

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**RESPOSTA IMUNE E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE
SUBMETIDOS A VARIAÇÕES DIETÉTICAS DE VITAMINA E E SELÊNIO**

ISABEL CRISTINA MELLO DA SILVA
Médica Veterinária (UFRGS)
Mestre em Zootecnia (UFRGS)

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Doutor em
Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS) Brasil

Fevereiro de 2009

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao CNPq pela oportunidade. Ao Departamento de Zootecnia, que mais uma vez me recebeu como aluna, e à Ione Borcelli, pela força e amizade.

À Alltech do Brasil pela parceria, à Nutron Alimentos pelo fornecimento de minerais e vitaminas, à Merial e à Eleva pela doação de vacinas.

À professora Andréa Machado Leal Ribeiro, pela preciosa orientação, amizade e paciência. Ao professor Cláudio Canal, pela co-orientação e amizade, pela disponibilidade de seu laboratório e por continuar apoiando nossa linha de pesquisa.

Aos colegas e amigos do LEZO, em especial ao Luciano e à Maitê, pela ajuda em todos os momentos. Ao Laurício e à Cátia e aos bolsistas e voluntários: Thomas, Mariana, Vicente, Rodrigo, Raquel, Juliana, Gabriel, Dóris, Manuela e Márcio, e ao nosso funcionário Lauro.

Aos colegas do Laboratório de Virologia, pelo apoio na fase de análises, em especial à Marisa Macagnan e à Laura Almeida. À Danielle Gava pela força adicional. À Rosecler Pereira pelas análises histológicas. À equipe do LacVet pelas coletas de sangue e análises hematológicas.

À minha mãe, Lídia pelo amor e apoio incondicionais, e aos demais familiares e amigos por entenderem minhas ausências e a importância deste período em minha vida profissional, ficando todos na torcida por mim.

Resposta imune e desempenho de frangos de corte submetidos a variações dietéticas de vitamina E e selênio ¹

Autora: Isabel Cristina Mello da Silva
Orientadora: Andréa Machado Leal Ribeiro
Co-orientador: Cláudio Wageck Canal

RESUMO

Com o objetivo de estudar a resposta imune em frangos de corte, foram realizados dois experimentos (EXP). No EXP1, níveis e fontes de selênio (inorgânica= SeFI e orgânica=SeFO) foram testados na ração de frangos de corte: 0,3 mg/kg SeFI; 0,3 mg/kg SI + 0,2 mg/kg SeFO; 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO. As aves foram vacinadas contra Doença Infecciosa da Bolsa (DIB), e inoculadas com SRBC, Adjuvante Completo de Freund e tuberculina aviária. Foram avaliados desempenho, imunidade humoral, através da pesquisa de anticorpos (Ac), e imunidade celular através de reação à tuberculina inoculada na barbela. Também foram avaliados pesos de baços e bolsas cloacais, diâmetro e depleção linfocitária das bolsas (DLB), leucócitos totais (LT) e seus subtipos, e relação heterófilo/linfócito (H/L). As aves foram expostas a estresse por calor cíclico dos 22 aos 42 dias. No EXP 2, foram suplementados 30, 65 e 100 mg/kg de Vitamina E (VE) na ração de frangos vacinados (VaCC) e não vacinados (NVaCC) contra coccidiose. Avaliou-se desempenho, imunidade humoral através da pesquisa de Ac contra Doença de New Castle (DNC), além do perfil hematológico, H/L, pesos de baços e bolsas, diâmetro de bolsas e DLB. Nas aves VaCC foi avaliada a reação celular cutânea à fitohemaglutinina frente aos níveis de VE testados. No EXP1, o uso de SeFO estimulou consumo de ração em todo período experimental e menor DLB foi observada. Com o uso de SeFI, observou-se títulos de Ac contra DIB e contra SRBC mais altos. O nível de 0,3 mg/kg de SeFO resultou em menor relação H/L, comparado a 0,3 mg/kg de SeFI. Imunidade celular, bolsas e baços não sofreram efeito dos tratamentos. No EXP 2, as aves VaCC consumindo 65 mg/kg de VE mostraram melhor GP no período total, menor H/L e maiores títulos de Ac contra DNC. As aves VaCC tiveram os menores pesos e diâmetros de bolsas, porém menor DLB, sem efeito dos níveis de VE. O perfil hematológico não mostrou-se afetado pelos níveis de VE usados. O nível 65 mg/kg de VE mostrou reação celular mais duradoura nas aves vacinadas contra coccidiose. Os EXP mostraram que tanto a forma de selênio quanto os níveis de vitamina E podem modular a resposta imune de aves.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS (176 p.) Fevereiro de 2009.

