

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO NA
DIETA DE MATRIZES DE CORTE E SUA PROGENIE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Elenice Zucuni Franco

Santa Maria, RS, Brasil

2007

EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO NA DIETA DE MATRIZES DE CORTE E SUA PROGÊNIE

por

Elenice Zucuni Franco

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Alexandre Pires Rosa

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO
NA DIETA DE MATRIZES DE CORTE E SUA
PROGÊNIE**

elaborada por
Elenice Zucuni Franco

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Alexandre Pires Rosa, Dr.
(Presidente/Orientador)

Everton Luis Krabbe, Dr. (Kemin)

Janio Moraes Santurio, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

AGRADECIMENTOS

Agradecer a todos que ajudaram a construir esta dissertação não é tarefa fácil, o maior perigo que se coloca para o agradecimento seletivo não é decidir quem incluir, mas decidir quem não mencionar.

Meu maior agradecimento é dirigido a meus pais, por terem sido o contínuo apoio em todos estes anos, por todo o esforço e pela compreensão.

Prof. Alexandre P. Rosa, registro aqui minha eterna gratidão, tanto pela orientação técnica do trabalho como pela orientação pessoal de vida. Em nenhum momento limitou-se a empreender esforços, e com uma qualidade profissional ímpar, orientou-me nesta dissertação. Obrigado pela companhia durante a semana, final de semana e nos papos de fim de tarde no LAVIC. *Gracias* por não demonstrar sua frustração ao saber que sua pupila iria abandonar a carreira avícola, mesmo antes de começá-la.

Rodrigo Uttpatel, *Little*, essa dissertação só existe porque existem amigos como você, amigo do coração, amigo pra sempre não importa a distância, amigo de verdade.

Quero agradecer aos PSs Lucas, Anelcir e Rodrigo, pois aprendi muito com vocês na nossa casa LAVIC.

De forma muito especial, quero manifestar minha gratidão a algumas pessoas que colaboraram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho:

- Everton L. Krabbe, por viabilizar essa pesquisa;
- Aos estagiários que batalharam para conduzir este trabalho: Edílson Gonçalves, Rodrigo Saldanha, Fábio Ritter, Ana Kátia Karkow, Vivian Barcelos, Pierre Bastos e Mateus Rossini.
- Aos demais estagiários do Lavic, que por várias vezes colaboraram comigo.
- Aos funcionários Sandro e Beti.

Devo agradecer também à empresa Basf pelo fomento à pesquisa e financiamento desta pesquisa.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO NA DIETA DE MATRIZES DE CORTE E SUA PROGÊNIE

AUTORA: ELENICE ZUCUNI FRANCO

ORIENTADOR: ALEXANDRE PIRES ROSA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

O ácido linoléico conjugado (CLA) possui inúmeras propriedades biológicas, das quais se pode destacar a capacidade de alterar o metabolismo lipídico e imunológico. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de CLA na dieta de matrizes avícolas da linhagem AgRoss 308 sobre o desempenho produtivo e reprodutivo dessas aves, e os possíveis impactos sobre o desenvolvimento da progênie. As matrizes receberam, da 44^a até a 51^a semanas de idade, os tratamentos que foram constituídos por dieta sem CLA (controle) ou contendo 0,18%, 0,36% e 0,54% da mistura isômeros de CLA. Esses níveis de CLA nas dietas não reduziram o ganho de peso das matrizes. A postura e a conversão alimentar das matrizes tão pouco foram afetadas pelos tratamentos, porém o aumento de peso dos ovos e de seus componentes que normalmente ocorre em função do avanço da idade das aves foi minimizado pela suplementação de CLA. O fornecimento de níveis crescentes de CLA para as matrizes provocou aumento da mortalidade embrionária, principalmente nos estágios iniciais da embriogênese. Ocorreu uma redução linear da taxa de eclosão da progênie e o CLA fornecido para as matrizes comprometeu o desempenho da progênie nos primeiros dias de vida.

Palavras-chave: nutrição, ácidos graxos, CLA, matrizes avícolas, embriogênese, progênie.

ABSTRACT

Masters Thesis
Animal Science Post Graduation Program
Universidade Federal de Santa Maria

EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID IN THE BROILER BREEDER HENS DIET AND ITS PROGENY

AUTHOR: ELENICE ZUCUNI FRANCO

ADVISER: ALEXANDRE PIRES ROSA

Local and Presentation Date: Santa Maria, February 23rd 2007

The conjugated linoleic acid (CLA) has countless biological properties from which we can highlight the capacity to alter the lipid and immunologic system. Thus, the aim of this work was to evaluate the effects of CLA supplementation in the diet of AgRoss 308 broiler breeder hens over these birds productive and reproductive performance and the possible impacts over the progeny development. The breeder received, from the 44rd to 51st weeks of age, the treatments which were made of diet without CLA (control) or having 0,18%, 0,36% and 0,54% of CLA isomer mixture. These CLA levels in the diets did not reduce the breeders' weight gain. The breeders' laying and food conversion wasn't affected by the treatments, however the weight gain of the eggs and its components which usually occurs due to birds aging was minimized by CLA supplementation. The supply of increasing levels of CLA to the breeders caused embryonic death growth, mainly in early stages of embryogenesis. There was a linear reduction in the progeny hatching rates and the CLA supplied to the breeders affected the progeny performance in the first days of life.

Key-words: nutrition, fat acids, CLA, broiler breeders, embryogenesis, progeny.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Conceitos básicos	10
2.2. Ácidos graxos essenciais (AGE)	11
2.3. Metabolismo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs)	12
2.4. Fontes de ácidos graxos poliinsaturados	15
2.4.1. Óleos de peixes	15
2.4.2. Outras fontes marinhas	15
2.4.3. Fontes vegetais	15
2.5. Descoberta do CLA	16
2.6. Os isômeros de CLA	17
2.7. Fontes de CLA	18
2.8. Efeitos do CLA	19
2.8.1. Efeitos na composição corporal dos diferentes modelos animais	20
2.8.2. Efeitos sobre as aves	21
2.8.3. Efeitos na embriogênese e progênie	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Experimento I (Matrizes)	26
3.1.1. Local e período experimental	26
3.1.2. Fase pré-experimental (cria, recria e reprodução I)	26
3.1.3. Animais avaliados	26
3.1.4. Instalações e equipamentos	27
3.1.5. Manejo na fase experimental	27
3.1.6. Dietas e tratamentos	28
3.1.7. Variáveis estudadas	29

3.1.8. Delineamento e análise estatística	29
3.2. Experimento II (Incubação)	30
3.2.1. Períodos de coleta dos ovos	30
3.2.2. Manejo de coleta e armazenamento	30
3.2.3. Incubação	30
3.2.4. Embriodiagnóstico e classificação dos pintos nascidos	31
3.2.5. Delineamento e análise estatística	31
3.3. Experimento III (Desempenho da progênie)	32
3.3.1. Período experimental	32
3.3.2. Animais avaliados	32
3.3.3. Instalações e equipamentos	32
3.3.4. Manejo	33
3.3.5. Dieta e tratamentos	33
3.3.6. Variáveis estudadas	33
3.3.7. Delineamento e análise estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Efeito do CLA sobre as Matrizes	35
4.2. Embriodiagnóstico	39
4.3. Desempenho da progênie	41
5. CONCLUSÕES	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

A evolução das bases científicas tem permitido o avanço da discussão sobre as gorduras na alimentação animal, que evoluiu da relação gordura saturada/insaturada para a relação ácidos graxos ω -6/ ω -3 e, mais recentemente, tem sido investigado os efeitos biológicos de cada isômero de ácido graxo.

Nesse contexto está inserido o ácido linoléico conjugado (CLA), denominação que abrange um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (18:2) que possui apenas uma ligação simples entre as insaturações. Dentre as diversas moléculas que possuem esta característica, os isômeros *cis*-9,*trans*-11 e *trans*-10,*cis*-12 se destacam devido aos efeitos biológicos já identificados (Hayashi, 2003).

O CLA tem sido citado por diminuir a gordura corporal em várias espécies, inclusive em pintos (Szymczyk *et. al.*, 2001). De acordo com Hayashi (2003), foram propostos vários mecanismos para explicar a influência do CLA, especialmente o isômero *t*-10,*c*-12, na redução no conteúdo de lipídios na carcaça, dentre os quais estão a diminuição da esterificação de ácidos graxos em triglicerídios, interferência na diferenciação dos adipócitos, redução da lipogênese e aumento da lipólise.

Essa capacidade do CLA de alterar o metabolismo lipídico é de especial interesse para matrizes de corte, uma vez que, a excessiva deposição de gordura compromete a reprodução.

Além dos efeitos diretos da dieta sobre as reprodutoras de corte, é necessário considerar que a composição lipídica dessa dieta afeta também o perfil de ácidos graxos da gema do ovo, e consequentemente pode influenciar o processo de embriogênese. Li & Watkins (1998) sugerem que o CLA inibe a ação da Δ 9-dessaturase (enzima que é bastante ativa nos estágios iniciais de utilização da gema), possivelmente alterando o balanço de ácidos graxos específicos usados durante a embriogênese. Estudos de Aydin *et. al.* (1999a, 1999b e 1999c) indicam que o CLA dietético induz mortalidade embrionária em várias espécies de aves.

Os efeitos do CLA dietético em animais de laboratório e humanos, assim como as pesquisas para o enriquecimento de produtos de origem animal para consumo humano têm sido bastante exploradas. Contudo, pesquisas com animais

de produção, como matrizes avícolas de corte praticamente inexitem. Por isso, este trabalho objetivou estabelecer a relação existente entre níveis de CLA na dieta das matrizes com mortalidade embrionária e o desempenho subsequente da progênie, assim como determinar a capacidade do CLA de minimizar o ganho de peso das reprodutoras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Conceitos básicos¹

- Éster: produto da reação entre um ácido carboxílico e um álcool (por exemplo, glicerol).

- Ácidos graxos (AG): é o nome dado aos ácidos carboxílicos que possuem 12 ou mais carbonos na cadeia.

- Óleos e gorduras: são triésteres de ácidos graxos e glicerol, genericamente os óleos e gorduras são chamados de glicerídios ou lipídios. Também podem ser denominados de triacilglicerídios ou triglicerídios já que existem três cadeias de ácidos carboxílicos ligadas aos três oxigênios do glicerol.

- Fosfolipídios: são ésteres formados pela reação do fosfato com glicerol. O fosfato (que por sua vez, é um diéster fosfórico) é o grupo polar do fosfolipídio. Grupos neutros ou carregados podem estar ligados em um dos oxigênios do fosfato, tais como a colina, a etanolamina, o inositol ou outros. As fosfatidilcolinas, por exemplo, são chamadas de lecitinas.

- Esteróides: são lipídios derivados do colesterol que atuam nos organismos como hormônios.

- Eicosanóides: São derivados cíclicos de certos ácidos graxos, sendo o ácido araquidônico o principal precursor. Compreendem as prostaglandinas, as tromboxanas e os leucotrienos.

- Prostaglandinas: Estes lipídios não desempenham funções estruturais, mas são importantes componentes em vários processos metabólicos e de comunicação intercelular. Um dos processos mais importantes controlados pelas prostaglandinas é a inflamação. A substância chave na biossíntese das prostaglandinas é o ácido araquidônico, que é formado através da remoção enzimática de hidrogênios do ácido linoléico. O ácido araquidônico livre é convertido a prostaglandinas pela ação da enzima ciclooxigenase, que adiciona oxigênios ao ácido araquidônico e promove a sua ciclização. No organismo, o ácido araquidônico é estocado sob a forma de fosfolipídios em membranas, tal como o fosfoinositol. Sob certos estímulos, o ácido

¹ Os conceitos básicos foram extraídos de diversos livros escolares de Química e da Revista eletrônica do Departamento de Química – UFSC: ano 4; disponível no site www.qmcweb.org

araquidônico é liberado do lipídio de estocagem (através da ação da enzima fosfolipase A2) e rapidamente convertido em prostaglandinas, que iniciam o processo inflamatório. A cortisona tem ação anti-inflamatória por bloquear a ação da fosfolipase A2. Este é o mecanismo de ação da maior parte dos anti-inflamatórios esteróides. Existem outras rotas nas quais o ácido araquidônico é transformado em prostaglandinas; algumas envolvem a conversão do ácido em um intermediário, o ácido 5-hidroperoxy-6,8,1-eicosatetraenóico (conhecido como 5-HPETE), que é formado pela ação da 5-lipoxigenase.

- Leucotrienos: A maior parte dos leucotrienos é produzida pela via 5-lipoxigenase (presente nos basófilos, leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e mastócitos).

2.2. Ácidos graxos essenciais (AGE)

As séries ω -6 e ω -3 são duas famílias de AG derivados dos ácidos linoléico (18:2 ω -6) e α -linolênico (18:3 ω -3) respectivamente, os quais não podem ser sintetizados endogenamente pelos animais, e então são identificados como ácidos graxos essenciais. Ácido linoléico e α -linolênico contém 2 e 3 duplas ligações metileno em sua cadeia carbônica, respectivamente, e ambos possuem 18 carbonos.

