiente e as condições como um todo, uma vez que os óleos podem influenciar no tamanho dos adipócitos, bem como, na produção de células que atuam no sistema de defesa que originam-se no fígado.

Dilzer & Park (2002), afirmaram que o uso específico do CLA tem potencial para estímulo do desenvolvimento de órgãos linfóides como a bursa e o timo, uma vez que este ácido graxo influencia na proliferação linfocitária e por consequência, no aumento da produtividade de anticorpos, corroborando com DeLany *et al.* (1999), que descreveram o aumento do baço em ratos suplementados de CLA.

Outros trabalhos utilizando suplementações com diferentes fontes de óleo, porém via dieta, também não mostraram divergências entre os órgãos associados ao sistema imunológico em frangos de corte e codornas. Saeidi *et al.* (2016), avaliando os efeitos de ácidos graxos de cadeia média (ácido capríco < 3%, ácido caprílico = 30%, ácido cáprico = 56%, ácido láurico = 10%, outros ácidos graxos = < 0.03%) adicionados às dietas para codornas japonesas aos 42 dias de idade, com inclusão de 0, 1, 2 e 4% em substituição ao óleo de soja na ração, não observaram diferenças significativas para o peso do fígado, baço e bursa de Fabricius.

Já Mehr *et al.* (2014), verificaram aumento do peso relativo da bursa de Fabricius e do timo de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade, quando estudaram a inoculação de CLA *in ovos* em níveis de 150 e 300 mg e sugeriram que o CLA pode influenciar a mediação de células da imunidade em frangos.

Rahimi *et al.* (2011), avaliaram a ação de três extratos (*Thymus vulgaris*, *Echinacea purpúrea* e *Allium sativum*) e encontram um peso relativo da bursa de Fabricius superior para o grupo que recebeu extrato de alho, enquanto não obtiveram o mesmo resultado para o peso do baço. Esse aumento do peso da bursa condiz com a alta capacidade desse órgão em produzir células linfocitárias, em que o alho, por sua vez, é um forte estimulador do sistema imune, já o

baço, por estar associado com quadros inflamatórios já estabelecidos, leva a concluir com base nesse parâmetro, que as aves experimentais no presente estudo mantiveram-se saudáveis.

Laganá (2005), enfatiza que estresse crônico pode levar a concentrações séricas aumentadas de corticosteróides em que estes, podem causar por consequência atrofia do timo e da bursa, pelo mecanismo conhecido como apoptose ou morte programada das células linfóides. Geralmente quadros de estresse manifestam-se com diferentes graus de involução do sistema linforreticular, sendo que a liberação de corticosterona pode ocasionar a involução do tecido linfóide e a supressão da imunidade humoral e celular (ROSALES *et al.*, 1989; ZULKIFLI & SIEGEL, 1995).

Borato (2004) ressalta que as condições de criação na avicultura podem influenciar de forma direta na eficiência das soluções nutritivas suplementadas e/ou a ação dos aditivos promotores de crescimento. Lima *et al.* (2003) reforçam a importância da presença de situações de desafio sanitário para a obtenção dos efeitos da suplementação. Dessa forma, o desafio proposto nesta pesquisa pode ter sido eventualmente insuficiente para que houvesse uma resposta efetiva que se sobressaísse entre os tratamentos estudados.

A inoculação dos ácidos graxos via administração *in ovo* na presente pesquisa, visou explorar seus possíveis efeitos com propriedades moduladoras da resposta imune, além da própria capacidade da ave em responder aos desafios impostos na criação, com resultados satisfatórios para o desempenho produtivo. No entanto, para os órgãos avaliados não observou-se diferenças quanto ao peso absoluto. Possivelmente os níveis dos ácidos graxos inseridos nos ovos tenham sido insuficientes para desencadear as respostas consideráveis no desenvolvimento de órgãos do sistema imunológico e, ou, ainda, o ambiente de criação não exigiu das aves que tais efeitos fossem expressos.

#### **4. CONCLUSÃO**

A inoculação *in ovo* de ácido linoleico conjugado e ácido láurico não demonstrou influência sob o peso absoluto do fígado, baço, timo e bursa de Fabricius de codornas de corte avaliadas aos 21 e 35 dias de idade.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, S.A. *et al.* Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. **International Journal Poultry Science**, v. 7, p. 215-222, 2008.
- AL-MURRANI, W. K.; KASSAB, A.; AL-SAM, H. Z.; AL-ATHARI, A. M. K. Heterophil/lymphocyte ratio as a selection criterion for heat resistance in domestic fowls. **British Poultry Science**, v. 38, p. 159-163, 1997.
- BADINGA, L.; SELBERG, K. T.; DINGES, A. C.; *et al.* Dietary Conjugated Linoleic Acid Alters Hepatic Lipid Content and Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 111–116, 2003.
- BERGSSON, G.; AMFINNSSON, J.; KARLSSON, S. N. *In vitro* inactivation of Chlamydia trachomatis by fatty acids and monoglycerides. **Antimicrobial Agent and Chemotherapy**, v. 42, p. 2290-2294, 1998.
- BITTENCOURT, L. C. **Efeitos da utilização de probiótico sobre parâmetros da resposta imune, hematológicos e de desempenho de frangos de corte.** 2007 99 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BORATTO, A. J. Uso de antibióticos, e probióticos e de homeopatia, inoculados ou não com Escherichia coli para frangos de corte criados em conforto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1477-1485, 2004.
- BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, p. 975-981, 2003.
- DELANY, J. P.; BLOHM, F.; TRUETT, A. A.; *et al.* Conjugated linoleic acid rapidly reduce body fat content in mice without affecting energy intake. **American Journal of Physiology**, v. 276, p. 1172-1179, 1999.
- DILZER, A.; PARK, Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, p. 488-513, 2012.

DONKER, R. A. E.; BEUVING, G. Effect of corticosterone infusion on plasma corticosterone concentration, antibody production, circulating leukocytes and growth in chicken lines selected for humoral immune responsiveness. **British Poultry Science**, v. 30, p. 361-369, 1989.

FASINA, Y. O. *et al.* Response of Turkey poults to soybean lectin levels typically encountered in commercial diets. 2. Effect on intestinal development and lymphoid organs. **Poultry Science**, v. 85, p. 870–877, 2006.

GIL, O. L. M. Ácido láurico: componente bioactivo del aceite de palmiste. Revista Palmas - Vol. 24 No. 1.2003, 79-83. <<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/954>>.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, v. 27, p. 972-979, 1983.

HULET, R. M; GLADYS, G.; MEIJERHOF, R.; EL-SHICKH, T. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. **Poultry Science**, v. 86, p. 408-412, 2007.

JANG, I. S.; KO, Y. H.; KANG, S. Y.; LEE C. Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 304-315, 2004.

KABARA, J. J. Nutraceuticals from Tropical Oils. In: 9º Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites de la AOCS, 2001.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infections diseases. **Poultry Science**, p. 1119-1125, 1998.