Immune response and performance of broilers submitted to dietetic variations of vitamin E and selenium²

Author: Isabel Cristina Mello da Silva
Advisor: Andréa Machado Leal Ribeiro
Co-advisor: Prof. Cláudio Wageck Canal

ABSTRACT

In order to study the immune response in broilers two experiments (EXP) were conducted. In EXP 1, the following selenium levels and sources (inorganic= ISSe and organic= OSSe) were tested: 0,3 mg/kg ISSe; 0,3 mg/kg ISSe + 0,2 mg/kg OSSe; 0,5 mg/kg ISSe and 0,3 mg/kg OSSe. Birds were vaccinated against Infectious Bursal Disease (IBD) and inoculated SRBC, Freund's Complete Adjuvant and avian tuberculin. The evaluated responses were humoral immunity through antibody analysis (Ab), and cellular immunity through inoculated tuberculin reaction on the wattle. Also were evaluated spleen and bursa weights, bursa diameter and lymphocytary bursa depletion (LBD), total leucocytes (TL) and subtypes, and heterofil/linphocyte ratio (H/L). Birds were exposed to a cyclic heat stress program from 22 to 42 days. In EXP 2, birds were supplemented with 30, 65 and 100 mg/kg of vitamin E (VE) in the diet and were vaccinated (VaCC) and non vaccinated (NVaCC) against coccidiosis. Performance, humoral immunity through Ab analysis against New Castle Disease (NCD), blood analysis, TL and subtypes, H/L ratio, spleen and bursa weights, bursa diameter and LBD were evaluated. For VaCC birds cellular reaction to fitohemaglutinin was evaluated face to VE levels tested. In EXP1, the use of OSSe stimulated feed consumption during whole experimental period and lower LDB was observed. The use of ISSe increased Ab titles against IBD and SRBC. The 0,3 mg/kg OSSe level resulted in lower H/L ratio as compared to 0,3 mg/kg ISSe. Cellular immunity, bursas and spleen were no affected by treatments. In EXP 2, VaCC birds consuming 65 mg/kg of VE showed better WG in total period, lower H/L ratio and the greatest Ab tittles against NCD. VaCC birds had lower bursa weights and diameters but lower LDB also, without effect of VE levels. The blood analysis was not affected by VE levels. The 65 mg/kg of VE level showed the most persistent cellular reaction in VACC birds. The experiments showed that both Selenium source and Vitamin E levels can modulate the immune response in birds.

² Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (176 p.) February, 2009.

4. Capítulo IV – Efeito dos níveis de vitamina E na imunidade de frangos de corte vacinados contra coccidiose	77
5. Capítulo V	
5.1. Conclusões / Considerações Finais	88
6. Capítulo VI	
6.1. Referências Bibliográficas	93

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
Capítulo II	
Tabela 1. Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas experimentais	36
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte fêmeas recebendo diferentes níveis e fontes de Se na dieta nos períodos de 1 a 21 dias, 22 a 42 e 1 a 42 dias de idade	38
Tabela 3. Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas e diâmetro de bolsas de frangos de corte fêmeas, vacinados contra Doença Infecciosa da Bolsa e recebendo diferentes níveis e fontes de Se na dieta aos 42 dias.	41
Tabela 4. Frequência de escores de depleção linfocitária das bolsas de frangos de 42 dias, vacinados contra Doença Infecciosa da Bolsa aos 19 dias e recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta.	42
Tabela 5. Pesos e diferença de pesos entre barbela inoculada e não inoculada de frangos de corte aos 48 dias recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta	43
Tabela 6. Perfil hematológico de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta	45
Tabela 7. Títulos de anticorpos contra Doença Infecciosa da Bolsa (aos 19, 29, 35 e 42 dias de idade) e contra SRBC (aos 42 dias de idade) em aves recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta	48
Capítulo III	
Tabela 1. Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas basais	58
Tabela 2. Desempenho das aves recebendo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na dieta nos períodos 1 a 21, 22 a 36 e 1 a 36 dias de idade	62
Tabela 3. Efeito das interações entre níveis de vitamina E e	64

vacinação contra coccidiose sobre o ganho de peso (g) no período de 1 a 36 dias de idade.