As séries ω -3 e ω -6 de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) são caracterizadas pela posição da primeira dupla ligação presente. A série ω -3 tem a dupla ligação terminal no terceiro carbono a partir do metil final da cadeia acila. Da mesma forma, a série ω -6 de PUFAs tem sua dupla ligação no sexto carbono a partir do metil terminal.

O ácido α -linolênico é requerido especificamente durante o desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial pós-eclosão já que concentrações significativas de alguns AG de cadeia longa que são derivados do α -linolênico são encontrados nos lipídios da retina e cérebro (Budowski e Crawford, 1986; Anderson et al 1989).

O ácido linoléico pode afetar a fluidez, permeabilidade, atividade receptora e função enzimática de biomembranas pela mudança da composição de AG (Murphy, 1990). Quando a suplementação desse ácido graxo essencial é deficiente na dieta de aves, também são afetados aspectos produtivos, tais como, redução na produção

de ovos, aumento da mortalidade durante a incubação e reduzido crescimento (Halle & Jeroch, 1996; *apud* Hertad *et. al.*, 2000).

Em nutrição de aves, o foco em requerimento de AG tem sido direcionado para o ácido linoléico (ω -6), por exemplo, o requerimento de ácido linoléico para o crescimento de pintos, perus e codornas é recomendado pelo NRC (1994) ao nível de 1% da dieta. O Manual de Manejo Ag Ross (2002) recomenda que as matrizes recebam 1,2% de ácido linoléico na dieta de pré-postura, em início da postura recebam 2%, e a partir da 46ª semana é recomendado que o nível seja reduzido para 1,6%.

2.3. Metabolismo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs)

Animais e humanos são hábeis em sintetizar ácidos graxos saturados e AG instaurados das séries ω -7 e ω -9 pela via *de novo* a partir do acetil CoA. No entanto, as séries ω -3 e ω -6 de AG não podem ser sintetizadas em mamíferos porque suas células não possuem as enzimas dessaturases delta-12 e 15, que são necessárias para inserção de uma dupla ligação nessas posições do ω -6 e ω -3 da cadeia dos AGs, respectivamente (Innis, 1991, 1996; Sprecher, 1992).

Os ácidos graxos essenciais são metabolizados em várias rotas que incluem beta-oxidação na mitocôndria para gerar energia, uma série de dessaturações alternadas e elongações da cadeia principal, e incorporação de glicerolípídios. As rotas metabólicas são sumarizadas na Figura 1, que dá ênfase na dessaturação e elongação da cadeia dos ácidos graxos essenciais e síntese *de novo* de AGs no fígado.

Ácidos graxos ω -6	Enzima	Ácidos graxos ω -3
Linoléico 18:2 ↓	Δ 6-dessaturase	Alfa-Linolênico 18:3 ↓
Gama-Linolênico 18:3 ↓	Elongase	Octadecatetraenóico 18:4 ↓
Dihomo-gama-linoléico (Precursor da série PG1) 20:3 ↓	Δ 5-dessaturase	Eicosatetraenóico 20:4 ↓
Araquidônico (Precursor das series PG2 e LT4) 20:4 ↓	Elongase	Eicosapentaenóico (Precursor das series PG3 e LT5) 20:5 ↓
Adrenico 22:4 ↓	Elongase	Docosapentaenóico 22:5 ↓
Tetracosatetraenóico 24:4 ↓	Δ 6-dessaturase	Tetracosapentaenóico 24:5 ↓
Tetracosapentaenóico 24:5 ↓	Beta oxidação parcial	Tetrahexaenóico 24:6 ↓
Docosapentaenóico 22:5		Docosahexaenóico 22:6

Figura 1 - Possíveis rotas do metabolismo dos ácidos graxos ω -6 e ω -3. PG1, PG2 e PG3 são as séries 1, 2 e 3 de prostaglandinas; LT4 e LT5 são as séries 4 e 5 de leucotrienos.

Em células animais, o alfa-linolênico pode ser convertido em ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5 ω -3) e docosahexaenóico (DHA; 22:6 ω -3). Similarmente, ácido linoléico dietético é convertido via γ -linolênico (18:3 ω -6) em ácido araquidônico (20:4 ω -6). A introdução de uma dupla ligação no carbono de posição 9 ou 7 é catalisada pela enzima Δ 9-dessaturase, que está presente em plantas e animais, e converte ácido esteárico (18:0) em ácido oléico (18:1 ω -9) ou ácido palmítico (16:0) em palmitoléico (16:1 ω -7) (Calder, 1997).

Quando animais são alimentados com dieta livre de gordura ou dietas com gordura completamente saturada, tecidos de depósito de lipídios tem apenas pequenas quantidades de AG ω -3 e ω -6 e acumulam PUFAs das séries ω -7 e ω -9,

que podem ser rapidamente substituídos por AG ω -3 e/ou ω -6 se suplementados na dieta. Contudo, as famílias de PUFA ω -9, ω -6 e ω -3 não são metabolicamente convertíveis em mamíferos. Nesta série de reações, acredita-se que a mesma enzima seqüencial metaboliza ambos ácido linoléico e α -linolênico, e diferentes ácidos graxos competem pela mesma enzima. A enzima limitante das reações é a Δ 6-dessaturase, que prefere o substrato na ordem α -linolênico, ácido linoléico, ácido oléico.

Estudos prévios têm demonstrado que AG dietéticos e PUFA não são incorporados apenas aos tecidos de depósito dos animais, mas também aos tecidos ricos em fosfolipídios, que refletem o perfil de AG dietético (Cherian & Sim, 1992; Sardesai, 1992b). A composição de AGs da membrana fosfolipídica pode ser modificada pela alteração da dessaturação celular e reações de acilação (Hwang, 1992; Sardesai, 1992a).

Uma importante função dos ácidos graxos essenciais, ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos monoinsaturados, e ácidos graxos saturados é a síntese de fosfolipídios, que são essenciais para formação e funcionamento normal das membranas celulares e sub-celulares (Murphy, 1990). Uma vez que a função celular é claramente associada com a forma da membrana, qualquer sensível mudança na composição de AG fosfolipídicos da membrana pode modular a função desta pela alteração da fluidez e permeabilidade, implicando em todo funcionamento celular. A rota, as enzimas e a regulação da síntese de glicerolipídios foram descritas por Watkins (1995).

Lipídios dietéticos enriquecidos com AG ω -3 ou AG-trans podem não apenas ser incorporados nos tecidos animais e humanos, mas também suprimir a formação de ácido araquidônico, presumidamente pela competição com ácido linoléico pela enzima Δ 6 (Watkins, 1991).

Em aves, a composição lipídica e o metabolismo da gema (Cherian & Sim, 1992), do embrião e cérebro (Budowski & Crawford, 1986; Anderson *et. al.*, 1989) podem ser efetivamente manipulados pela suplementação de lipídio dietético. Portanto, a utilização metabólica de um tipo de AG será influenciada pelo total de gordura dietética, tipo, quantidade e frações de ácidos graxos essenciais (Holman, 1986; MacDonald & Sprecher, 1991).

2.4. Fontes de ácidos graxos poliinsaturados

2.4.1. Óleos de peixes

Os óleos de peixe são excelentes fontes de PUFA ω -3 de cadeia muito longa, como c20:5 (EPA), c22:5 (docosapentaenóico / DPA) e c22:6 (DHA), vulgarmente designados por ômegas.

Ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n3) e docosahexaenóico (DHA; 22:6 ω -3) estão presentes em quantidades significativas em alguns óleos de peixe, tal como óleo do Savelha (*Alosa fallax*). No entanto, as proporções de PUFA ω -3 de cadeia muito longa variam notavelmente em função da origem da fonte marinha (López-Ferrer *et. al.*, 1999,2001).

2.4.2. Outras fontes marinhas

Além do óleo de pescado, tem sido utilizado, ainda que em menor quantidade, algas e zooplankton (Sirri *et. al.*, 2003). Estes organismos são os produtores primários de ω -3, e são realmente capazes de sintetizar PUFA ω -3 de cadeia muito longa como o EPA e DHA.

2.4.3. Fontes vegetais

Óleos vegetais como óleo de soja, óleo de milho, óleo de açafrão e óleo de girassol são ricos em ácido linoléico, enquanto o óleo de linhaça é uma fonte rica em α -inolênico.

A literatura sobre composição de ácidos graxos dos óleos vegetais demonstra que as condições de produção das sementes, a genética das plantas e o processo de extração dos óleos podem provocar grande variação no perfil de AG dos óleos. Tal como ocorre com o óleo de girassol, que pode apresentar alto teor de ácido oléico (80-90%) ou ácido linoléico (70-80%), dependendo das condições climáticas de produção da semente (British Nutrition Foundations, 1994).

Na Figura 2 pode-se observar a composição dos óleos de algumas fontes vegetais.

Óleo	Composição de fontes vegetais de AG ¹					AG saturados (%)	AG insaturados (%)	
	C12:0	C18:1	C18:2	C18:3	C22:1		Mono	Poli
Açafrão		72,8	19,2	0,8		7,0	73,1	20,0
Algodão		13,7	56,5	0,1		26,8	14,4	56,6
Amendoim		40,7	33,9	0,1		21,3	17,1	34,0
Canola		60,3	20,1	9,5	0,7	6,3	62,8	29,6
Gergelim		41,6	42,3	0,3		15,1	42,0	42,6
Linhaça		19,9	15,9	52,7		9,5	19,9	68,6
Oliva		64,0	15,9	0,1		18,0	66,0	16,0
Palma	44,7	17,1	2,9	0,1		76,5	17,1	3,0
Girassol		23,1	65,1	0,2		11,6	23,1	65,3
Soja		24,8	52,4	7,7		15,2	24,8	60,

¹ C12:0 (Láurico), Linolênico (C18:3), Oléico (C18:1), Erúico (C22:1), Linoléico (C18:2)

Fonte: American Oil Chemist's Society, (1992) *apud* Oliveira (2004).

Figura 2 - Composição das diferentes fontes de ácidos graxos

2.5. Descoberta do CLA

O interesse da comunidade científica pela investigação das potencialidades biológicas do CLA, teve o seu início com a descoberta das propriedades anti-cancerígenas de extratos de carne bovina por Pariza & Hargraves (1985). Então Ha *et. al.*, (1987) isolaram da fração lipídica da carne e caracterizaram o componente inibidor da carcinogênese, através de técnicas de cromatografia líquida de alta pressão, cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massa, espectrofotômetro ultra-violeta e espectroscopia de ressonância nuclear magnética. Assim, essas análises permitiram identificar quatro isômeros do ácido linoléico que possuíam duplas ligações conjugadas, os quais foram denominados ácido linoléico conjugado (CLA).

De acordo com Pariza (1999), o CLA possui potentes propriedades anti-cancerígenas, sendo o único AG que demonstrou este efeito de um modo inequívoco com modelos animais e linhagens de células humanas cancerígenas cultivadas *in vitro*, sendo eficaz em diversos órgãos e em diversos estados evolutivos da doença, evidenciando seu efeito mesmo em baixas concentrações na dieta.

O papel do CLA no metabolismo animal está sendo bastante investigado atualmente. Os seus efeitos biológicos são muito diversos e alguns ainda pouco compreendidos, apesar do esforço sistemático de investigação.

2.6. Os isômeros de CLA

6Ácido linoléico conjugado (CLA) é o termo utilizado para designar uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido linoléico (C18:2), que contêm duas duplas ligações conjugadas (Donovan *et. al.*, 2000).

O ácido linoléico é um ácido graxo insaturado de 18 carbonos com duplas ligações nas posições 9 e 12, ambas em uma configuração "cis" (do mesmo lado), ou seja, é um ácido cis-9,cis-12-octadecadienóico.

Em contraste, as duas duplas ligações no CLA estão primariamente nas posições 9 e 11, e 10 e 12 na cadeia carbônica, chamada dieno conjugado, conforme mostra a Figura 3. Além destas diferenças na posição das duplas ligações, também existem variantes geométricos (de configuração cis (c) ou trans (t)). Embora possam existir diversos isômeros possíveis com esta característica, dois deles (cis-9,trans-11 e trans-10,cis-12) têm despertado grande interesse em função dos seus efeitos biológicos já identificados (Hayashi, 2003).