LAGANÁ, C. **Otimização da produção de frangos de corte em condições de estresse por calor**. 2005. 180f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

LANDERS, K.L.; MOORE, R.W.; DUNKLEY, C.S.; *et al.* Immunological cell and serum metabolite response of 60- week-old commercial laying hens to an alfalfa meal molt diet. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 604-608, 2007.

LIMA, A. C. F. *et al.* Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 200-207, 2003.

LIU, X. Y. Stress and Immunity. In: "Poultry Immunology", (Ed.): Yin, T. B. China Agriculture Press, Beijin. p. 230-252, 1999.

MAXWELL, M.H. Avian blood leukocyte responses to stress. **World's Poultry Science Journal**, v. 49, p. 34-43, 1993.

MEHR, A. M.; *et al.* Effects of *in ovo* injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broiler chickens. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.12, n. 2, p. 455-461, 2014.

NOY, Y., SKLAN, D. Nutrient use in chicks during the first week posthatch. **Poultry Science**, v. 81, n.3, p. 391-399, 2002.

O'SHEA, M. *et al.* Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p. 199-206, 2004.

PESSOTTI, B. M. S.; CASAGRANDE, F. P.; COLNAGO, G. L.; ZANINI, S. F. Uso de ácido linoléico conjugado em dietas de frangos tratados com duas fontes de óleos sobre o metabolismo lipídico animal. **Anais...VIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.**

POPE, C. R. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 30, p. 31-44, 1991.

PREUSS, M. B.; ROHLFES, A. L. B.; BACCAR, N. M.; *et al.* Ácido linoleico conjugado: Uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 3, n. 2, p. 134-146, 2013.

RADZUAN. J.; NOR, I. A.; YUSOFF, M. S. A. Medium Chain Triglycerides: A Brief Review. **Porim Bulletin**, v.4, p. 33-38, 1999.

RAHIMI, S.; ZADEH, Z. T.; TORSHIZI, M. A. K.; OMIDBAIGI, R.; ROKNI, H. Effect of the Three Herbal Extracts on Growth Performance, Immune System, Blood Factors and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens. **Journal of agricultural science and technology**, v. 13, n. 4, p. 527-539. 2011.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Versão 3.5.2 "Eggshell Igloo", 2017.

ROSALES, A. G.; VILLEGAS, P.; LUKERT, P. D.; MOHAMED, A. M.; BROWN, J. Isolation, identification and pathogenicity of two field strains of infectious Bursal Virus. **Avian Disease**, Athens, v. 33, n.1, p. 35-41, 1989.

RUIZ, G.; ROSENMAN, M.; NOVOA, F.F., SABAT, P. Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. **Cooper Ornithological Society**, v. 104, p.162-166, 2002.

SAEIDI, E.; SHOKROLLAHI, B.; KARIMI, K. & AMIRI-ANDI, M. Effects of médium chain fatty acids on performance, carcass characteristics, blood biochemical parameters and immune response in Japanese quail. **British Poultry Science**, v. 57, p. 358-363, 2016.

SCOPE, A.; FILIP, T.; GLABER, C.; RESCH, F. The influence of stress from transport and handling on hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba ivia domestica*). **Avian Diseases**, v. 46, p. 224-229, 2002.

SILVÉRIO, P. S. **Inclusão do CLA na dieta de matrizes de corte e tempos de armazenamento de ovos incubáveis sobre o rendimento da incubação e qualidade da progênie**. Dissertação de mestrado. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 98p.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e européias**. 2. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2009. 110p.

SOUZA, I. O. T.; LIMA, D. C. P.; LEAL, A. B. G. *et al.* Avaliação de vitamina E em rações para frangos de corte estressados por calor: parâmetros fisiológicos. XX Seminário de Iniciação Científica e III Seminário em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. Universidade Federal do Piauí - UFPI Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI, 2011.

VERAS, A. G. **Rações enriquecidas com óleo de coco e óleo de canola no desempenho e perfil lipídico da carne de codornas europeias**. 2017. 64f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

VLECK, C. M.; VERTALINO, N.; VLECK, D.; BUCHER, T. L. Stress, Corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios. In: Free-living Adelle Penguins. **Cooper Ornithological Society**, v. 102, p. 392-400, 2000.

VOGT, L. K. **Avaliação da imunocompetência e alternativas para a modulação nutricional de frangos de corte**. 2005. 160 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ZULKIFLI, I.; SIEGEL, P.B. Is there a positive side of stress? **Poultry Science**, v. 51, p. 63-76, 1995.



## **CAPÍTULO 4 – PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO DE CODORNAS DE CORTE SUPLEMENTADAS *IN OVO* COM FONTES DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO E ÁCIDO LÁURICO**

### **RESUMO**

Ácidos graxos podem modular diferentes respostas nas aves, podendo interferir na atividade de diferentes órgãos. A análise do perfil bioquímico do sangue indicam parâmetros para avaliar o funcionamento adequado do organismo, sendo importantes para tomada de decisões no correto manejo em prol da saúde dos animais. Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da suplementação *in ovo* com o ácido linoleico conjugado (CLA) e o ácido láurico (AL), sobre o perfil bioquímico de codornas de corte aos 21 e 35 dias de idade. Foram incubados 839 ovos férteis de codornas, após serem pesados, enumerados e distribuídos em delineamento inteiramente casualizados conforme os tratamentos experimentais: T1: Tratamento controle, composto por ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluidor: óleo de milho (OM); T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL OM; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM; T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM. Ao sétimo dia de incubação, os ovos foram inoculados com 0,05 mL do suplemento de acordo com os tratamentos. Após o nascimento, as aves foram pesadas e destinadas aos seis tratamentos com seis repetições de 10 codornas por parcela, totalizando de 360 aves. Aos 21 e 35 dias de idade, foram coletadas amostras sanguíneas para averiguar o perfil bioquímico sanguíneo (ALT, AST, colesterol total, HDL e triglicérides). Não houve efeito significativo para as variáveis analisadas, exceto para teor de colesterol total no sangue das aves aos 21 dias. Para a fase final observou-se efeito significativo apenas para os teores de colesterol total e AST no sangue. Em geral, conclui-se que as suplementações de CLA *in ovos* reduzem o teor de colesterol total no sangue das aves em ambos os níveis avaliados. No entanto, a suplementação com o AL aumenta os níveis de colesterol total. As inoculações em ovos com CLA e AL em ambos os níveis reduziram os teores de AST no sangue das codornas aos 35 dias de idade, em comparação ao tratamento controle e ao T2. Ovos inoculados com CLA reduzem o teor de AST no sangue das aves aos 35 dias, em relação àqueles que foram inoculadas com AL.