Tabela 4.	Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas de frangos aos 36 dias consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na ração	64
Tabela 5.	Diâmetro de bolsas (mm) de frangos aos 36 dias de idade consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na ração	65
Tabela 6.	Depleção linfocitária das bolsas de frangos de corte de 36 dias consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose.	68
Tabela 7.	Análise do perfil hematológico de frangos de 34 dias submetidos a três níveis de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose	69
Tabela 8.	Efeito das interações entre níveis de vitamina E e vacinação contra coccidiose sobre a relação H/L	69
Tabela 9.	Títulos de anticorpos contra Doença de New Castle, obtidos em três momentos diferentes em frangos suplementados com 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose	72
Capítulo IV		
Tabela 1.	Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas experimentais.	81

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
Capítulo III	
Figura 1. Médias dos títulos de anticorpos (em \log^2) contra doença de New Castle em relação aos níveis de suplementação de vitamina E obtidos na segunda coleta em aves vacinadas contra coccidiose	73
Capítulo IV	
Figura 1. Espessuras dos espaços interdigitais após a aplicação de PHA-P em relação ao momento “zero” para aves vacinadas contra coccidiose consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na dieta	83

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BA	<i>Brucella abortus</i>
BI	Bronquite Infecciosa
BSA	“Bovine serum albumine”
CA	Conversão alimentar
CBH	“Cutaneous Basophil Hypersensitivity”
CR	Consumo de ração
CV	Coeficiente de variação
DNC	Doença de New Castle
DIB	Doença Infecciosa da Bolsa
SRBC	“sheep red blood cells”
EPC	Estresse por Calor Cíclico
EV	Endovenosa
GP	Ganho de peso
GPx	Glutathione Peroxidase
HI	“Hemagglutination Inhibition”
H/L	relação heterófilo/linfócito
log ₂	Logarítimo na base 2
mL	mililitro
μL	microlitro
P	probabilidade
Se-Cis	selenocisteína
Se-Met	selenometionina
SeFO	Selênio de fonte orgânica
®	Marca registrada
SeFI	Selênio de fonte inorgânica
TA	Tuberculina aviária
χ^2	Teste de Qui-Quadrado

CAPÍTULO I

1.1 Introdução

Nas últimas décadas, a avicultura brasileira tem experimentado enorme crescimento, estimulado pelo aumento de demanda do mercado externo. Buscando atender a esta demanda, as empresas agropecuárias e as várias áreas de conhecimento ligadas à atividade, têm alterado as práticas de manejo, a nutrição e a genética, em busca de resultados rápidos em termos de deposição protéica e pesos individuais das partes nobres de interesse da comercialização.

Paralelamente à esta maior eficiência na produção, observam-se na prática ocorrências indesejáveis, afetando o bom desempenho dos lotes. Aparentemente com bom potencial para resultados de produtividade, há lotes que demonstram problemas de pernas, desuniformidade, baixos ganhos de pesos semanais e particularmente, uma menor “resistência imunológica”, mesmo frente aos atuais programas sanitários eficientes.

As exigências nutricionais para frangos de corte já são bastante estudadas. Os níveis nutricionais presentes em tabelas como as do NRC de aves (1994) têm sido constantemente questionados, ao ponto de que as agroindústrias brasileiras têm avaliado e alterado alguns níveis em situações especiais, como estações do ano, fatores estressantes (estresse por calor, densidade de aves no galpão, qualidade de ingredientes utilizados) e incidência de doenças. Por outro lado, as agroindústrias e pesquisadores têm sugerido alterações de níveis de determinadas vitaminas, como por exemplo a vitamina E, com o objetivo de melhorar as respostas imunológicas bem como para garantir a qualidade da carne (tempo de prateleira). Alterações de níveis

nutricionais aplicadas de forma aleatória, sem base em resultados de pesquisa podem afetar de forma importante as relações custo-benefício esperadas, numa atividade onde cada centavo aplicado no custo da tonelada de ração precisa ser recuperado no custo final do produto.

O uso da vitamina E relacionado à imunidade é bastante controverso, embora se conheça razoavelmente o mecanismo de ação desta vitamina na integridade das membranas celulares, inclusive e principalmente, nas células imunitárias e na sua ação antioxidante. Encontramos na literatura resultados controversos, onde doses diferenciadas daquelas recomendadas pelas tabelas internacionais nem sempre produzem o efeito desejado na melhoria da condição imunológica das aves. É conhecido que, junto com a vitamina E, o selênio cumpre importante papel na qualidade da resposta imune e proteção das membranas, sendo este mineral importante constituinte de enzimas na cadeia de ações imunitárias do organismo dos animais. Ultimamente, na pesquisa humana, o selênio tem sido referenciado como importante elemento, inclusive na prevenção de doenças como o câncer. Ao mesmo tempo, na nutrição animal, o selênio na forma orgânica, incorporado a um aminoácido, tem sido estudado. Aliando-se o conhecido papel deste mineral associado à vitamina E na proteção das membranas celulares, evitando processos oxidativos no organismo, ao vasto campo a explorar a partir da nova apresentação no mercado, de fonte orgânica, cabe estudar melhor estes dois elementos e sua influência na imunidade dos animais, tentando elucidar melhor seus mecanismos e possivelmente determinar níveis mais adequados nas dietas frente a situações de desafios sanitários,