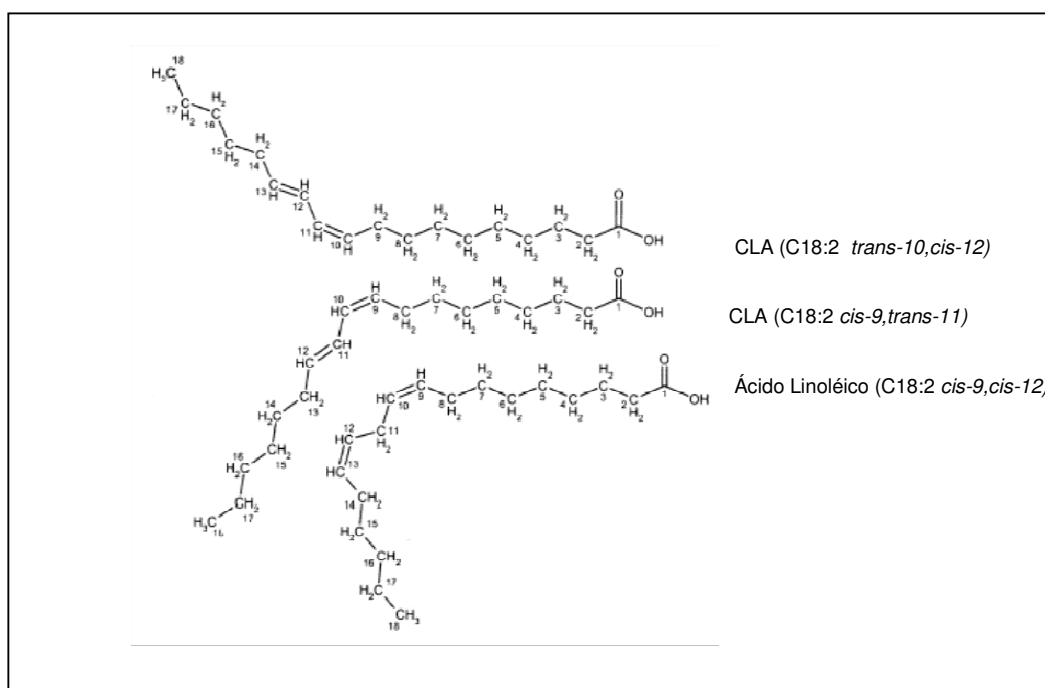


Figura 3 - Estrutura dos dois principais isômeros de CLA e do ácido linoléico

2.7. Fontes de CLA

O CLA, um PUFA natural que pode ser encontrado em muitos alimentos, principalmente em produtos lácteos e carne de ruminantes, mas também pode ser encontrado em menor grau nas carnes de suíno, frango e peru. De acordo com Parodi (1997) o isômero mais comumente encontrado em produtos alimentares é o cis-9,trans-11, já Sehat *et. al.* (1998) propõem que o nome desse isômero deve ser ácido rumênico.

O CLA recebido na dieta ou sintetizado no trato digestivo (bactérias do rúmen), é absorvido no intestino e incorporado nos lipídios do sangue, de onde é transportado até as membranas celulares e tecido adiposo (Steinhart, 1996).

Banni *et. al.* (1999) mostram que existe maior concentração de CLA nos tecidos que contém lipídios neutros (por exemplo, glândula mamária e gordura abdominal) do que nos tecidos que contém fosfolipídios (como o fígado).

A síntese biológica do CLA ocorre através de isomerização do ácido linoléico no trato digestivo de animais ruminantes (bactérias do rúmen). Verhulst *et. al.* (1987) relataram que um *Propionibacter* que foi isolado conseguiu converter ácido linoléico em CLA trans-10, cis-12, já Yang (1997) isolou e caracterizou uma linhagem de *Lactobacillus reuteri* do cólon de ratos que converte ácido linoléico em CLA cis-9,trans-11.

Isômeros de CLA também podem ser quimicamente produzidos através de aquecimento do ácido linoléico na presença de um alcali ou por hidrogenação parcial (Banni, 2002). A Figura 4 mostra a sequência de reações que produzem o CLA utilizado no experimento que deu origem a esta dissertação.

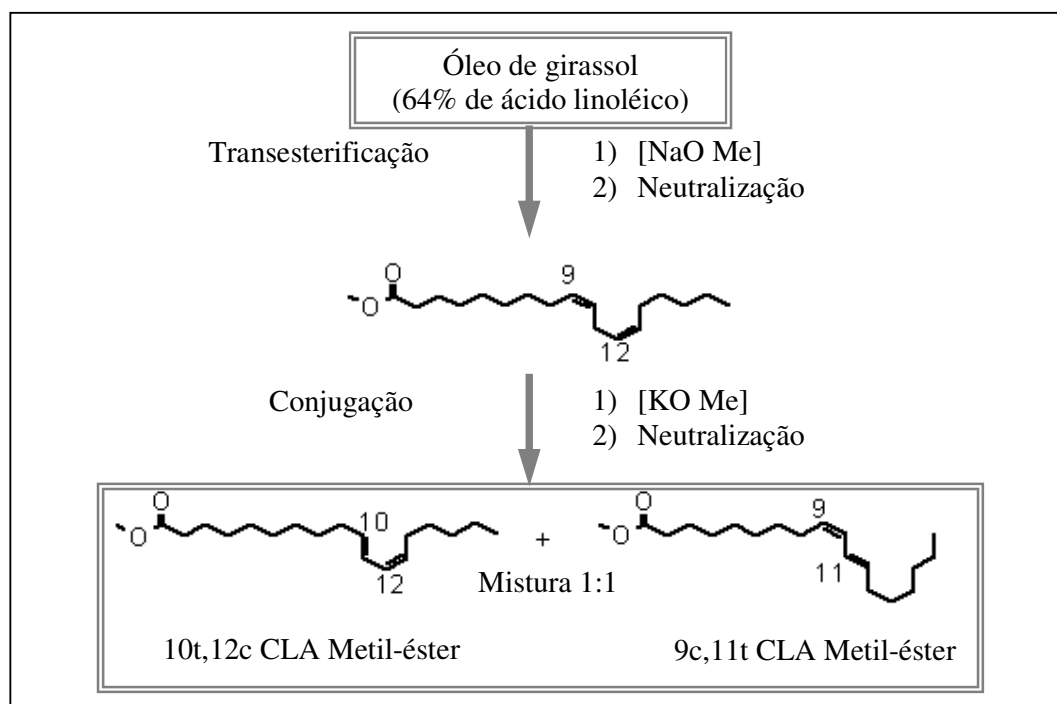


Figura 4 – Óleo de girassol é submetido à transformações para a produção de CLA.

2.8. Efeitos do CLA

O isômero C18:2cis-9,trans-11 tem sido identificado como um potente anticarcinogênico natural (Pariza & Ha, 1990), enquanto o C18:2trans-10,cis-12 atua como um agente repartidor de nutrientes muito eficiente (Park *et. al.*, 1997).

O isômero cis-9, trans-11 do CLA encontrado na gordura do leite, é a forma biologicamente mais ativa, no que concerne à capacidade anti-carcinogênica (Belury, 1995).

Ao CLA também foi atribuída importante atividade de modulação do sistema imune (Miller *et. al.*, 1994). Pesquisadores relatam que o CLA reduz os efeitos catabólicos da estimulação do sistema imune sem quaisquer efeitos na resposta imune em camundongos, ratos e pintos (Cook *et. al.*, 1993; Miller *et. al.*, 1994).

De acordo com Pariza *et. al.* (2001), os efeitos do CLA sobre a sensibilidade à insulina no sangue ainda estão confusos em função das diferenças marcantes nas respostas de diferentes espécies.

De acordo com Carta *et. al.* (2002) o CLA tem demonstrado a capacidade de interferir no metabolismo de lipídios, tanto utilizando a rota metabólica do ácido oléico para se acumular nos tecidos ricos em lipídios neutros quanto sendo

metabolizado na mesma via do ácido linoléico, desse modo influencia a dessaturação e alongamento dos ácidos graxos. Além disso, é beta-oxidado nos peroxissomos, fato esse que pode explicar através da ativação de PPARs (*peroxisome proliferator activated receptors*), sua habilidade em aumentar o nível de retinol livre e a influência na expressão de genes.

Lee *et. al.* (1998) sugeriram que o isômero C18:2trans-10, cis-12 é o responsável pelos efeitos inibitórios do CLA na expressão do mRNA da Δ 9-dessaturase. A Δ 9-dessaturase catalisa a inserção de uma dupla ligação na posição nove do ácido esteárico (C18:0), transformando-o em oléico (18:1), e dessa forma pode alterar a proporção de ácidos graxos saturados e monoinsaturados nos tecidos. Então, se o CLA inibe a Δ 9-dessaturase ele é capaz de aumentar o depósito de ácidos graxos saturados e reduzir a deposição de monoinsaturados (Kang *et. al.*, 2004).

A correta proporção de ácidos graxos saturados e monoinsaturados contribuem para a fluidez das membranas, e a alteração nessa proporção pode influenciar várias respostas fisiológicas.

2.8.1. Efeitos na composição corporal dos diferentes modelos animais

De acordo com Hayashi (2003), pesquisas têm mostrado que o CLA, principalmente o isômero C18:2trans-10,cis-12 tem efeito na composição corporal em diversos modelos animais. Segundo a pesquisadora, existem vários mecanismos propostos para explicar esta redução no conteúdo de lipídios na carcaça, como a redução da lipogênese e aumento da lipólise. Por exemplo, existem fortes evidências de que o CLA reduz o ganho de gordura corporal em animais jovens em crescimento (Park *et. al.*, 1997; West *et. al.*, 1998; Ostrowska *et. al.*, 1999).

Granlund *et. al.* (2005) realizaram estudos em culturas de células de ratos concluíram que o CLA t10,c12 é altamente específico na prevenção de acúmulo de lipídios nos adipócitos e que várias outras moléculas de ácidos graxos são altamente especializadas, sendo que pequenas mudanças estruturais alteram bastante seus mecanismos de influência sobre a acumulação de lipídios em adipócitos e hepatócitos.

Fêmeas de camundongo que foram alimentadas com 1,0% CLA e já com 11 dias de experimento apresentaram uma redução de 41% do tamanho dos adipócitos (Tsuboyama-Kasaoka *et. al.*, 2000).

O fornecimento de 0,05%-1,0% de uma mistura de isômeros de CLA para suínos também aumentou a eficiência alimentar e reduziu a gordura subcutânea sem afetar o peso corporal total (Cook *et. al.*, 1999). Similarmente, Ostrowska *et. al.* (1999) observaram que o fornecimento de 0,07%-0,5% de uma mistura de isômeros de CLA durante oito semanas para suínos em crescimento aumentou a eficiência alimentar e a massa magra do corpo enquanto reduziu a deposição de gordura subcutânea em relação ao grupo controle.

2.8.2. Efeitos sobre as aves

O depósito de gordura dos animais ocorre quando a energia consumida excede a requerida para manutenção e crescimento. Ainda, isso pode ser alterado por diferentes fatores, por exemplo, o depósito lipídico nas aves, em geral, aumenta com a idade (Deaton & Lott, 1985; Legrand *et. al.*, 1987), é maior em fêmeas que em machos (Mateos & Méndez, 1991) e varia com a linhagem (Leclercq & Escartin, 1987) e com a relação energia:proteína da ração. Este último fator é importante, dado que um aumento desta proporção, seja por um aumento da concentração energética ou por uma redução da proteína, provoca um aumento da deposição de gordura corporal nas aves (Deaton & Lott, 1985; Aleator *et. al.*, 2000).

Ko *et. al.* (2004) forneceram dietas contendo 1,5% de óleo de milho, 0,75% de óleo de milho mais 0,75% de CLA ou contendo 1,5% de CLA para frangos de corte machos do 22º ao 35º dia de vida e não observaram diferença no ganho de peso dos animais. No entanto, eles 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 de frangos de corte.

Badinga *et. al.* (2003) forneceram dietas contendo 5% de óleo de milho ou 5% de CLA puro para frangos de corte machos durante toda a fase inicial, e ao final dos 21 dias verificaram que as aves que receberam CLA consumiram menos alimento, tiveram menor ganho médio diário e apresentaram pior conversão alimentar.

Observaram também que o peso do fígado (% do peso corporal) das aves que receberam CLA foi maior, mas continha menos lipídios (g/kg) do que o outro grupo.

Szymczyk *et. al.* (2001) avaliaram características de carcaça e desempenho de frangos de corte e concluíram que os animais alimentados com CLA tiveram o crescimento deprimido, e consideraram o resultado coerente com pesquisas em outros modelos animais, onde também foi fornecido 1,5% de CLA.

Em geral, as pesquisas com frangos de corte têm demonstrado que o CLA reduz o ganho de peso, no entanto, os resultados das pesquisas com poedeiras têm sido bastante diversos.

Latour *et. al.* (2000) avaliaram fêmeas Leghorn (42 semanas de idade) que receberam 0,00%, 0,25% ou 0,5% de CLA, e verificaram que o maior nível de CLA aumentou o peso vivo das fêmeas.