**Palavras chave:** ALT, AST, colesterol total, HDL, triglicérides.



## **CHAPTER 4 – BIOCHEMICAL PROFILE OF QUAIL SUPPLEMENTED IN EGG WITH SOURCES CONJUGATED LINOLEIC ACID AND LACURIC ACID**

### **ABSTRACT**

Fatty acids can modulate different responses in birds, and may interfere with the activity of different organs. The analysis of the biochemical profile of the blood indicates parameters to evaluate the proper functioning of the organism, being important for decision making in the correct management for the health of the animals. The objective of this work was to evaluate the effects of in ovo supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) and lauric acid (LA) on the biochemical profile of cut quails at 21 and 35 days of age. 839 fertile quail eggs were incubated after weighing, enumerated and distributed in a completely randomized design according to the experimental treatments: T1: Control treatment, composed by whole eggs; T2: Eggs inoculated with diluent: corn oil (CO); T3: Eggs inoculated with CLA 120 mg/50 mL CO; T4: Eggs inoculated with CLA 240 mg/50 mL CO; T5: Eggs inoculated with LA 60 mg/50 mL CO; T6: Eggs inoculated with LA 90 mg/50 mL CO. On the seventh day of incubation, the eggs were inoculated with 0.05 ml of the supplement according to the treatments. After birth, the birds were weighed and assigned to the six treatments with six replicates of 10 quails per plot, totaling 360 birds. At 21 and 35 days of age, blood samples were collected to determine the blood biochemical profile (ALT, AST, total cholesterol, HDL and triglycerides). There was no significant effect for the analyzed variables, except for the total blood cholesterol content of the birds at 21 days. For the final phase, a significant effect was observed only for the levels of total cholesterol and AST in the blood. In general, it is concluded that CLA in egg supplementation reduces the total blood cholesterol content of birds at both evaluated levels. However, LA supplementation increases total cholesterol levels. Egg inoculations with CLA and LA at both levels reduced AST levels in quail blood at 35 days of age compared to control treatment and T2. Eggs inoculated with CLA reduced the AST content in birds' blood at 35 days, compared to those that were inoculated with LA.

**Keywords:** ALT, AST, HDL, triglycerides, total cholesterol.



## 1. INTRODUÇÃO

Desde a década de 90, a coturnicultura tem crescido e ganhado destaque como uma opção de atividade produtiva dentro do cenário agropecuário no Brasil (ALBINO & BARRETO, 2003).

Entretanto, o setor carece em pesquisas sobre o estado imunológico das codornas, principalmente no que se refere aos desafios sanitários a que são submetidas essas aves em granjas comerciais. Poucos são os trabalhos de literatura que aprenam o perfil bioquímico das codornas, no entanto, em outras espécies de aves já se mostra como uma ferramenta bastante utilizada visando o estudo da imunologia.

Sousa (2016), estudando os constituintes bioquímicos séricos de codornas japonesas em diferentes idades, aponta que na avicultura o uso desta ferramenta está limitado a lotes comerciais, pois muitas vezes não se conta com valores de referência para explorações avícolas, assim, torna-se uma dificuldade frequente, uma vez que muitos dos dados são obtidos a partir de indivíduos ou grupos experimentais, e não de populações como um todo.

Para tornar as comparações efetivas, há também a preocupação de que grande fração dos dados obtidos são originados de amostras com número de animais limitados, interferindo nos procedimentos estatísticos. Além disso, deve-se atentar para a influência de características específicas como a idade, o sexo, e a fase produtiva dos animais amostrados, que geram impactos nos resultados (BOWES *et al.*, 1989).

Assim, González & Silva (2006), enfatizam a importância de que mais trabalhos sejam aplicados, gerando um banco de dados de referência para o perfil bioquímico de codornas. O perfil bioquímico sérico das aves, como em outras espécies, deve ser atribuído como uma ferramenta que contribui para o diagnóstico de possíveis quadros de doenças, mas não somente a leitura das concentrações podem ser levadas em consideração, e sim, em combinação com o histórico do caso, o exame clínico, e as lesões observadas no animal (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

O manejo nutricional das dietas pode atuar como modulador das atividades imunes do organismo, produzir respostas específicas, fortalecer naturalmente a imunidade e melhorar assim o desempenho das aves frente aos desafios sanitários presentes no sistema de criação. Essa ferramenta pode ser utilizada não somente contra patógenos imunodepressivosmas, também, para manutenção do estado de saúde das aves de alta produção, sem sobrecarga do sistema de defesa, como no caso de alguns ácidos graxos de alto potencial nutracêutico.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o perfil bioquímico sanguíneo de codornas de corte, suplementadas *in ovo* com ácido linoleico conjugado e ácido láurico aos 21 e 35 dias de idade.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado durante os meses de julho a setembro de 2018, no Campus JK, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFVJM, com o protocolo nº 026/2017. Os períodos experimentais constaram da fase de incubação dos ovos, com duração de 18 dias e fase de crescimento das aves, as quais foram avaliadas de 1 a 21 e 22 a 35 dias de idade.

Os ovos foram provenientes do lote de matrizes da linhagem européia com 29 semanas de idade, do estabelecimento comercial “Granja Fujikura”, localizada em Suzano, SP. Foram incubados 839 ovos férteis de codornas de corte, os quais passaram por seleção prévia, excluindo os ovos sujos, trincados ou disformes, sendo posteriormente armazenados em temperatura ambiente. Os ovos foram enumerados com pincel para controle dos tratamentos e pesados em balança de precisão digital, com sensibilidade de 0,001 kg.

Utilizou-se a incubadora da marca COPEMARQ, modelo Labo 13, previamente desinfetada e equipada com controle automático de temperatura, umidade e controle da viragem dos ovos, com capacidade de 4.000 ovos de codornas. A temperatura e a viragem foram controladas automaticamente por um termostato digital acoplado à máquina. A temperatura utilizada durante a incubação foi de 37,5 °C e a umidade relativa de 60%, aos 15 dias de incubação, os ovos foram transferidos para o nascedouro, com ajuste de temperatura para 36,5 °C e a umidade de 70%.

Para a suplementação do CLA foi utilizado o produto Lipo-6 CLA, da marca comercial Nutrex Research, de concentração 1000 mg e para a suplementação do AL, a fonte utilizada foi óleo de coco extravirgem, versão embalagem de 200 mL, pertencente a marca Copra Coco.

Para composição dos tratamentos com os suplementos em níveis desejados na pesquisa, os óleos comerciais foram pesados nas devidas proporções e diluídos em 50 mL do diluente (óleo de milho). Os tratamentos avaliados foram: T1: Tratamento controle, composto por ovos íntegros; T2: Ovos inoculados com diluente: óleo de milho (OM) ; T3: Ovos inoculados com CLA 120 mg/50 mL OM; T4: Ovos inoculados com CLA 240 mg/50 mL OM

; T5: Ovos inoculados com AL 60 mg/50 mL OM e T6: Ovos inoculados com AL 90 mg/50 mL OM.