ambientais e de manejo. Com a finalidade de avaliar o efeito da vitamina E e do selênio inorgânico e orgânico sobre o desempenho e a imunidade de frangos de corte, dois experimentos foram realizados. No primeiro, utilizando duas fontes de selênio, as aves foram estimuladas imunologicamente com vacina contra Doença Infecciosa da Bolsa, SRBC (“sheep red blood cells”), Adjuvante Completo de Freund e tuberculina aviária e submetidas a estresse por calor cíclico. No segundo experimento, utilizando três níveis de vitamina E na ração, as aves foram estimuladas com vacina contra coccidiose e vacina contra Doença de New Castle. Foi realizado ainda um estudo de reação celular à fitohemaglutinina nas aves vacinadas contra coccidiose.

1.2. Revisão Bibliográfica

1.2.1 O Sistema Imune

O sistema imune é o responsável pela destruição dos *agentes* estranhos (antígenos) que invadem o organismo animal. É composto de moléculas e células capazes de combater e eliminar os antígenos nos primeiros estágios da infecção (sistema inato) e ainda montar uma defesa a longo prazo (sistema adaptativo), a partir da proliferação de linfócitos e da liberação de citocinas (Humphrey & Klasing, 2004). Os mecanismos do sistema inato começam com a ingestão e digestão dos microorganismos por neutrófilos e macrófagos, também chamados de “fagócitos profissionais”.

Os neutrófilos, que correspondem nas aves aos heterófilos (Harmon, 1998), também chamados de polimorfonucleares, são os leucócitos predominantes na corrente sanguínea, têm uma vida curta e seus grânulos

nucleares contém várias enzimas necessárias à fagocitose, principalmente de bactérias piogênicas. Os macrófagos estão em todo o tecido conjuntivo, junto aos vasos sanguíneos do pulmão, fígado, baço e junto aos linfonodos; têm vida longa, e são responsáveis principalmente em fagocitar vírus, protozoários e bactérias. Ambas as células são capazes de reconhecer e fagocitar células estranhas ao organismo, e têm auxílio de moléculas como complemento, defensinas e proteínas de fase aguda, que aumentam a resposta à infecção. O sistema inato conta ainda com as células NK ou “natural killers”, grandes linfócitos que induzem células infectadas ou tumorais à apoptose. Por fim, para eliminar os grandes parasitas, os eosinófilos, polimorfonucleares, assim como os neutrófilos, aderem-se à parede dos parasitas, com auxílio do sistema complemento, para lisá-la (Roitt & Delves, 2004). Estas células atuam em conjunto com os anticorpos e com os linfócitos, tendo seu comportamento modulado pelas interleucinas liberadas pelas NK, contribuindo de forma decisiva na fase efetora de resposta imune, e mais especificamente, nos mecanismos de destruição, fagocitose e neutralização de agentes infecciosos e de seus metabólitos tóxicos.

Os mecanismos adaptativos do sistema imune têm início com as células apresentadoras de antígenos (APCs), que são populações de células especializadas em capturar microorganismos e outros antígenos, apresentá-los aos linfócitos T e fornecer sinais que estimulem proliferação e diferenciação de linfócitos. Células dendríticas, existentes em todos os epitélios e macrófagos cumprem esta função em respostas celulares e linfócitos B o fazem nas respostas humorais (Abbas, 2003). O sistema imune

do frango de corte, assim como o do homem, desenvolve várias estratégias de defesa para ser hábil em fazer frente a diferentes antígenos, dividindo-se em dois segmentos funcionais: humoral e celular. A resposta imune humoral é caracterizada pela participação de anticorpos, com destaque para as imunoglobulinas das classes IgG, IgM e IgA, secretadas por plasmócitos derivados de linfócitos B, que são estimulados após o contato e o reconhecimento de antígenos. Os antígenos que induzem à produção de anticorpos pelos linfócitos B podem ser T-dependentes ou T-independentes de células T auxiliares ou T-helper ($T_H - CD4^+$). A resposta imune celular é aquela onde participam linfócitos T (T- citotóxicos – $T_c - CD8^+$) e T “helper”. Os linfócitos T “helper” podem induzir predominantemente resposta celular ou privilegiar resposta humoral. O desenvolvimento pleno de cada um desses tipos celulares ocorre em dois órgãos linfóides primários distintos: os linfócitos B completam seu desenvolvimento na bolsa cloacal, enquanto os linfócitos T o fazem no timo, migrando destes órgãos para os chamados órgãos linfóides periféricos, como baço, tonsilas cecais, folículos linfóides associados às mucosas do trato respiratório superior (glândulas de Harder) e inferior e do trato digestivo (Montassier, 2000). As citocinas são polipeptídeos produzidos em resposta aos antígenos e são secretados pelas células dos sistemas inato e adaptativo, mediam muitas funções e estimulam diversas respostas das células envolvidas na imunidade e na inflamação, como o crescimento e a diferenciação de linfócitos e a ativação das células efetoras para eliminar os antígenos. As citocinas não são armazenadas, mas sim sintetizadas a cada ativação celular e liberadas para atuar nos processos inflamatórios, tendo