Chamruspollert & Sell (1999) avaliaram fêmeas Leghorn às 26 semanas recebendo 0, 0,5; 2,5 e 5,0% de CLA na dieta e posteriormente 0,0 ou 5,0% de CLA para as aves com 62 semanas de idade. Esses pesquisadores não observaram efeito do CLA na taxa de postura ou ganho de peso das aves. No experimento com poedeiras mais jovens, o consumo decresceu quando as aves receberam 5% de CLA e isso proporcionou melhor conversão alimentar por dúzia de ovos produzidos, mas os pesos de ovo e gema foram menores. Quando a avaliação foi feita com aves de 62 semanas, os pesos do ovo e da gema não foram afetados, embora o consumo também tenha sido reduzido pelo nível de 5% de CLA na dieta.

Raes *et. al.* (2002) avaliaram poedeiras ISA-brown (53-59 semanas) e não verificaram diferenças no consumo, taxa de postura, conversão alimentar e peso de ovo entre as aves alimentadas com a dieta controle ou suplementada com 1% de CLA.

Szymczyk & Pisulewski (2003) avaliaram poedeiras de 25 semanas de idade alimentadas com dietas contendo de 5 a 20 g de CLA/kg de dieta ou contendo óleo de girassol (sem CLA), e não encontraram qualquer efeito do CLA sobre a postura, consumo de ração e peso de gema, porém, a massa de ovos produzida foi reduzida na presença de CLA. Diferentes resultados foram observados quando a dosagem de CLA foi maior, por exemplo, Ahn *et. al.* (1999), alimentaram poedeiras com uma dieta que continha 50 g CLA/kg e verificaram que o consumo e taxa de postura foram adversamente afetados, mas nenhum efeito na massa de ovos foi detectado.

A manipulação de ácidos graxos na gema do ovo pode ser realizada pela adição de gordura na dieta das fêmeas (Cherian & Sim, 1991). Latour *et. al.* (1998) encontraram que a inclusão de óleo de milho, gordura de aves e banha interagem com a idade da matriz, afetando as concentrações dos ácidos oléico, linoléico e araquidônico na gema de ovos frescos.

O CLA compete com os ácidos linoléico e linolênico pela enzima $\Delta 6$ -dessaturase, que converte esses dois ácidos graxos em ácidos araquidônico e docosahexaenóico, respectivamente, nos microssomas do fígado (Belury & Kempa-Steczko, 1997). Isso pode levar a uma redução da presença dos ácidos araquidônico e docosahexaenóico nos lipídios dos ovos, contudo, não é conhecido se as mudanças do perfil de ácido graxos da gema são resultados da mistura de isômeros de CLA ou de um isômero específico (Aydin *et. al.*, 2001).

Hertad *et. al.* (2000) estudaram o efeito da suplementação de óleo de peixe com um aumento dos níveis dietéticos de antioxidantes e vitamina E em dietas de matrizes de corte da 6ª até a 32ª semanas de idade e concluíram que o peso dos ovos foi significativamente reduzido, a percentagem de ovos férteis e de eclosão em relação aos ovos férteis foi drasticamente reduzida nas aves que receberam 3% de óleo de peixe na dieta, sendo que a presença de antioxidante não afetou estas variáveis. O desempenho da prole também foi avaliada, e os pesquisadores mostraram que, ao nascimento os pintos do tratamento 3% de óleo de peixe foram em média menores que os outros pintos, e a taxa de crescimento também foi reduzida. Ao estudarem a composição da gema, verificaram que o conteúdo de gordura da gema não foi afetado pelas dietas, mas o perfil de AG foi significativamente alterado pelo tipo de gordura da dieta, em particular, os AGs C20:5 ω -3, C22:5 ω -3 e C22: ω -6 aumentaram, enquanto o C18:1 ω -9 e C18:1 ω -6 decresceram quando as dietas com óleo de peixe foram fornecidas.

Pode-se facilmente perceber que a literatura disponível sobre o CLA está baseada unicamente em pesquisas realizadas com poedeiras e isso se deve ao interesse dos pesquisadores em produzir alimentos nutracêuticos, ou seja, ovos enriquecidos com CLA que proporcionem benefícios à saúde do consumidor.

Apesar do grande esforço em localizar resultados de pesquisas sobre os efeitos do CLA em Reprodutoras Avícolas Pesadas, nenhum artigo que tratasse especificamente de CLA para Matrizes de Corte foi encontrado.

2.8.3. Efeitos na embriogênese e progênie

O perfil de ácidos graxos dos ovos pode ser facilmente alterado pela utilização de diferentes fontes de gordura na dieta das galinhas (Leskanish & Noble, 1997). Nos estudos de Jones *et. al.* (2000), as aves Leghorn alimentadas com 0,5 e 1,0g de CLA/kg apresentaram mais CLA nos lipídios da gema do que aves que receberam 0,01 g/kg ou não receberam CLA na dieta após sete dias de experimento e essa diferença aumentou no decorrer do tempo.

Durante o processo de incubação ocorrem numerosas mudanças na composição dos ácidos graxos (Noble & Cocchi, 1990). Mais de 90% da energia da qual deriva o embrião tem origem na oxidação dos lipídios da gema (Romanoff, 1960). Assim, as transformações na composição de ácidos graxos são importantes para o pinto em vários momentos durante o seu desenvolvimento.

A quantidade relativa de material lipídico usada para o desenvolvimento do embrião é alta durante a última semana de incubação (Noble & Cocchi, 1990), mas uma grande proporção permanece ao nascimento e é utilizada até o quinto dia após o nascimento. Nesses cinco dias, os pintos obtêm os lipídios da gema via lipoproteína (Latour *et. al.*, 1995).

Por exemplo, ácidos graxos das séries ω -3 e ω -6 com 20-22 carbonos, e particularmente os ácidos graxos 20:4 ω -6 e 22:6 ω -3, exercem função essencial no desenvolvimento neural embriônico ou neonatal na maioria dos vertebrados (Neuringer *et. al.*, 1988). Essa informação foi reafirmada por Cherian & Sim (1993), os quais observaram que o desenvolvimento do embrião de *Gallus gallus* parece ocupar preferencialmente o ácido docosahexaenóico (C22:6 ω -3) e ácido araquidônico (c20:4 ω -6) dos lipídios da gema, e Anderson *et. al.* (1989) encontraram que o C20:5 ω -3 é transformado em grande parte para c20:6 ω -3 antes de ser depositado nos tecidos corporais.

Li & Watkins (1998) sugerem que o CLA inibe a ação da Δ 9-dessaturase (enzima que é bastante ativa nos estágios iniciais de utilização da gema), assim, potencialmente alterando o balanço de ácidos graxos específicos usados durante a embriogênese. Portanto, as alterações na Δ 9-dessaturase via CLA podem modificar a composição e concentração de lipoproteínas circulantes nos embriões e pintos recém-nascidos (Latour *et. al.*, 2000).

Em trabalho de Szymczyk & Pisulewski (2003), as concentrações relativas de 16:0 e 18:0 foram aumentadas e a de ácidos graxos monoinsaturados (16:1 ω -7 e 18:1 ω -9) diminuíram significativamente nos lipídios da gema de galinhas Hy-line Brown alimentadas com dietas contendo de 5 a 20 g de CLA/kg de dieta. Nessa pesquisa, os isômeros cis-9,trans-11 e cis-11,trans-13 foram preferencialmente incorporados aos lipídios da gema, quando comparados com os isômeros trans-8, cis-10 e trans-10, cis-12. Estes efeitos podem ser de interesse para explicar questões práticas, uma vez que o grau crescente de saturação dos lipídios da gema afeta negativamente a qualidade dos ovos e causa 100% mortalidade embrionária nos ovos férteis (Aydin *et. al.*, 2001).

De acordo com Aydin *et. al.* (1999a, 1999b e 1999c), estudos prévios mostraram que CLA dietético induz mortalidade embrionária em várias espécies de aves.

Lee (1996) também cita que o CLA dietético tem demonstrado causar mortalidade completa em embriões de pintinho de galinhas poedeiras alimentadas com 0,5% CLA.

Aydin & Cook (2004) citaram dados não publicados do primeiro autor em que os ovos de codornas suplementas com 0,00% , 0,25% e 0,5% de CLA na dieta apresentaram eclodibilidade de 77%, 75% e 55% respectivamente. No entanto, Latour *et. al.* (2000) não encontraram diferenças significativas na fertilidade, eclodibilidade, mortalidade embrionária (precoce, intermediária ou tardia) ou no peso dos pintos ao nascimento.

Aydin *et. al.* (2001) consideram que o mecanismo que leva à mortalidade embrionária do pintinho como resultado de ingestão materna de CLA tem que ainda ser determinado.

Latour *et. al.* (2000) avaliaram fêmeas Leghorn que receberam dietas sem suplemento ou suplementadas com cápsulas contendo um (1) grama de CLA ou óleo de açafrão no esquema dia-sim dia-não (equivalendo a 0,5% de suplemento na dieta), ou a cápsula de CLA a cada quatro dias (equivalendo a 0,25% suplemento na dieta), e verificaram que o maior nível de CLA modificou o uso de ácidos graxos específicos na progênie recém-nascida, mas não alterou o consumo e sobrevivência destes pintos até o sexto dia de idade.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Experimento I (Matrizes)

“Desempenho de Matrizes de Corte alimentadas com dietas contendo níveis de CLA”

3.1.1. Local e período experimental

Esta pesquisa foi conduzida no Laboratório de Avicultura (LAVIC) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, no período compreendido entre julho e setembro de 2005.

3.1.2. Fase pré-experimental (cria, recria e reprodução I)

Durante esse período as aves receberam alimentação (dietas a base de milho, farelo de soja e de trigo) e manejo recomendados no manual da linhagem. Os machos foram criados separados das fêmeas até as 20 semanas de idade, quando então foram alojados juntos.

3.1.3. Animais avaliados

Foram avaliadas 400 matrizes de corte da linhagem Ross 308. Um dia antes do início do experimento, todas as aves foram individualmente pesadas e distribuídas nas unidades experimentais de acordo com o peso corporal para permitir que todos os tratamentos possuíssem aves com mesma condição corporal, e então as aves foram avaliadas da 44^a até a 51^a semana de idade.

Juntamente com as fêmeas foram alojados 40 reprodutores – dois em cada box – com a mesma idade das fêmeas, os quais não foram avaliados no experimento.

3.1.4. Instalações e equipamentos

As matrizes foram alojadas em galpão experimental de 300m² que possui piso de alvenaria, laterais com tela e mureta, cobertura com telhas de barro e lanternim. Para o experimento foram utilizados 20 boxes de 5m² cada, os quais constituíram as unidades experimentais. Todos os boxes possuíam oito bocas de ninho, um bebedouro pendular, dois comedouros de machos e dois comedouros pendulares com grade para as fêmeas.

3.1.5. Manejo na fase experimental

As aves eram arraçadas diariamente às 8:00 horas, sendo que todos os machos receberam a mesma dieta do tratamento testemunha. Os ovos eram coletados quatro vezes por dia, a água estava sempre disponível e o material de cama era revolvido uma vez por semana ou se necessário trocado para manter boas condições para o lote. O período de luz permaneceu constante em 16:30 durante todo o experimento. A temperatura era monitorada diariamente através de termômetro de mínima e máxima, conforme Figura 5.

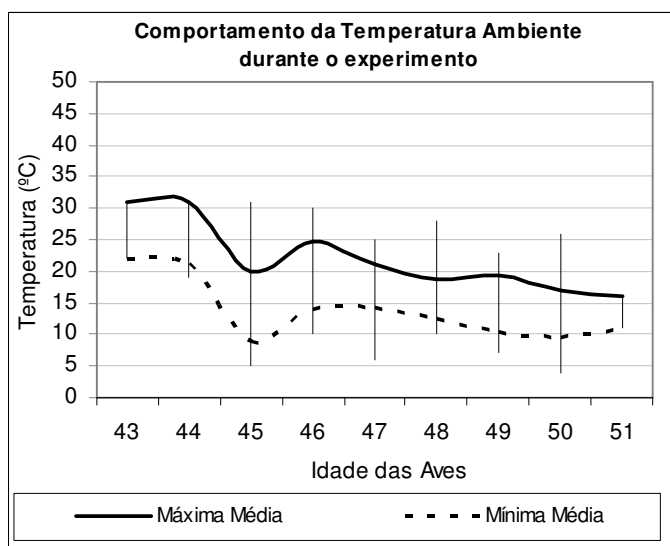


Figura 5 – Variação da temperatura ambiental durante o experimento I.

No período de avaliação, a quantidade de dieta fornecida para todas as aves foi de 171g na 43ª semana de idade, 169g na 44ª, 167g na 45ª, 164g na 46ª e 162g a partir da 47ª semana. Esta quantidade foi determinada conforme indicativos do manual da linhagem e em função dos índices produtivos do lote.