No sétimo dia de incubação os ovos receberam a inoculação *in ovo* dos tratamentos experimentais. O procedimento iniciou-se com a retirada dos ovos previamente marcados para distinção dos tratamentos, sendo manipulado um tratamento de cada vez. Após a desinfecção do local de aplicação do suplemento com solução etanol 100%, os ovos foram perfurados e injetados com 0,05 mL do suplemento, por meio de seringas descartáveis de 1 mL na região do albúmen, aproximadamente, 3 mm abaixo da casca.

O procedimento completo para cada tratamento levou 40 minutos aproximadamente, dessa forma, para garantir que todos os tratamentos fossem submetidos ao mesmo período fora da incubadora, os ovos íntegros (T1) que compuseram esse tratamento também foram retirados da máquina pelo mesmo período.

No décimo quinto dia de incubação os ovos foram transferidos para o nascedouro, e, neste momento, alocados em sacos de tecido perfurado, composto em 100% de poliamida, tecido de filó, com coloração distinta conforme o tratamento, a fim de que ao nascerem, as aves não se misturassem nas bandejas do equipamento.

A janela de nascimento ocorreu entre o décimo sétimo e décimo oitavo dia de incubação. Ao nascerem, as aves foram retiradas dos sacos, pesadas e selecionadas de acordo com a faixa média de peso, sendo transportadas para o galpão experimental e alojadas nas instalações compostas de gaiolas de arame galvanizado (60 cm de comprimento, 60 cm de largura e 35 cm de altura; 360 cm<sup>2</sup>/ave), contendo comedouro tipo calha, bebedouro tipo copo de pressão e lâmpadas incandescentes de 100 watts para manter o aquecimento.

Para as fases de criação, utilizou-se 360 codornas de corte, não sexadas, distribuídas em delineamento inteiramente casualizados, totalizando em seis tratamentos, com seis repetições de 10 codornas por parcela, sendo os tratamentos seguindo os mesmos da fase de incubação.

O fornecimento de água e ração para as codornas foram à vontade. As rações experimentais foram elaboradas com base em dietas convencionais para codorna de corte, sendo a mesma para todas as parcelas e formuladas a base de milho e farelo de soja, em atendimento das exigências nutricionais recomendadas por Silva & Costa (2009) e a composição nutricional dos ingredientes conforme descrito por Rostagno *et al.* (2017), sendo isoenergéticas e isoproteicas, elaboradas para a fase inicial de criação (1 a 21 dias) e fase final de crescimento (22 a 35 dias) (ANEXO).

As variáveis climáticas foram monitoradas diariamente as 8:00 e 16:00 horas por meio de termômetros de máxima e mínima e de umidade relativa do ar e ao final da fase experimental foram calculadas as médias. O manejo diário consistiu na aferição das variáveis climáticas, fornecimento de ração, água e o acompanhamento das aves. Como forma de desafio sanitário para estímulo do sistema imune, foi adotada a não limpeza regular dos bebedouros e do piso das gaiolas (forradas com jornal) e a ausência da execução do cronograma de vacinas indicadas para a espécie.

Aos 21 e aos 35 dias de idade foram retiradas duas aves de cada unidade experimental para coleta de amostras sanguíneas. As aves foram pesadas e selecionadas entre as faixas de 10% acima e abaixo do peso médio da parcela e marcadas previamente com anilha adesiva, sendo posteriormente submetidas a jejum de 8 horas.

Para o procedimento da coleta de sangue, foram utilizadas seringa descartáveis de 3 mL. As codornas foram contidas por meio da imobilização, sendo puncionado levemente o pescoço para identificação do melhor posicionamento da veia jugular, e coletado aproximadamente 1,5 mL de sangue de cada animal. O sangue coletado foi armazenado em tubos ependorfs identificados de acordo com a ave e a parcela, e em seguida acondicionados em suporte para período de descanso em temperatura ambiente por cerca de 30 minutos, com intuito de formação do soro. Após este período, as amostras nos ependorfs foram submetidas a centrifugação a 3000 rpm, durante 10 minutos, e por fim, levados ao congelamento à -20°C, sendo armazenadas até o momento da análise.

As análises sanguíneas foram realizadas em duplicatas e aferiram-se os seguintes componentes bioquímicos séricos: Alanina-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST), triglicerídes, colesterol total e lipoproteínas de alta densidade (HDL). Para a mensuração do triglicerídes, do colesterol total e do HDL aplicaram-se o método enzimático-colorimétrico (trinder) utilizando-se kits de reagentes Labtest para determinação quantitativa no soro. Entretanto, para as análises das variáveis ALT e AST, utilizou-se o método cinético-UV. Para todas as análises os kits utilizados foram da marca GOLD ANALISA DIAGNÓSTICA LTDA e os procedimentos laboratoriais seguiram as recomendações da bula, segundo o fabricante.

A leitura de todas as amostras foram realizadas no analisador bioquímico semi-automático modelo PW-3000M, da marca PIOWAY Medial lab. Todos os procedimentos das análises laboratoriais foram supervisionados por técnicos farmacêuticos.

Os resultados foram analisados por meio do programa R (R CORE TEAM, 2017) ao nível de 5% significância, sendo submetidos à análise para verificar o atendimento das

pressuposições. Para verificar a distribuição normal dos erros, aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. A homocedasticidade foi avaliada pelo teste de Bartlett e a independência dos erros foi avaliada pelo teste Durbin-Watson. Quando necessário foi realizada a transformação dos dados pelo método Box-cox, após verificou-se as pressuposições com os dados transformados.

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para variáveis que não atendiam às pressuposições. E para aquelas que atenderam os pressupostos foram aplicadas a análise de variância (ANOVA) entre os tratamentos por meio do teste F, bem como os contrastes ortogonais para comparação dos resultados obtidos entre as aves que receberam os tratamentos controles com cada um dos níveis de suplementação dos ácidos graxos testados (CLA e AL) inoculados *in* ovos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias das leituras das amostras sanguíneas coletadas nas aves aos 21 e aos 35 dias de idade, nos diferentes tratamentos, estão expressas na tabela 1. Não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) do perfil bioquímico de codornas que receberam os tratamentos com inoculação *in* ovo com diluente (OM), CLA e AL e sem inoculações desses ácidos graxos, exceto para níveis de colesterol total aos 21 e colesterol total e AST aos 35 dias de idade, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

Observou-se que codornas de corte que receberam as inoculações *in* ovo, com CLA 240 mg, apresentaram menor teor (147,37 mg/dl) de colesterol total no sangue em relação àquelas inoculadas com CLA 120 mg (180,98 mg/dl) aos 21 dias de idade. Esse resultado pode ser justificado pelo efeito que o CLA possui no organismo animal, em reduzir os níveis de lipídios por meio do seu potencial de alteração na expressão gênica de enzimas lipogênicas, dentre outros papéis no metabolismo lipídico.

Mesmo que o mecanismo de ação ainda não esteja elucidado claramente, o CLA demonstrou regular os lipídeos do metabolismo pela ligação e ativação do PPAR- $\alpha$  (MOYA-CAMARENA *et al.*, 1999), que é uma proteína receptora durante processos de transcrição e um importante regulador do metabolismo lipídico no fígado levando à redução das concentrações de triacilglicerol e colesterol sanguíneo (KONIG *et al.*, 2007).

Entre as pressuposições associadas ao CLA e os lipídeos em sua atividade metabólica, estão a diminuição da proliferação e diferenciação de pré-adipócitos, diminuição da esterificação de ácidos graxos em triacilgliceróis, aumento do gasto energético, aumento da lipólise, alteração da atividade das enzimas carnitina palmitoiltransferase e lipase lipoprotéica

e da concentração do hormônio leptina, entre outros (WANG; JONES, 2004), e tais mecanismos foram retratados em modelos animais (PARK *et al.* 1997; RYDER *et al.*, 2001; GAZE *et al.*, 2007) na perspectiva de exploração da composição corporal.

**Tabela 1.** Perfil sérico bioquímico de codornas de corte, aos 21 e aos 35 dias de idade, que foram suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Parâmetros (mg/dL) aos 21 dias de idade				
	Colesterol Total	HDL	TRI	ALT	AST
Controle OI	171,26±24,78	58,07±19,16	116,32±31,72	14,51±7,73	162,81±21,06
OM	159,04±16,62	43,12±30,67	127,40±33,22	10,46±4,52	159,90±35,76
CLA 120 mg	180,98±36,60*	63,19±17,45	105,59±18,75	11,12±2,72	178,59±21,44
CLA 240 mg	147,37±29,94*	52,02±27,19	120,13±25,88	8,93±1,41	173,42±17,04
AL 60 mg	148,46±13,94	54,72±18,06	101,61±16,80	10,82±3,47	184,76±31,48
AL 90 mg	167,53±35,50	53,64±22,39	117,39±21,78	9,69±1,78	167,13±28,37
P valor	0,0261**	0,4440	0,1506	0,3224	0,2217
CV (%)	16,00	42,31	22,19	38,64	15,75
Tratamentos	Parâmetros (mg/dl) aos 35 dias de idade				
	Colesterol Total	HDL	TRI	ALT	AST
Controle OI	181,34±21,70*	76,81±25,04	102,31±15,19	10,60±3,03	203,63±44,49*
OM	173,31±23,51	80,02±21,42	117,31±24,44	9,58±1,91	202,51±19,55*
CLA 120 mg	163,60±20,80	63,13±18,14	102,86±27,51	10,47±2,09	149,58±33,23*
CLA 240 mg	180,18±17,33	60,21±24,70	99,31±14,29	10,53±1,60	185,43±25,73*
AL 60 mg	189,03±36,02	69,47±19,06	112,74±20,52	11,42±2,25	176,40±34,50*
AL 90 mg	218,83±27,75*	73,72±19,98	134,93±39,99	11,34±1,86	209,42±30,75*
P valor	0,0001	0,1992	0,0686	0,2406	0,0003
CV (%)	24,00	30,57	22,00	20,54	17,15

OI: Ovos íntegros; OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico; CV: Coeficiente de variação (%); HDL: High Density Lipoproteins; TRI: Triglicerídes; ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase. \*Significativo ao nível de 5%, pelo teste F de contrastes ortogonais ( $P \leq 0,05$ ). \*\*Kruskal-Wallis test.

Concentrações totais de colesterol circulante no soro sanguíneo de frangos de corte, com valores menores também foram verificadas por Mehr *et al.* (2014), ao inocularem *in ovo* duas concentrações de CLA (150 e 300 ppm), tendo os autores relatado também uma diminuição no nível sérico de LDL, com o nível mais alto de suplementação.

Médias de níveis plasmáticos de colesterol total ( $199,25 \pm 17,55$  mg/dl), triglicérides ( $192,50 \pm 55,59$  mg/dl) e HDL (110 mg/dL) foram observados por DEVI *et al.* (2018), em codornas adultas japonesas. No presente estudo, as aves mesmo quando não inoculadas (T1), apresentaram médias de colesterol total abaixo do estimado pelos autores supracitados. Entretanto, Devi *et al.* (2018) alegam uma faixa de variação de 186,00 a 225,00 mg/dl de colesterol total em codornas adultas, corroborando com os achados nesta pesquisa.

Em outros estudos, o colesterol total em codornas na fase adulta, se mostraram ainda menores, comparados aos obtidos nessa pesquisa, sendo que Krupakaran (2013), relatou um valor de  $105 \pm 4,45$  mg/dl; Kabir (2013),  $144 \pm 2,58$  mg/dl; Sousa (2016), 116,00 mg/dl e Agina *et al.* (2017), encontraram um valor médio de  $78,57 \pm 2,95$ . Tais medidas divergentes indicam que não somente a suplementação de nutrientes oléicos geram influências nas leituras de lipídeos séricos, mas sim o manejo nutricional como um todo.

Silva *et al.* (2012), apontam que ácidos graxos essenciais (PUFA n-3 e n-6) tem efeito sobre a lipídemia e vascularização da membrana vitelina de codornas japonesas, a nível de inclusão de 2 e 4% de óleo de peixe na ração das aves mas ressaltaram que as adições não alteraram o nível sérico de colesterol total.

Em estudo similar, Güçlü *et al.* (2008), investigaram os efeitos de diferentes óleos nas dietas de codornas poedeiras e encontraram concentrações reduzidas de colesterol total no grupo que recebeu 4% de óleo de soja em comparação às aves suplementadas com 4% de óleo de peixe. Dentre as possíveis causas, os autores discorreram que os esteróis vegetais impossibilitam a passagem e, ou o trânsito do colesterol para as micelas intestinais, dificultando em parte a absorção e assim por consequência, reduzindo os valores totais de colesterol.

Krupakaran (2013), aponta que em codornas adultas, os valores de triglicérides variam entre 153,00 a 273,00 mg/dl. As médias aferidas de TRI, em todos os grupos das aves amostradas nesta pesquisa, apresentaram valores abaixo do estimado pelo autor.

Thrall *et al.* (2007), apontam que a concentração de triglicérides circulantes refletem o equilíbrio entre sua absorção intestinal, sua síntese e secreção nos hepatócitos e sua absorção no tecido adiposo, influenciados pelo teor de gordura na dieta e pela produção de hormônios.

Assim, pode-se considerar que os níveis diminuídos de TRI observados para as duas idades nos tratamentos estudados ( $P > 0,05$ ), com exceção do AL 90 mg aos 35 dias, não estão atrelados ao fornecimento dos óleos *in ovo*. A alimentação com dieta hiperlipídica demonstra resultar em aumento significativo das concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol em mamíferos e aves (AYALA *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2011).