3.1.6. Dietas e tratamentos

As dietas isonutritivas foram formuladas à base de milho, farelo de trigo e farelo de soja, diferindo entre si apenas pela quantidade de CLA. Observe-se que o produto comercial utilizado como fonte de ácido linoléico conjugado foi sintetizado a partir de óleo de girassol, sendo que a composição de garantia do produto comercial é de que o mesmo contém no mínimo 30% do isômero cis-9,trans-11 e 30% do isômero trans-10,cis-12, ou seja, 60% de CLA no produto comercial.

Os tratamentos foram constituídos pelos níveis de suplementação de CLA na dieta: - Dieta sem CLA (0,00%); - Suplementação de 3kg de CLA-60/ton de dieta (0,18% CLA); - Suplementação de 6kg de CLA-60/ton de dieta (0,36% CLA); - Suplementação de 9kg de CLA-60/ton de dieta (0,54% CLA). A composição das dietas dos tratamentos encontra-se na Tabela 01.

Tabela 01 - Composição (%) das dietas experimentais

Ingredientes (%)	0,00% CLA	0,18% CLA	0,36% CLA	0,54% CLA
CLA-60*	0,00	0,30	0,60	0,90
Óleo Girassol**	0,90	0,60	0,30	0,00
Milho	63,75	63,75	63,75	63,75
Farelo de soja	22,80	22,80	22,80	22,80
Farelo de Trigo	3,20	3,20	3,20	3,20
Fosfato Bicálcico	1,88	1,88	1,88	1,88
Calcário	6,43	6,43	6,43	6,43
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30
Bicarbonato de Sódio	0,24	0,24	0,24	0,24
Premix Vit. Min.	0,50	0,50	0,50	0,50

Composição nutricional calculada = 2800kcal/kg EMAn; 16% PB; EE 3,52%; FB 2,87%; 3%Ca; 0,45% Pd; 0,64%K; 0,21% Cl; 0,19% Na; AA dig. (0,97%, Arg., 0,71% Lis., 0,35% Met., 0,58%Met+Cis, 0,53%Treo, 0,17% Trip., 0,60% Isoleu., 0,66% Val., 1,36% Leu., 0,40% Hist., 1,22% Fen+Tir., 0,72% Fen.) Colina 990mg/kg.

* Produto comercial que contém aproximadamente 30% de CLAc9,t11, 30% de CLAt10,c12, por isso recebeu a denominação de CLA-60.

** Adicionado para manter todas as dietas com a mesma quantidade total de óleo.

3.1.7. Variáveis estudadas

Foram avaliados o desempenho das matrizes e a composição dos ovos. As aves de todas as unidades experimentais foram pesadas (em caixas com 10 aves cada) ao final de cada semana e o ganho de peso das aves foi calculado pela diferença entre as pesagens.

A postura foi registrada diariamente, então foi obtida a média semanal que foi analisada. Os ovos foram coletados quatro vezes ao dia e identificados por box para as medições ou selecionados para incubação. A proporção de albúmen, gema e casca foram obtidas pela pesagem de todos os ovos produzidos nas unidades experimentais no último dia de cada semana.

3.1.8. Delineamento e análise estatística

O experimento foi analisado com delineamento inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições (cada repetição foi composta por um box com 20 matrizes e dois machos). Através do SAS (2001), as variáveis obtidas foram submetidas à análise de variância e quando detectadas diferenças significativas, ao teste de Tukey (5%), conforme os modelos matemáticos:

$$\text{Modelo geral: } Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Onde Y_{ijk} é o valor observado no i -ésimo nível de CLA, na j -ésima semana e k -ésima repetição; μ é média de todos os tratamentos; α_i é o efeito do i -ésimo nível de CLA; β_j é o efeito da j -ésima semana; γ_k é o efeito da k -ésima repetição dentro do i -ésimo nível de CLA; $(\alpha\beta)_{ij}$ é a interação entre o nível de CLA e a semana; ϵ_{ijk} é o erro aleatório associado à observação Y_{ijk} .

3.2. Experimento II (Incubação)

“Influência do CLA fornecido para as Matrizes de Corte sobre a
embriogênese”

3.2.1. Períodos de coleta dos ovos

Inicialmente, as matrizes receberam os tratamentos do experimento I, ou seja, da 44^a até a 51^a semanas de idade. Após estas oito semanas, as matrizes receberam durante 25 dias uma dieta basal, e então os tratamentos foram novamente aplicados nas respectivas unidades experimentais durante 19 dias (55^a até 58^a semana), sendo selecionados os ovos produzidos nos últimos sete dias para realizar a incubação, ou seja, foram coletados os ovos das matrizes quando estas estavam com idade entre a 57^a e 58^a semanas.

3.2.2. Manejo de coleta e armazenamento

Após cada coleta, os ovos aptos à incubação ficaram armazenados em uma sala com temperatura controlada até o momento da incubação. Após o último dia de cada período de coleta, os ovos ficaram armazenados durante mais dois dias e então foram incubados, assim, se considerado o primeiro dia de coleta, o tempo máximo de armazenamento até a incubação dos ovos foi nove dias.

3.2.3. Incubação

Para incubação dos ovos foi utilizada a estrutura existente no LAVIC, que possui capacidade de produção de 9.300 pintos por semana. Procurou-se manter uma distribuição homogênea das bandejas de ovos dos tratamentos, tanto na incubadora quanto no nascedouro, como forma de impedir qualquer variação devida ao processo de incubação. Os ovos foram colocados na incubadora por 18 dias e foram transferidos para um nascedouro, então, no 21^o dia, dia da retirada dos

pintinhos do equipamento, os pintos nascidos da segunda incubação foram selecionados, pesados, vacinados e sexados no incubatório.

3.2.4. Embriodiagnóstico e classificação dos pintos nascidos

A quebragem dos ovos para avaliação visual do estágio em que ocorreu a morte dos embriões foi feita em todos os ovos incubados. Com isso, foi possível estabelecer se os embriões cessaram o desenvolvimento até o 7º dia (variável denominada M1), se a morte ocorreu entre o 8º e 14º dias (M2), se ocorreu entre o 15º e 18º dias foi denominada M3, após esse período a mortalidade foi denominada M4, sendo classificado como Bicado os ovos em que o pinto iniciou a perfuração da casca e morreu. Também, foram quantificados os ovos não fertilizados e os contaminados. Os percentuais de cada classe foram calculados a partir do número de ovos incubados.

Os pintos nascidos foram vacinados, sexados e classificados, onde se consideraram de primeira (1ª) os pintos com umbigo bem cicatrizado, plumagem seca e aprumos perfeitos, sendo estas aves destinadas à execução do experimento de desempenho da progênie.

3.2.5. Delineamento e análise estatística

O experimento foi analisado com delineamento inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições (cada repetição foi composta pelos boxes de origem dos ovos). Através do SAS (2001), as variáveis obtidas foram submetidas à análise de variância e quando detectadas diferenças significativas, ao teste de Tukey (5%), conforme os modelos matemáticos:

$$\text{Modelo geral: } Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Onde Y_{ij} é o valor observado na j-ésima repetição do i-ésimo nível de CLA; μ é média de todos os tratamentos; α_i é o efeito do i-ésimo nível de CLA; ϵ_{ij} é o erro aleatório associado à observação Y_{ij} .

$$\text{Modelo de regressão: } \hat{Y}_{ij} = \alpha + \beta X_{ij} + \varphi_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Onde $\hat{Y}_{ij}$ representa a variável dependente; α e β são os coeficientes da regressão; x_{ij} representa as variáveis independentes; φ_{ij} representa os desvios da regressão; ε_{ij} é o erro aleatório determinado previamente através do modelo geral.

3.3. Experimento III (Desempenho da progênie)

“Desempenho da Progênie de Matrizes de Corte alimentadas com dietas contendo níveis de CLA”

3.3.1. Período experimental

O teste de progênie foi desenvolvido para verificar os possíveis efeitos residuais do CLA sobre o crescimento dos pintos na fase inicial, ou seja, o período experimental ficou restrito aos primeiros 21 dias de vida da progênie.

3.3.2. Animais avaliados

Os pintos machos provenientes do experimento II foram utilizados para a avaliação de progênie. Em função do reduzido número de animais disponíveis para o alojamento, no tratamento 0,54%CLA foram alojados apenas três pintos em cada uma das três repetições e nos tratamentos 0,00%CLA, 0,18%CLA e 0,36%CLA foram alojados 10 pintos em cada uma das cinco repetições.

3.3.3. Instalações e equipamentos

O experimento foi conduzido em uma bateria tipo *Petersime*, com 20 compartimentos, dos quais 18 foram utilizados, instalada em uma sala experimental climatizada. Cada unidade experimental possuía comedouro e bebedouro do tipo calha.

3.3.4. Manejo

Foi mantida temperatura ambiente recomendada no manual de manejo dessa linhagem, havia iluminação 24 horas durante todo o período e, água e dieta foram fornecidas *ad libitum*. A pesagem das aves, da dieta fornecida e das sobras foi realizada ao final de cada semana.

3.3.5. Dieta e tratamentos

Todas as aves receberam dieta inicial única, formulada à base de milho e farelo de soja. Os níveis nutricionais foram calculados em 22% de PB; EM 3050 kcal/kg; 1% cálcio; 0,45% fósforo útil; 1,3% lisina; 0,56% metionina; 0,92% Met.+Cis.; 0,8% treonina e 0,2% triptofano.

Os tratamentos constituíram-se da origem dos pintos, conforme indicado abaixo:

- 0,00% = pintos oriundos de matrizes que não receberam CLA na dieta;
- 0,18% = pintos oriundos de matrizes que receberam 0,18% de CLA de dieta;
- 0,36% = pintos oriundos de matrizes que receberam 0,36% de CLA de dieta;
- 0,54% = pintos oriundos de matrizes que receberam 0,54% de CLA de dieta.

3.3.6. Variáveis estudadas

Semanalmente, foi avaliado o peso corporal, consumo de dieta, ganho de peso, mortalidade, conversão alimentar em relação ao peso vivo e em relação ao ganho de peso. A mortalidade também foi analisada.

3.3.7. Delineamento e análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso desbalanceado, com quatro (4) tratamentos, sendo cinco (5) repetições nos tratamentos 0,00%CLA, 0,18%CLA e 0,36%CLA e três (3) repetições no 0,54%CLA. Após a obtenção dos dados, esses foram submetidos às análises de variância e, quando detectadas

diferenças significativas, ao teste de Tukey (5%). Esses procedimentos estatísticos foram realizados através do SAS (2001), conforme o modelo matemático:

$$\text{Modelo geral: } Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde Y_{ij} é o valor observado na j -ésima repetição do i -ésimo nível de CLA; μ é média de todos os tratamentos; α_i é o efeito do i -ésimo nível de CLA; ε_{ij} é o erro aleatório associado à observação Y_{ij} .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito do CLA sobre as Matrizes

O fornecimento de níveis de CLA não provocou variações no peso das Matrizes em nenhuma das oito semanas experimentais, conforme Tabela 2. Esses resultados poderiam ter origem no protocolo experimental, em que se determinou um período de avaliação de apenas oito semanas para aves de uma linhagem cuja característica é maior prolificidade (e por isso com menor potencial de ganho de peso entre as linhagens de corte) e ainda tinham a alimentação restrita para manter os padrões de manejo das criações comerciais.

No entanto, a alimentação restrita não pode justificar a ausência de variação entre os tratamentos, pois Ko *et. al.* (2004) também não conseguiram reduzir o ganho de peso de frangos de corte quando o período de fornecimento de CLA foi apenas na fase de crescimento dos frangos, mesmo essas aves tendo alimentação *ad libitum*.

O curto período de avaliação e a menor tendência de ganho de peso dos animais também podem ser descartados, já que Shang *et. al.* (2004) detectaram diferenças significativas ao avaliar poedeiras por um período de tempo igual ao do presente experimento.

A explicação para a ausência de resultados do presente experimento parece ser o nível de CLA, já que no trabalho de Shang *et. al.* (2004), houve redução do ganho de peso das aves com o aumento do CLA até o nível de 6%.

No presente experimento, o ganho de peso após oito semanas de fornecimento de CLA foi de 151 g, 127 g, 116 g e 92 g nos tratamentos 0,00%, 0,18%, 0,36% e 0,54% CLA, respectivamente ($P>0,1$). Esses resultados sugerem que quando se fornece baixos níveis de CLA pode ser necessário um período mais longo para produzir diferenças significativas.

Tabela 2 – Efeito do CLA sobre o peso corporal (kg) de matrizes de corte AgRoss 308

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
43	3,48 ± 0,22	3,48 ± 0,19	3,49 ± 0,20	3,51 ± 0,21	NS	5,87
44	3,53 ± 0,18	3,49 ± 0,15	3,52 ± 0,17	3,54 ± 0,18	NS	4,85
45	3,59 ± 0,17	3,58 ± 0,17	3,58 ± 0,16	3,57 ± 0,16	NS	4,66
46	3,60 ± 0,14	3,56 ± 0,19	3,61 ± 0,16	3,62 ± 0,17	NS	4,53
47	3,57 ± 0,14	3,50 ± 0,18	3,53 ± 0,11	3,58 ± 0,18	NS	4,37
48	3,57 ± 0,13	3,54 ± 0,17	3,55 ± 0,14	3,57 ± 0,13	NS	4,04
49	3,59 ± 0,12	3,55 ± 0,16	3,56 ± 0,11	3,57 ± 0,13	NS	3,68
50	3,63 ± 0,12	3,57 ± 0,16	3,59 ± 0,12	3,59 ± 0,14	NS	3,77
51	3,63 ± 0,12	3,61 ± 0,16	3,61 ± 0,14	3,60 ± 0,14	NS	3,86
Média	3,58	3,54	3,56	3,57	NS	4,16

Média ± Desvio Padrão

Tukey'HSD (P>0,1)

Embora o planejamento do experimento tenha priorizado o peso das aves como parâmetro a ser uniformizado nas unidades experimentais para o início do trabalho, a postura média dos tratamentos no início do experimento foram bastante similares, com exceção do tratamento 0,36%, que estava com a postura cerca de 2% acima dos demais tratamentos (P>0,1). No decorrer do experimento não houve qualquer influência dos tratamentos sobre a postura (%), como pode ser observado nas Tabela 3.

Esses resultados são condizentes com os encontrados por Szymczyk & Pisulewski (2003) que forneceram óleo de girassol ou até 2% de CLA sem afetar a postura, e com os obtidos por Chamrusspollert & Sell (1999) que forneceram até 5% de CLA.

Tabela 3 – Postura (%) de matrizes de corte AgRoss 308 suplementadas com CLA

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
44	72,88 ± 4,30	72,41 ± 5,31	74,68 ± 3,31	72,34 ± 2,96	NS	5,57
45	79,19 ± 3,39	78,48 ± 4,67	77,34 ± 4,26	73,96 ± 4,48	NS	5,47
46	76,69 ± 3,53	76,52 ± 2,62	78,57 ± 4,70	76,98 ± 2,96	NS	4,59
47	69,75 ± 3,09	70,66 ± 3,43	73,12 ± 6,82	70,26 ± 2,71	NS	6,11
48	71,76 ± 3,88	71,36 ± 5,28	77,27 ± 3,73	73,12 ± 5,53	NS	6,37
49	68,77 ± 5,07	68,30 ± 5,67	74,42 ± 5,15	69,54 ± 4,96	NS	7,43
50	66,90 ± 4,17	67,53 ± 5,50	72,73 ± 8,06	68,08 ± 7,19	NS	9,31
51	64,90 ± 3,23	65,07 ± 5,10	70,91 ± 6,42	65,83 ± 6,95	NS	8,41
Média	71,36	71,29	74,88	71,26	NS	8,01

Média ± Desvio Padrão

Tukey'HSD (P>0,1)

O monitoramento de um lote comercial de aves é realizado diariamente ou semanalmente através de diversas medidas, sejam elas, o peso corporal, a postura, o tempo que as aves levam para consumir todo o alimento fornecido, a taxa de ovos incubáveis, a postura, o peso e as dimensões dos ovos. Esses indicadores são respostas das aves ao manejo, ambiência, nutrição e sanidade que lhes são proporcionados, e alguns destes indicadores são mais sensíveis do que outros. Por exemplo, antes de haver uma mudança na quantidade de ovos produzidos ocorre uma variação no peso destes como forma de resposta das aves a alguma mudança.

Foi exatamente isso que ocorreu no presente experimento, embora a postura não tenha divergido entre os tratamentos, o peso dos ovos e seus componentes foram afetados pelo CLA.

Nas Tabelas 4 a 7, observa-se que o tratamento testemunha apresentou maior peso dos ovos em cinco das oito semanas experimentais, que se refletiu em menor percentagem de casca em três semanas e maior percentual de albúmen em apenas uma. Numericamente, pode-se perceber que o CLA na dieta minimizou o aumento do peso dos ovos que naturalmente ocorre com o avanço da idade das aves, pois ocorreu um aumento do peso de 3,00g; 2,91g; 2,53g e 1,39g nos tratamentos 0,00%; 0,18%; 0,36% e 0,54%, respectivamente. Na média do período experimental, verificou-se que o aumento do aporte de CLA provocou redução do peso médio dos ovos sem modificar a proporção dos componentes dos ovos.

Aydin & Cook (2004) observaram que o fornecimento de 0,25% CLA aumentou o peso do ovo, enquanto que as codornas alimentadas níveis maiores (2 ou 3%) de CLA tiveram o peso dos ovos reduzidos, se comparados com os ovos das codornas alimentadas com 0,5% de óleo de canola.

Shang *et. al.* (2004) verificaram que o peso do ovo e o percentual de gema decresceram conforme aumentou o CLA dietético, enquanto que os percentuais de albúmen e casca aumentaram. No presente experimento ocorreu o mesmo com a variável peso de ovo, já o percentual de gema não variou, e o comportamento do percentual albúmen divergiu, pois os níveis 0,18% e 0,36% apresentaram significativamente menor do que o tratamento 0,00%CLA.

Tabela 4 – Peso dos ovos (g) de matrizes de corte AgRoss 308 suplementadas com CLA

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
43	67,20 ± 0,93	66,28 ± 1,69	65,02 ± 2,01	66,47 ± 1,88	NS	2,54
44	66,84 ± 1,92	66,44 ± 0,79	65,79 ± 1,35	65,71 ± 1,08	NS	2,03
45	66,99 ± 1,02 a	66,37 ± 1,71 ab	64,85 ± 0,58 ab	64,21 ± 2,07 b	0,0290	2,23
46	66,53 ± 1,14	66,61 ± 2,54	65,40 ± 1,44	65,12 ± 0,85	NS	2,46
47	67,93 ± 0,76 a	66,66 ± 1,33 ab	65,46 ± 0,77 bc	64,98 ± 1,01 c	0,0011	1,50
48	68,13 ± 1,15 a	67,51 ± 1,84 a	65,01 ± 0,61 b	66,16 ± 1,31 ab	0,0073	1,92
49	69,41 ± 1,35 a	67,23 ± 1,66 b	66,41 ± 1,22 b	66,79 ± 0,93 b	0,0107	1,95
50	69,71 ± 0,57 a	68,64 ± 2,66 ab	66,36 ± 1,35 b	67,66 ± 1,93 ab	0,0545	2,64
51	70,02 ± 1,35 a	69,19 ± 1,66 ab	67,55 ± 0,98 b	67,86 ± 1,63 ab	0,0487	2,08
Média	68,08 a	67,21 b	65,76 c	66,11 c	<,0001	2,55

Médias ± Desvio Padrão

abc Letras na mesma linha diferem significativamente - Tukey'HSD (P<0,1)

Tabela 5 – Casca (%) nos ovos de matrizes de corte AgRoss 308 suplementadas com CLA

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
43	12,63 ± 0,32	12,86 ± 0,37	12,67 ± 1,47	12,36 ± 1,55	NS	8,69
44	12,05 ± 0,47	12,40 ± 0,76	12,19 ± 0,46	12,25 ± 0,65	NS	4,91
45	11,73 ± 0,45	11,86 ± 0,51	11,87 ± 0,23	11,86 ± 0,56	NS	3,85
46	12,05 ± 0,16	12,24 ± 0,41	12,28 ± 0,40	12,13 ± 0,36	NS	2,86
47	11,53 ± 0,22 b	11,82 ± 0,18 ab	11,90 ± 0,19 a	11,88 ± 0,12 a	0,0215	1,57
48	12,27 ± 0,28	12,52 ± 0,38	12,28 ± 0,60	12,20 ± 0,78	NS	4,42
49	11,51 ± 0,22 b	12,03 ± 0,10 a	11,89 ± 0,21 a	11,90 ± 0,18 a	0,0024	1,57
50	11,44 ± 0,29	11,60 ± 0,27	11,70 ± 0,20	11,44 ± 0,22	NS	2,14
51	11,43 ± 0,32 b	11,87 ± 0,19 a	12,00 ± 0,19 a	11,98 ± 0,28 a	0,0084	2,14
Média	11,85	12,13	12,08	12,00	NS	1,85

Média ± Desvio Padrão

ab Letras na mesma linha diferem significativamente - Tukey'HSD (P<0,1)

Tabela 6 – Albúmen (%) nos ovos de matrizes de corte AgRoss 308 suplementadas com CLA

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
43	57,70 ± 0,38	57,18 ± 1,16	56,99 ± 1,03	57,68 ± 0,72	NS	1,53
44	57,65 ± 1,39	58,35 ± 0,99	58,00 ± 0,59	58,09 ± 1,08	NS	1,81
45	58,48 ± 0,56	58,39 ± 0,53	58,14 ± 0,71	58,05 ± 0,73	NS	1,09
46	59,06 ± 0,17	58,59 ± 0,39	58,50 ± 0,80	58,78 ± 0,32	NS	0,82
47	59,03 ± 0,36 a	58,01 ± 0,56 b	58,27 ± 0,51 b	58,41 ± 0,46 ab	0,0247	0,82
48	57,87 ± 0,71	57,58 ± 0,63	57,39 ± 0,73	57,58 ± 1,10	NS	1,41
49	58,27 ± 0,37	57,70 ± 0,56	57,75 ± 0,84	58,29 ± 0,27	NS	0,95
50	58,87 ± 0,83	58,17 ± 0,57	58,32 ± 0,66	58,69 ± 0,27	NS	1,06
51	58,03 ± 0,60	57,71 ± 0,40	57,58 ± 0,29	57,81 ± 0,89	NS	1,03
Média	58,33	57,97	57,88	58,15	NS	0,73

Média ± Desvio Padrão

ab Letras na mesma linha diferem significativamente - Tukey'HSD (P<0,1)

Tabela 7 – Gema (%) nos ovos de matrizes de corte AgRoss 308 suplementadas com CLA

Idade (Semanas)	Nível de CLA (%)				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
43	29,68 ± 0,57	29,96 ± 0,94	30,34 ± 0,57	29,96 ± 1,05	NS	2,71
44	30,30 ± 1,17	29,25 ± 0,50	29,81 ± 0,39	29,66 ± 1,08	NS	2,87
45	29,79 ± 0,36	29,74 ± 0,61	29,98 ± 0,57	30,09 ± 0,32	NS	1,60
46	28,89 ± 0,21	29,18 ± 0,35	29,22 ± 0,61	29,09 ± 0,19	NS	1,31
47	29,44 ± 0,23	30,17 ± 0,62	29,83 ± 0,37	29,71 ± 0,49	NS	1,52
48	29,86 ± 0,57	29,90 ± 0,38	30,33 ± 0,55	30,23 ± 0,45	NS	1,64
49	30,22 ± 0,40	30,27 ± 0,53	30,36 ± 0,64	29,81 ± 0,25	NS	1,58
50	29,69 ± 0,93	30,23 ± 0,60	29,98 ± 0,54	29,88 ± 0,27	NS	2,10
51	30,54 ± 0,47	30,42 ± 0,54	30,42 ± 0,33	30,21 ± 0,75	NS	1,80
Média	29,82	29,90	30,03	29,85	NS	1,27

Médias ± Desvio Padrão

TukeyHSD (P>0,1)

4.2. Embriodiagnóstico

A mortalidade embrionária, principalmente até o 14º dia de incubação (M1 e M2), foi aumentada pela elevação dos níveis de CLA fornecido às matrizes.

A explicação para a mortalidade provocada pelo CLA envolve as enzimas que catalisam o metabolismo dos diversos ácidos graxos. Li & Watkins (1998) sugerem que o CLA inibe a ação da $\Delta 9$ -dessaturase, que é uma enzima bastante ativa nos estágios iniciais de utilização da gema, assim, potencialmente alterando o balanço de ácidos graxos específicos usados durante a embriogênese. A $\Delta 9$ -dessaturase catalisa a inserção de uma dupla ligação na posição nove do ácido esteárico (C18:0), transformando-o em oléico (18:1), e dessa forma pode alterar a proporção de ácidos graxos saturados e monoinsaturados nos tecidos, conforme demonstrado por Szymczyk & Pisulewski (2003). Então, se o CLA inibe a $\Delta 9$ -dessaturase ele é capaz de aumentar o depósito de ácidos graxos saturados e reduzir a deposição de monoinsaturados (Kang *et. al.*, 2004). Estes efeitos podem ser de interesse para explicar os resultados do presente experimento, pois de acordo com Aydin *et. al.*, (2001) o grau crescente de saturação dos lipídios da gema afeta negativamente a qualidade dos ovos e causa 100% de mortalidade embrionária nos ovos férteis.

A mortalidade até o 7º dia (M1) no tratamento 0,54% foi superior a todos os demais tratamentos.

A mortalidade entre o 8º e 14º dias (M2), foi maior no nível 0,54% em relação ao 0,36%, que por sua vez foi maior que nos níveis 0,3 e 0,00%.