Aos 35 dias de idade, verifica-se que houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para os níveis de colesterol total e AST do sangue das codornas de corte (Tabela 2). O colesterol total das aves que não receberam inoculação (tratamento controle), diferiu-se da média encontrada pelas aves que receberam a inoculação de AL 90, observando aumento do colesterol com o tratamento inoculado com ácido láurico (181 *versus* 218, mg/dl, respectivamente). Resultado similar foi encontrado quando testado o tratamento que recebeu apenas o diluente, em comparação aos demais tratamentos, mostrando que a inoculação das fontes de CLA e AL reduziram os teores de AST amostrados, com exceção do AL 90 mg, em que observamos um ligeiro aumento.

**Tabela 2.** Teste F de contrastes ortogonais do colesterol total e de aspartatoaminotransferase (AST) do soro de codornas de corte aos 35 dias de idades, que foram suplementadas *in ovo* com fontes de ácido linoleico conjugado e ácido láurico

Tratamentos	Valor de F para os parâmetros avaliados	
	Colesterol total	AST
Controle x AL 90	0,0015	0,6693
OM x AL 90	0,0001	0,6100
CLA 120 x CLA 240	0,4527	0,0195
AL 60 x AL 90	0,0102	0,0195
CLA 120; 240 x AL 60; 90	0,0009	0,0105
Controle x CLA 120	0,0992	0,0002
Controle x AL 60	0,9128	0,0470
OM x CLA 120	0,3637	0,0002
OM x CLA 120 e 240; AL 60 e 90	0,0811	0,0375

OM: Óleo de milho; CLA: Ácido linoleico conjugado; AL: Ácido láurico.

Observou-se efeito dos níveis de inoculação ( $P < 0,05$ ) do AL em aumentar o conteúdo de colesterol total no sangue das aves. Comparando o efeito entre o AL e o CLA sobre

o colesterol total, obtém-se que a inoculação de AL conferiu níveis séricos maiores do que quando inoculado o CLA (189 e 219 *versus* 163 e 180 mg/dl, respectivamente).

Como abordado anteriormente, o CLA tem participação efetiva no metabolismo lipídico, podendo influenciar na diminuição dos teores de colesterol no sangue. Com o acréscimo da idade, aos 35 dias pode-se notar uma elevação dos valores de colesterol mensurado nas aves que foram inoculadas com CLA 240 mg, sendo efeito inverso quando comparado o mesmo grupo de aves aos 21 dias, o que leva a considerar que a vida útil da suplementação do ácido linoleico conjugado no organismo tem efeito limitado.

Observou-se que houve diferença ( $P < 0,05$ ) da inoculação de OM e AL 90, sendo que o AL aumentou os níveis de colesterol total em relação à suplementação com OM, evidenciando o efeito do AL em aumentar o colesterol total.

Pode-se perceber ao longo das discussões que pouco se tem investigado acerca do ácido láurico em dietas para codornas. Saeidi *et al.* (2016), utilizaram uma mistura de ácidos graxos de cadeia média (ácido capríco < 3%, ácido caprílico = 30%, ácido cáprico = 56%, ácido láurico = 10%, outros ácidos graxos = < 0.03%) na ração de codornas japonesas aos 42 dias de idade, nos níveis de inclusão de 0, 1, 2 e 4% em substituição ao óleo de soja na ração. Os autores observaram que as concentrações de LDL, triglicérides e colesterol total foram reduzidos e a de HDL foi aumentada com os tratamentos com inclusão dos AGCM, comparado com o grupo controle.

A suplementação constante por 12 semanas, via ração hiperlipídica enriquecida com 22% de óleo de coco para codornas japonesas, machos, não foram significativamente diferentes daquelas aves que receberam dieta padrão, para os parâmetros séricos de saúde metabólica (ácido úrico, triglicérides, colesterol, proteína total, albumina, aspartato-aminotransferase e bilirrubina), de acordo com resultados obtidos por Donaldson *et al.* (2016).

As enzimas AST e ALT foram analisadas no presente trabalho para determinar eventuais danos ao fígado. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos para o AST presente no sangue das codornas quando avaliadas aos 35 dias, apresentando uma redução dos teores dessa enzima tanto com a inoculação de CLA 120, quanto na de AL 60, em comparação aos ovos íntegros e ao tratamento contendo apenas o diluente (OM) com AL 60. Verifica-se que aves oriundas dos ovos não inoculados apresentaram médias maiores de AST ( $203,63 \pm 44,49$  mg/dl) em relação ao CLA 120 mg e do AL 60 mg com valores médios de  $149,58 \pm 33,23$  e  $176,40 \pm 34,50$  mg/dl, respectivamente. Isso pode sugerir a interferência do CLA e do AL como modulador das atividades imunes, agindo nas respostas inflamatórias no organismo.

Níveis elevados de AST podem indicar danos hepáticos ou musculares, no entanto, a ausência da mensuração da atividade da creatinina quinase (CK) dificulta a conclusão da origem do dano (SCHMIDT *et al.*, 2007; CAMPBELL, 2015). Mas pode-se considerar pela leitura média da AST que possíveis lesões hepáticas moderadas ocorreram, levando ao extravasamento dessa enzima na circulação sanguínea.

Codornas japonesas apresentaram médias de 17 UI/l de ALT e 251,5 UI/l para AST aos 21 dias. Aos 35 dias de idade, 15 UI/l e 289 UI/l de ALT e AST, respectivamente, foram obtidos, sob sistema de criação convencional (SOUSA, 2016). De forma similar, para codorna japonesa, Agina *et al.* (2017), relataram os níveis encontrados de ALT de 20,85 UI/L, e níveis menores para AST (59,99 UI/L).

Os ácidos graxos inoculados também apresentaram diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os grupos (CLA *versus* AL) e quanto às dosagens entre si. Ovos inoculados com CLA reduziram o teor de AST no sangue das aves, em relação àqueles que foram inoculadas com AL. As maiores dosagens de CLA e AL ocasionaram aumento de AST no sangue. Aves que receberam as inoculações *in ovo* com CLA e AL apresentaram menor conteúdo de AST ( $P < 0,05$ ) em relação às aves que receberam o OM.

Níveis de colesterol elevados, em comparação a demais valores encontrados na literatura, associado a uma elevação de AST, pode indicar prejuízos metabólicos e patologias hepáticas não visíveis a olho nu. O efeito tóxico de altas concentrações de AL e CLA foram relatados quando ofertados em proporções inadequadas na dieta de codornas japonesas (AYDIN *et al.*, 1999), e frangos de corte (MURPHY, 1990; HERTAD *et al.*, 2000).

A escassez de dados estabelecidos como valores de referência para o perfil sérico de codornas, principalmente no que se refere à resposta imune, é outra dificuldade encontrada. Grande parte das pesquisas existentes consideram os parâmetros bioquímicos em condições experimentais diferentes, geralmente variando a dieta ofertada ou o ambiente de criação, o que naturalmente pode influenciar os resultados.

Considerando o desafio sanitário realizado neste trabalho acreditava-se que as aves pudessem apresentar respostas fisiológicas pela ativação do sistema imunológico em decorrência às condições sanitárias do ambiente, o que de fato pode ter acontecido, uma vez que houve respostas diferenciadas dos parâmetros que indicam adversidades hepáticas com o tratamento que não recebeu as inoculações com CLA e AL.

O papel dos ácidos graxos na resposta imune das aves já foi bem documentado (CHOI, 2009), principalmente o CLA para frangos de corte e galinhas, suplementado de forma dietética. A proposta de fornecer precocemente tais nutrientes é de adiantar os recursos para

combater as adversidades dos sistemas de criação, promovendo melhores condições de vida aos animais. Contudo, mais estudos são necessários para verificar se o nível de suplementação desses ácidos graxos (CLA e AL) tem o mesmo potencial de ação quando ofertados *in ovo*, estando ou não relacionados ao aumento da resposta imune em codornas, o que poderia ser melhor elucidado com uma leitura das imunoglobulinas no sangue e testes histopatológicos e morfológicos.

#### **4. CONCLUSÃO**

O aumento dos níveis de suplementações de CLA *in ovos* de codornas de corte, reduziu o teor de colesterol total no sangue das aves aos 21 dias de idade. Entretanto, tanto o acréscimo dos níveis de AL quanto a suplementação dele em comparação ao CLA aumenta os teores de colesterol das aves aos 35 dias de idade.

As inoculações em ovos com CLA 120 e AL 60 reduziram os teores de AST no sangue das codornas aos 35 dias de idade, em comparação àquelas que não receberam as inoculações e aos ovos inoculados apenas com o diluente óleo de milho. Aves oriundas de ovos inoculados com AL apresentaram maior teor de AST que aquelas que receberam os níveis de CLA e os aumentos dos níveis de CLA e AL proporcionaram aumento da AST no sangue.

## REFERÊNCIAS

- AGINA, O. A.; EZEMA, W. S.; IWUOHA, E. M.; The Haematology and Serum Biochemistry Profile of Adult Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Notulae Scientia Biologicae**, v. 9, p. 67-72, 2017.
- ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. Criação de codornas para a produção de ovos e carne. Viçosa: Aprenda Fácil. 268 p., 2003.
- AYALA, I.; CASTILLO, A. M.; ADÁNEZ, G. *et al.* Hyperlipidemic chicken as a model of non-alcoholic steatohepatitis. **Experimental Biology and Medicin**, v. 234, p. 10-16, 2009.
- AYDIN, R.; PARIZA, M. W.; COOK, M. E. Dietary conjugated linoleic acid inhibits the hatchability of pigeon eggs. **Poultry Science**, v. 78, p. 80-81, 1999.
- BAKKEN, M. VANGEN, O, RAUW, W. M. Biological limits to selection and animal welfare. *In: World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Armidale 11–16 January 1998. Reproduction; Fish Breeding; Genetics and the environment. Proceedings...* v. 27, p. 381-388, 1998.
- BAUMAN, D. Update on conjugated linoleic acids (CLA). Cornell Nutrition Conference. **Proceedings...** Ithaca, NY. 2001.
- BOWES, V; JULIAN, R; STIRTZINGER, T. Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens Can. **Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 7-11, 1989.
- CAMPBEL, T. W. Bioquímica Clínica das Aves. *In: THRALL, M. A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª ed.* Roca, 2015, 688 p.
- 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-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, p. 448-458, 2009.
- DEVI, L. I.; HMAR, L.; A. A.; *et al.* Serum biochemical profile of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) under agro climatic conditions of Mizoram. **International Journal of Chemical Studies**, v. 6, p. 82-84, 2018.

DONALDSON, J.; MADZIVA, M.T.; ERLWANGER, K. H.; The effects of high-fat diets composed of different animal and vegetable fat sources on the health status and tissue lipid profiles of male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, p. 700-711, 2016.

GAZE, B. S. *et al.* Efeitos da suplementação de ácido linoléico conjugado (CLA) e a perda de peso em animais e humanos. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1, p. 48-56, 2007.

GONZÁLEZ, F; SILVA, S. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2ª edição. 2006.

GÜÇLÜ, B. K.; UYANIK, F; İŞCAN, K. M. Effects of dietary oil sources on egg quality, fatty acid composition of eggs and blood lipids in laying quail. **South African Journal Animal Science**, v. 38, p. 91-100, 2008.

HERTAD, O.; OVERLAND, M.; HAUG, A. *et al.* Reproductive performance of broiler breeder hens fed  $\omega$ -3 fatty acid-rich fish oil. **Acta Agric. Scand, Sect. A, Animal Sci.** v. 50, p. 121-128, 2000.

JATOI A. S. *et al.* Response of different body weights on blood serum chemistry values in four close-bred flocks of adult japanese quails (*coturnix coturnix japonica*). **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 23, p. 35-39, 2013.

KABIR, M. A. Blood chemistry analyses of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Scholarly Journal of Agricultural Science**, v. 3, p. 132-136, 2013

KIM, H. J.; KIM J. H.; NOH, S. *et al.* Metabolomic analysis of livers and serum from high-fat diet induced obese mice. **Journal of Proteome Research**, v. 10, p. 722–731, 2011.

KONIG, B.; KOCH, A.; SPIELMANN, J.; HILGENFELD, C.; STANGL, G. I.; EDER, K. Activation of PPAR alpha lowers synthesis and concentration of cholesterol by reduction of nuclear SREBP-2. **Biochemical Pharmacology**, v.73, p. 574-585, 2007.

KRUPAKARAN, P. R. Serum biochemical profile of japanese quails (*coturnix coturnix japonica*). **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, v. 3, p. 182-183, 2013.

LAGANÁ, C.; PIZZOLANTE, C. C.; TOGASHI, C. K.; KAKIMOTO, S. K.; SALDANHA, E. S. P. B.; ALVARES, V. Influência de métodos de debicagem e do tipo de bebedouro no desempenho e na qualidade dos ovos de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1217-1221, 2011.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical enzymology. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 3, p. 14-24, 1994.

MEHR, A. M. *et al.* Effects of *in ovo* injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broiler chickens. **Spanish Journal of Agricultural Research, Madrid**, v.12, n. 2, p. 455-461, 2014.

MOYA-CAMARENA, S. Y.; VANDEN HEUVEL, J. P., BLANCHARD, S. G.; LEESNITZER, L. A.; BELURY, M. A. Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPARalpha. **Journal of Lipid Research**, v. 40, p. 1426-1433, 1999.

MURPHY, M. G. Dietary fatty acids and membrane protein function. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 1, p. 68-73, 1990.