A mortalidade entre o 15º e 18º dias (M3) no tratamento 0,36%CLA foi maior que o tratamento 0,54%, que por sua vez apresentou maior mortalidade que os demais tratamentos.

A diferença entre o percentual de Bicados e M4 no tratamento 0,36% e 0,54% pode ser explicado pelo fato de que a mortalidade no tratamento 0,54% foi ainda mais intensa que no tratamento 0,36% nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário.

Mesmo as matrizes recebendo níveis baixos de CLA e por um curto período de tempo se comparados com a maioria das pesquisas realizadas com poedeiras, o nível de 0,54% do produto provocou a mortalidade de aproximadamente 82% dos embriões até o 14ª dia de desenvolvimento. Isso pode ser explicado pelo tempo de formação da gema no ovário, pois de um ponto de vista fisiológico, o período de 10-14 dias parece ser suficiente para incorporar o máximo de isômeros de CLA em lipídios da gema do ovo (Chamruspollert & Sell, 1999; Du *et. al.*, 1999; Jones *et. al.*, 2000; Aydin *et. al.*, 2001; Raes *et. al.*, 2002).

Observou-se que o nível de 0,18% de CLA fornecido às Matrizes não influenciou a eclodibilidade da progênie, contudo, o fornecimento de níveis maiores provocou uma drástica redução desta variável.

Esses resultados de eclodibilidade são coerentes com os encontrados por Aydin & Cook (2004) que avaliaram codornas japonesas alimentadas durante 7 semanas com dietas sem CLA (com óleo de canola), ou contendo as doses 0,25% 0,5% 1%, 2% ou 3% de CLA. Os resultados desses autores mostraram que nas doses de 1% a 3% não houve eclosões e que nas doses 0,5; 0,25 e 0,00%CLA a eclodibilidade foi de 64%, 86% e 84%, respectivamente. Eles encontraram que as dietas com 1-3% provocaram um decréscimo significativo de ácido araquidônico (C20:4 ω -6) nos lipídios da gema.

Os resultados mostraram que o CLA afeta diretamente a embriogênese provocando significativos prejuízos à incubação.

Lee (1996) também cita que o CLA dietético tem demonstrado causar mortalidade completa em embriões de pintinho de galinhas poedeiras alimentadas com 0,5% CLA. No entanto, Latour *et. al.* (2000) não encontraram diferenças

significativas na fertilidade, eclodibilidade, mortalidade embrionária (precoce, intermediária ou tardia) ou no peso dos pintos ao nascimento.

Tabela 8 - Mortalidade de embriões provenientes de Matrizes suplementadas com CLA na dieta

Variável (% dos ovos incubados)	% CLA na dieta das Matrizes				P	CV%
	0,00	0,18	0,36	0,54		
Nº Ovos incub.	250	270	251	230		
Fertilidade	96,40 ± 2,62	94,44 ± 3,90	92,43 ± 4,48	97,39 ± 1,27	NS	3,53
M1	1,60 ± 1,23 b	2,96 ± 2,28 b	1,60 ± 1,87 b	16,96 ± 3,33 a	<0,0001	41,09
M2	2,00 ± 0,16 c	2,22 ± 2,31 c	26,30 ± 5,33 b	64,79 ± 4,10 a	<0,0001	15,04
M3	0,40 ± 0,57 c	0,00 ± 0,00 c	10,27 ± 2,86 a	6,96 ± 1,72 b	<0,0001	39,23
M4	4,80 ± 4,83 b	7,77 ± 1,65 ab	14,35 ± 6,48 a	0,87 ± 1,23 b	0,0029	57,61
Bicado	0,00 ± 0,00 b	1,11 ± 1,08 ab	1,99 ± 1,13 a	0,00 ± 0,00 b	0,0097	101,35
Eclodido	87,60 ± 3,81 a	80,38 ± 7,18 a	37,93 ± 9,80 b	7,83 ± 0,51 c	<0,0001	11,70

Média ± Desvio Padrão

Letras diferentes na mesma linha variam significativamente - Tukey'HSD (P<0,05)

4.3. Desempenho da progênie

Aos sete dias, o peso dos pintos provenientes de matrizes que não receberam CLA foi superior a todos os outros, já aos 14 dias o nível 0,00% proporcionou maior peso que os níveis 0,36% e 0,54% e ao final dos 21 dias não existiam mais diferenças, conforme Tabela 9.

Como pode ser observado na Tabela 10, o ganho de peso até os sete dias foi menor nos pintos provenientes de matrizes que receberam 0,36% e 0,54% de CLA. Na segunda semana de idade apenas os pintos do nível 0,36% tiveram pior ganho que aqueles dos níveis 0,00% e 0,18% , efeito esse que representou o comportamento do ganho de peso até os 21 dias de idade.

Tabela 9 - Desempenho da prole de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo CLA

%CLA na dieta Materna	Peso vivo da progênie (g)			
	0 dias	7 dias	14 dias	21 dias
0,00%	48 ± 0,8	165 ± 6,8 a	404 ± 13,9 a	742 ± 27,7
0,18%	47 ± 1,9	150 ± 10,5 b	389 ± 16,4 ab	727 ± 14,5
0,36%	47 ± 1,5	141 ± 5,5 b	361 ± 9,7 c	689 ± 25,6
0,54%	47 ± 0,5	148 ± 10,8 b	380 ± 6,5 bc	723 ± 55,0
Média	47	151	384	720
P	NS	0,0042	0,0011	NS
CV%	2,88	5,54	3,35	4,16

Média ± Desvio Padrão

^{abc} Letras diferentes na mesma coluna variam significativamente- Tukey'HSD (P<0,05)

Tabela 10 - Desempenho da prole de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo CLA

%CLA na dieta Materna	Ganho de peso no período (g/ave)				GMD (g)
	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	0 - 21 dias	
0,00%	116 ± 6,5 a	239 ± 13,4 a	338 ± 30,2	694 ± 27,6	33,0 ± 1,3
0,18%	103 ± 11,3 ab	239 ± 9,1 a	337 ± 17,9	679 ± 13,7	32,3 ± 0,7
0,36%	94 ± 5,0 b	220 ± 11,0 b	328 ± 19,4	642 ± 25,1	30,6 ± 1,2
0,54%	101 ± 10,5 b	232 ± 4,6 ab	343 ± 51,3	676 ± 55,3	32,2 ± 2,6
Média	104	233	336	672	32,0
P	0,0064	0,0392	NS	NS	NS
CV%	8,15	4,57	8,6	4,43	4,43

Média ± Desvio Padrão

ab Letras diferentes na mesma coluna variam significativamente- Tukey'HSD (P<0,05)

O consumo alimentar dos pintos também foi afetado pelos tratamentos aplicados às matrizes, pois a progênie do tratamento 0,54% consumiu menos dieta até sete dias, e ao final dos 21 dias o menor consumo foi da progênie do nível 0,36%, conforme Tabela 11.

Tabela 11 - Desempenho da prole de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo CLA

%CLA na dieta Materna	Consumo no período (g/ave)			
	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	0 - 21 dias
0,00%	121 ± 5 a	339 ± 24	517 ± 28	981 ± 52 a
0,18%	107 ± 12 a	333 ± 11	531 ± 23	971 ± 24 a
0,36%	107 ± 16 a	309 ± 14	458 ± 38	877 ± 36 b
0,54%	82 ± 14 b	349 ± 54	536 ± 101	968 ± 96 a
Média	107	331	508	947
P	0,0068	NS	NS	0,0229
CV%	11,68	7,88	9,38	5,39

Média ± Desvio Padrão

ab Letras diferentes na mesma coluna variam significativamente- Tukey'HSD (P<0,05)

Tabela 12 - Desempenho da prole de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo CLA

%CLA na dieta Materna	Conversão Alimentar em relação ao ganho de peso (g:g)				Mortalidade (%) 0-21 dias
	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	0 - 21 dias	
0,00%	0,96 ± 0,04 b	1,42 ± 0,04	1,54 ± 0,10	1,41 ± 0,06	2,00 ± 4,5
0,18%	0,97 ± 0,07 b	1,39 ± 0,03	1,58 ± 0,10	1,43 ± 0,06	2,00 ± 4,5
0,36%	0,88 ± 0,11 b	1,41 ± 0,06	1,40 ± 0,14	1,37 ± 0,07	2,00 ± 4,5
0,54%	1,24 ± 0,11 a	1,51 ± 0,27	1,56 ± 0,13	1,43 ± 0,03	0,00 ± 0,0
Média	0,99	1,42	1,51	1,41	1,50
P	0,0003	NS	NS	NS	NS
CV%	8,32	7,59	7,68	4,09	248,42

Média ± Desvio Padrão

ab Letras diferentes na mesma coluna variam significativamente- Tukey'HSD (P<0,05)

Na Tabela 12, observa-se que a conversão alimentar dos pintos até sete dias foi pior no nível de 0,54%, já aos 14 e 21 dias não foram mais detectadas quaisquer

diferenças. O fornecimento 0,36% e 0,54% de CLA para as matrizes de corte provocou um aumento da mortalidade embrionária, no entanto, a mortalidade da progênie não foi influenciada pelos tratamentos aplicados às matrizes (Tabela 12).

Embora não se tenha encontrado na literatura consultada nenhuma pesquisa dos efeitos do CLA fornecido para matrizes de corte sobre o desempenho da progênie, os resultados deste experimento são parecidos com os resultados das pesquisas em que o CLA foi fornecido diretamente aos frangos de corte, ou seja, o CLA pode deprimir o crescimento, especialmente nos primeiros dias de vida das aves.

5. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho:

- O fornecimento de doses crescentes até o nível de 0,54% de CLA na dieta não é capaz de reduzir significativamente o ganho de peso de matrizes de corte AgRoss 308.

- O CLA não afeta a postura das matrizes de corte, mas reduz o peso dos ovos.

- A suplementação de 0,54% de CLA provoca a mortalidade de aproximadamente 82% dos embriões até o 14º dia de desenvolvimento.

- O fornecimento de 0,18% de CLA para matrizes de corte não influencia na eclodibilidade da progênie, entretanto, níveis maiores reduzem drasticamente esse índice. Portanto, o CLA afeta diretamente a embriogênese e, dependendo do nível fornecido na dieta materna, provoca significativas perdas na incubação.

- O CLA fornecido na dieta de matrizes de corte influencia o desempenho da progênie apenas nos primeiros dias de vida.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, D.U.; SELL, J.L.; JO, C.; CHAMRUSPOLLERT, M.; JEFFREY, M. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. **Poultry Science**, v.78, p.922–928, 1999.
- ALETOR, V.A.; HAMID I.I.; NIEB E.; PFEFFER E.. Low-protein amino acid-supplemented diets in broiler chickens: effects on performance, carcass characteristics, whole-body composition and efficiencies of nutrient utilization. **J. Sci. Food. Agric.** v.80, p.547-554, 2000.
- ANDERSON, G.J.; CONNOR W.E.; CORLISS J.D.; AND LIN D.S.. Rapid modulation of the (ω -3) docosahexaenoic acid levels in the brain and retina of the newly hatched chick. **J. Lipid. Res.**, V.30, p.443-441, 1989.
- AYDIN R.; AND 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, suppl.1, S81, 1999a.
- _____. Role of dietary oils in prevention of CLA-induced chick embryonic mortality and egg properties. **FASEB Journal**. 13:A541, 1999b.
- _____. Effects of dietary conjugated linoleic acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. **Poultry Science**, v.78, suppl.1, p.333, 1999c.
- _____. Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. **Journal of Nutrition**, v.131, p.800-806, 2001.

- BADINGA, L.; SELBERG, K.T.; DINGES, A.C.; COMER, C.W; and MILES R.D..
Dietary Conjugated Linoleic Acid Alters Hepatic Lipid Content and Fatty Acid
Composition in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v.82, p.111–116, 2003.
- BANNI , S.; ANGIONI, E.; CASU, V.; MELIS, M.P.; CARTA, G.; CORONGIU, F.P.;
THOMPSON, H.; IP, C. Decrease in linoleic acid metabolites as a potential
mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid.
Carcinogenesis, v.20, p.1019-1024, 1999.
- BANNI S. Conjugated linoleic acid metabolism. **Curr. Opin. Lipidol.**, v.13, p.261-
266, 2002.
- BELURY, M.A. Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique
chemical properties. **Nutr. Rev.**, v. 5, p.83–89, 1995.
- BELURY, M.A.; KEMPA-STECHKO A.. Conjugated linoléico acid modulates hepatic
lipid composition in mice. **Lipids**, v.32, p. 194-204, 1997.
- BRITISH NUTRITION FOUNDATIONS. Unsaturated fatty acids: nutritional and
physiological significance; report of the British Nutrition Foundation's Task
Force. London: Chapman and hall, 1994. 211p.
- BUDOWSKI, P; and CRAWFORD, M.A.. Effect of dietary linoleic acid and α -linolenic
acids on the fatty acid composition of brain lipids in the young chick. **Prog.**
Lipid Res., v.25, p.615-618, 1986.
- CALDER, P.C.. Ω -3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health
and diseases. **Ann. Nutr. Metab.**, v.41, p.203-234, 1997.
- CARTA, G.; ANGIONI, E.; MURRU, E.; MELIS, M.P.; SPADA, S.; BANNI, S.
Modulation of lipid metabolism and vitamin A by conjugated linoleic acid.
Prostaglandins, Leukotrienes and Essential FattyAcids, v.67, n.2/3, p.187-
191, 2002.

CHAMRUSPOLLERT, M.; and SELL, J.L. Transfer of Dietary Conjugated Linoleic Acid to Egg Yolks of Chickens. **Poultry Science**, v.78:1138–1150, 1999.

CHERIAN, G.; and SIM, J.S.. Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs, embryos, and newly hatched chicks. **Poultry Science**, v.70, p.917-922, 1991.

____. Omega-3 fatty acid and cholesterol content of newly hatched chicks from α -linolenic acid enriched eggs. **Lipids**, v.27, p.706-710, 1992.

____. Net transfer and incorporation of yolk ω -3 fatty acids into developing chick embryos. **Poultry Science**, v.72, p.98–105, 1993.

COOK, M., JEROME, D.; CRENSHAW, T.; BUEGE, P.; PARIZA., M.; ALBRIGHT, K.; SCHMIDT, S.; SCIMECA, J.; LOTGREN, P.; HENTGES, E.. Feeding conjugated linoleic acid improves feed efficiency and reduces carcass fat in pigs, In: Adipocyte Biology and Hormone Signaling Symposium. University of Wisconsin-Madison, Dept. Biochemistry (1999) P67.

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

DEATON JW, LOTT BD. Age and dietary energy effect on broiler abdominal fat deposition. **Poultry Science**, v.64, p.2161-2164, 1985.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLINS, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.11, p. 2620-2628, 2000.

DU, M; AHN, D.U.; & SELL, J.L.. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the composition of egg yolk lipids. **Poultry Science**, v. 78, p.1639–1645, 1999.

GRANLUND, L.; LARSEN, L.N.; NEBB, H.I.; PEDERSEN, J.I.. Effects of structural changes of fatty acids on lipid accumulation in adipocytes and primary hepatocytes . **Biochimica et Biophysica Acta**, 1687: 23– 30, 2005.

HA, Y.L.; GRIMM, N.K.; PARIZA, M.W.. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis**, v.8, p.1881-1887, 1987.

HAYASHI, A.A. **Efeito do ácido linoléico conjugado na atividade de enzimas reguladoras da lipogênese em ratas durante a lactação e suas implicações no metabolismo e na composição do leite**. 2003. 68f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

HERTAD, O.; OVERLAND, M.; HAUG, A.; SKREDE, A.; THOMASSEN, M.S.; EGAAS, E.. Reproductive Performance of Broiler Breeder Hens Fed ω -3 Fatty Acid-rich Fish Oil. **Acta Agric. Scand.**, Sect. A, Animal Sci., v.50, p.121–128, 2000.

HOLMAN, R.T. Nutritional and biochemical evidences of acyl interaction with respect to essential polyunsaturated fatty acids. **Prog. Lipids Res.** v.25, p.29, 1986.

HWANG, D.. **Dietary fatty acids and eicosanoid. Fatty Acids in Food and Their Health Implications**. Edited by C.K.C.M. Dekker, InC. NY, 1992.

INNIS, S.M.. Essential fatty acids in growth and development. **Prog. Lipids Res.**, v.30, p.39-103, 1991.

____. Essential dietary lipids: **Recent Knowledge in Nutrition**. 7th edition, edited by Ekhard E. Ziegler and L. J. Filer, Jr. ILSI Press. Whashington, DC, 1996.

JONES, S.; MA, D.W.L.; ROBINSON, F.E.; FIELD, C.J.; CLANDININ, M.T. Isomers of Conjugated Linoleic Acid (CLA) are incorporated into egg yolk lipids by CLA-fed laying hens. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2002-2005, 2000.

- KANG, K.; MIYAZAKI, M.; NTAMBI, J.M.; PARIZAA, M.W. Evidence that the anti-obesity effect of conjugated linoleic acid is independent of effects on stearyl-CoA desaturase expression and enzyme activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.315, p.532-537, 2004.
- KO, H.Y.; YANG; and JANG, I.S.; Effect of Conjugated Linoleic Acid on Intestinal and Y. H. Hepatic Antioxidant Enzyme Activity and Lipid Peroxidation in Broiler Chickens. **Asian-Australian J. Anim. Sci.**, v.17, n.8, p.1162-1167, 2004.
- LATOUR, M.A.; PEEBLES, E.D.; BOYLE, C.R.; BRAKE, J.D.; KELLOGG, T.F.. Changes in serum lipid lipoprotein and corticosterone concentrations during neonatal chick development. **Biological Neonate**, v.67, p.381-386, 1995.
- LATOUR, M.A.; PEEBLES, E.D.; DOYLE, S.M.; PANSKY, T.; SMITH, T.W.; BOYLE, C.R.. Broiler breeder age and dietary fat influence the yolk fatty acid profiles of fresh eggs and newly hatched chicks. **Poultry Science**, v.77, p.47-53, 1998.
- 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.
- LECLERQ, B.; ESCARTIN, R.. Further investigations on the effects of metabolisable energy content of diets on broiler performance. **Arch Geflügelk**, v.51, n.3, p.93-96, 1987.
- LEE, K.N.. **Conjugated Linoleic Acid and Lipid Metabolism**. Doctoral thesis, University of Wisconsin-Madison, WI. 1996.
- LEE, K.N.; PARIZA, M.W.; NTAMBI, J.M. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.248, p.817-821, 1998.

- LEGRAND, P.; MALLARD, J.; BERNARD-GRIFFITHS, M.A.; DOUAIRE M.; LEMARCHAL, P.. Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. In vitro studies. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.87B, n.4, p.789-792; 1987.
- LESKANICH, C.O.; & NOBLE, R.C. Manipulation of the ω -3 polyunsaturated fatty acid composition of eggs and meat. **World Poultry Science Journal**, v.53, p.155–183, 1997.
- LI, Y.; AND WATKINS, B.A.. Conjugated linoleic acids altered bone fatty acid composition and reduced ex vivo PGE2 biosynthesis in rats fed ω -3 or ω -6 fatty acids. **Lipids**, v.33, p.417-425, 1998.
- LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCCELLS, M.D.; BARROETA, A.C.; GRASHORN, M.A.. ω -3 enrichment of chicken meat using fish oil: Alternative substitution with rapeseed and linseed oil. **Poult Science**, v. 78, p.356-365, 1999.
- ____. Ω -3 enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: Fish oil. **Poult Science**, v.80, p.741-752, 2001.
- MacDONALD, J. I. S.; and SPRECHER, H.. Phospholipid fatty acid remodeling in mammalian cells. **Biochim. Biophys. Acta.**, v.1084, p.105, 1991.
- MANUAL de Manejo de Matrizes de corte AgRoss. Editora: Ígnea Design, Campinas, SP. Março/2002.
- MATEOS, G.G.; MÉNDEZ, J. **Influência de la nutrición sobre la calidad de la canal del broiler: deposición de grasa**. In: VII Curso de especialización Avances em nutrición y alimentación animal - FEDNA, Madrid, 1991.
- 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.

- MURPHY, M.G.. Dietary fatty acids and membrane protein function. **J. Nutr. Biochem.**, v. 1, p.68-73, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requeriments of Poultry**. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. 1994.
- NEURINGER, M.; ANDERSON, G.J.; CONNOR, W.E.. The essentiality of ω -3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. **Annual Reviews of Nutrition**, v.8, p.517-541, 1988.
- NOBLE, R.C.; AND COCCHI, M.. Lipid metabolism and the neonatal chicken. **Progress in Lipid Research**, v.29, p.107-140, 1990.
- OLIVEIRA, M.F. **Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa**. Documentos 237/Embrapa, Londrina: Embrapa Soja, 2004. 27p.
- OSTROWSKA, E.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R.; BAUMAN, D.; DUNSHEA, F.. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs, **Journal of Nutrition** , v.129, p.2037–2042, 1999.
- PARIZA, M.W. In: **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**. AOCS Press, Champaign, IL, v.1, p. 12–20, 1999.
- PARIZA M.W.; PARK Y.; COOK M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.283-298, 2001.
- PARIZA, M.W.; HARGRAVES, W.A.. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. **Carcinogenesis**, v.6, p.591-593, 1985.
- PARIZA, M.W.; HA, Y.L. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. **Medical Oncology Tumor Pharmacology**, v.7, p.169-171, 1990.

- PARK, Y.; ALRIGHT, K.L.; LIU, W.; STORKSON, J.M.; COOK, M.E.; PARIZA, M.W.
Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v.32, p.853-858, 1997.
- PARODI P.W.. Cows' milk fat components as possible anticarcinogenic agnts.
Journal of Nutrition, v.127, p.1055-1060, 1997.
- RAES, K.; HUYGHEBAERT, G.; DE SMET, S.; NOLLET, L.; ARNOOTS, S.;
DEMEYER, D.. The Deposition of Conjugated Linoleic Acids in Eggs of Laying
Hens Fed Diets Varying in Fat Level and Fatty Acid Profile. **Journal of
Nutrition**, v.132, p.182–189, 2002.
- ROMANOFF, A.L. **The Avian Embryo**. New York: MacMillan Publishing, 1960.
- SARDESAI, V.W.. Biochemical and nutritional aspects of eicosanoids. **J. Nutr.
Biochem.**, v.3, p.562-579, 1992a.
- _____. Nutritional role of polyunsaturated fatty acids. **J. Nutr. Biochem.**, v.3, p.154-
166, 1992b.
- SAS INSTITUTE INC. SAS System for Windows V 8. North Caroline: NCSU, 2001.
- SEHAT, N.; YURAWECZ, M.P.; ROACH, J.A.G.; MOSSOBA, M.M.; KRAMER,
J.K.G.; KU, Y.. Silver-ion high-performance liquid chromatography separation
and identification of conjugated linoleic acids isomers. **Lipids**, v. 33, p.217-
221, 1998.
- SHANG, X.G.; WANG, F.L.; LI, D.F.; YIN, L.J.D.; AND LI, J.Y.. Effects of Dietary
Conjugated Linoleic Acid on the Productivity of Laying Hens and Egg Quality
During Refrigerated Storage. **Poultry Science**, v.83, p.1688–1695, 2004.
- SIRRI, F.; MINELLI, G.; MELLUZZI, A.; FRANCHINI, A.. **Quality traits and
oxidative stability of ω -3 PUFA enriched chicken meat**. Proceedings of

XVIth European Symposium on the Quality of Poultry Meat, Saint-Brieuc, Francia, p.258-264. 2003.

SPRECHER, H.. **Interconversions between 20- and 22- carbon ω -3 and ω -6 fatty acids via 4-desaturase independent pathways.** In: Essential fatty acids and Eicosanoids. American Oil Chemists' Society. Campaign, IL. 18-22. 1992.

STEINHART, C.. Conjugated linoleic acid the good news about animal fat. **Journal of Chemical Education**, v.73, n.12A, p.302, 1996.

SZYMCZYK, B.; PISULEWSKI, P.M.; SZCZUREK, W.; HANCZAKOWSKI, P. Effects of conjugated linoleic acid on growth performance, feed conversion efficiency, and subsequent carcass quality in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.85, p. 465–473, 2001.

SZYMCZYK, B.; and PISULEWSKI, P.M.. Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition and cholesterol content of hen egg yolks. **British Journal of Nutrition**, v.90, p.93-99, 2003.

TSUBOYAMA-KASAOKA, N.; TAKAHASHI, M.; TANEMURA, K.; KIM, H.-J.; TANGE, T.; OKUYAMA, H.; KASAI, M.; IKEMOTO, S.; EZAKI, O.. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. **Diabetes**, v.49, p.1534–42, 2000.

VERHULST, A.; JANSEN, G.; PARMENTIER, G.; EYSEN, H.. **System Appl microbial**, v.9, p.12-15, 1987.

WATKINS, B.A., Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. **Journal of Nutrition**, v.121, p.1475-1485, 1991.

____. Biochemical and physiological aspects of polyunsaturates. **Poult. Avian Biol. Rev.**, v. 6, p.1-18, 1995.

WEST, D.B.; DELANY, J.P.; CAMET, P.M.; BLOHM, F.; TRUETT, A.A.; SCIMECA, J.. Effects of conjugated linoléic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. **Am J Physiol.**, v.275:R, p.667-672, 1998.

YANG, X. **Isolation, identification and characterization of conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus reuteri* PYR8.** Ph.D. Thesis, University of Wisconsin-Madison, 1997.