NAZIFI, S.; ASASI, K. Hematological and serum biochemical studies on Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) fed different levels of furazolidone. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 152, p. 705-70, 2001.

PARK, Y. *et al.* Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, p. 853- 858, 1997.

PASTORE, S. M.; OLIVEIRA, W. P.; MUNIZ, J. C. L. Panorama da Coturnicultura no Brasil. **Revista Eletrônica Nutritime**, art.180, v. 9, n.6, p. 2041-2049, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Versão 3.5.2 "Eggshell Igloo", 2017.

RYDER, J. W. *et al.* Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. **Diabetes**, v. 50, p. 1149-1157, 2001.

SAEIDI, B., E.; SHOKROLLAHI, K. K.; AMIRI-ANDI, M. Effects of medium-chain fatty acids on performance, carcass characteristics, blood biochemical parameters and immune response in Japanese quail. **British Poultry Science**, v. 57, p. 358-363.

SCHMIDT, E. M. S. *et al.* Hematological and serum chemistry values for the ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*): variation with sex and age. **International Journal Poultry Science**, v. 6, n. 2, p. 137-139, 2007.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e européias**. 2. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2009. 110p.

SILVA, J. E. S.; MOURA, A. M. A.; NOGUEIRA, R. A. Efeito dos ácidos graxos essenciais sobre lipídemia e vascularização da membrana vitelina de codornas japonesas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1603-1612, 2012.

SOUSA, R. T. Constituintes bioquímicos séricos de codornas japonesas em diferentes idades. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Med. Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, 2016.

SOUZA, C. S. *et al.* Atividades enzimáticas séricas de codornas de corte (*coturnix coturnix coturnix*) alimentadas com diferentes níveis de metionina + cistina: lisina digestíveis nas rações na fase inicial. V SIMPÓSIO INTERNACIONAL-IV CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA 2013, Minas Gerais, **Anais...** Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, 2013.

THRALL, M.A.; BAKEE, D.C.; CAMPBELL, T,W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. Hematologia e bioquímica clínica veterinária, São Paulo: Rocca, p.285-310, 2007.

VOGT, L. K. **Avaliação da imunocompetência e alternativas para a modulação nutricional de frangos de corte**. 2005. 160 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WANG, Y. M.; JONES, P. J. H. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. **International Journal of Obesity**, p. 941–955, 2004.

## ANEXOS

ANEXO 1 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações para codornas de corte nas fases inicial (1 a 21 dias) e crescimento/final (22 a 35 dias)

Ingredientes	Inicial	Crescimento/final
Milho (7,92%)	49,6157	54,8315
Farelo de Soja (45%)	42,8111	38,4348
Óleo de Soja	3,0763	4,0230
Calcário Calcítico	1,2768	1,0579
Fosfato Bicálcico	1,0318	0,7937
Sal Comum	0,3748	0,3232
Minerais <sup>1</sup>	0,0500	0,0500
Vitaminas <sup>2</sup>	0,0500	0,0500
L-Lisina Hcl (78%)	0,2340	0,0000
L-Valina (.....)	0,0162	0,0000
L-Isoleucina (98,5%)	0,3212	0,1637
DI-Metionina (98%)	0,4228	0,2131
L-Treonina (99%)	0,2740	0,0490
Antioxidante <sup>3</sup>	0,0100	0,0100
Total	100,00	100,00
Composição Calculada		
Energia Metabolizavel (Kcal/Kg)	2.900	3.000
Cálcio (%)	0,85	0,70
Fósforo Disponível (%)	0,32	0,27
Sódio (%)	0,17	0,15
Proteína Bruta (%)	25,00	22,00
Arginina Digestível (%)	1,92	1,52
Isoleucina Digestível (%)	1,14	0,9
Lisina Digestível (%)	1,37	1,08
Metionina + Cistina Digestível (%)	1,04	0,80
Treonina Digestível (%)	1,04	0,78
Triptofano Digestível (%)	0,27	0,24
Valina Digestível (%)	1,01	0,92
<sup>1</sup> Por quilograma do produto: Cobre 2500,00 mg; Colina 27,00 mg; Ferro 12,5 mg; Iodo 250,00 mg; Manganês 7,5 mg; Metionina 130,00 g; Selênio 20,00 mg; Sódio 120,00 g; Zinco 4500,00 mg. <sup>2</sup> Por quilograma do produto: Ácido Fólico 175,00 mg; Ácido Nicotínico 28000,00 mg; Ácido Pantotênico 2500,00 mg; Bacitracina de Zinco 5100,00 mg; BHA 500,00 mg; BHT 500,00 mg; Biotina 12,50 mg; Vitamina A 500.000,00 UI; Vitamina B1 150,00 mg; Vitamina B12 2500,00 mg; Vitamina B2 800,00 mg; Vitamina B6 250,00 mg; Vitamina D3 170.000,00 UI; Vitamina E 2100,00 UI; Vitamina K3 400,00 mg; Salinomicina 12500,00 mg/kg. <sup>3</sup> Butil hidroxitolueno.		

## ANEXO 2 - Informações nutricionais do Lipo-6 CLA 1000 mg, marca Nutrex Research

Fatos suplementares		
Tamanho da dose: 1 Softgel		
Dose por vasilhame: 90		
	Quantidade por porção	% Valor diário
Calorias	10	
Calorias da gordura	10	
Gordura total	1 g	2% **
Gordura poli-insaturada	0,75 mg	
CLA Bled Ativo (Rendimento de 80% de Ácido Linoleico Conjugado (CLA) a partir de Óleo de Cártamo)	1000 mg	*
** Porcentagem de valor diário (DV) são baseados em uma dieta de 2.000 calorias.		
* Valor Diário (DV) não estabelecido.		

ANEXO 3 - Composição em ácidos graxos e informações nutricionais do óleo de coco extravirgem – Marca comercial Copra.

Composição em ácidos graxos (%/100g)		Informação nutricional Porção de 15 mL (1 colher de sopa)		
C 6:0 Caprótico	0,52	Quantidade por porção		% VD**
C 8:0 Caprílico	7,08	Valor energético	125 kcal = 523 kj	7
C 10:0 Cáprico	5,43	Carboidratos	0g	0
C 12:0 Láurico	46,58	Proteínas	0g	0
C 14:0 Mirístico	17,98	Gorduras totais	14g	26
C 16:0 Palmítico	7,50	Gorduras saturadas	13g	59
C 18:0 Esteárico	2,86	Gorduras trans	0g	0
C 18:1 $\Omega^*$ 9 Oléico	4,42	Gorduras monoinsaturadas	0,7g	***
C 18:2 $\Omega^*$ 6 linoleico	0,65	Gorduras poli-insaturadas	0,2g	***
*ômega. **Valores diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8400 kj. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo das necessidades energéticas. ***Valores diários de referência não estabelecidos.		Colesterol	0mg	0
		Fibra alimentar	0g	0
		Sódio	0mg	0