ainda a propriedade de influenciar a síntese e a ação de outras citocinas, com ação local ou sistêmica, mas sua ação principal se inicia quando se ligam a receptores específicos nas membranas. As principais citocinas são fator de necrose tumoral ou TNF- α , as interleucinas IL-1, IL-12 e interferon- γ ou IFN- γ . Na imunidade adaptativa, têm-se a IL-2, IL-4, IL-5 e IFN- γ sintetizadas por Linfócitos T, regulando o crescimento e a diferenciação destes últimos, e ativando macrófagos, eosinófilos e mastócitos. Sua ação é local, e estão presentes nas lesões teciduais na forma de granulomas (Montassier, 2000). Estão presentes ainda outras células acessórias ao sistema imune: os monócitos, basófilos e linfócitos. Os monócitos são células precursoras dos macrófagos, diferenciando-se nestes nos tecidos, mas por vezes ainda na circulação e têm grande atividade fagocítica e importante papel no processamento de antígenos; os basófilos, frequentemente encontrados no sangue de aves, contém grânulos de histamina no citoplasma e participam de reações inflamatórias agudas e de hipersensibilidade tardias, especialmente cutâneas. Os linfócitos, diretamente envolvidos na inflamação, aumentam bastante nessas situações e apresentam algumas variações de forma (Campbell, 2007).

1.2.1.1. Órgãos linfóides das aves

Os órgãos linfóides das aves diferem em estrutura e distribuição dos de mamíferos. Primeiramente, não há linfonodos propriamente ditos na maior parte das espécies de aves, e o timo é dividido em vários lobos. Há ainda a Glândula de Harder, um tecido linfóide especial localizado na região óculo-nasal e uma organização diferenciada do tecido linfóide junto ao

intestino. A característica mais peculiar das aves é, porém, a presença da Bolsa Cloacal, onde ocorrem os estágios finais de desenvolvimento e a diferenciação de linfócitos B. A bolsa cloacal e o timo são considerados os órgãos linfóides primários das aves. Os agregados linfóides e vasos linfáticos, baço, tecido linfóide associado ao trato intestinal e tecido linfóide paraocular e paranasal constituem os órgãos linfóides periféricos.

a) Órgãos linfóides primários

Desde que, em meados dos anos 1950, esclareceu-se o papel da então chamada Bolsa de Fabricio, ou mais recentemente, bolsa cloacal como órgão linfóide, têm-se desenvolvido pesquisas para elucidar o funcionamento do sistema imune humoral das aves. Mais recentemente o avanço das tecnologias tem permitido entender melhor os mecanismos de sinalização dos linfócitos B e a produção de anticorpos, de forma que a supressão química do órgão, experimentalmente, mostra prejuízo na produção de anticorpos pelas aves (Scott, 2004). A bolsa cloacal é uma estrutura de tecido linfoepitelial em fundo de saco que se projeta da região dorsal média distal da cloaca. A superfície interna se compõe de várias pregas de diferentes tamanhos, compostas de células epiteliais e mesenquimatosas que formam os folículos, no interior dos quais ocorre a maturação dos linfócitos B. O epitélio folicular da bolsa possui uma parte medular, onde se encontram linfócitos, linfoblastos, macrófagos, plasmócitos e células secretoras, e a parte cortical, onde há linfócitos, linfoblastos, macrófagos e células plasmáticas. O lúmen interno da bolsa é delimitado por epitélio cúbico (Glick, 1995; Montassier, 2000). Segundo Scott (2004), células-tronco chegam à bolsa em uma única onda

entre oito e 14 dias na vida embrionária das aves e a maior proliferação ocorre por volta dos 12 dias. O desenvolvimento do órgão se completa após a eclosão, crescendo rapidamente nas primeiras três semanas de vida da ave e então passa a diminuir de tamanho gradualmente até a oitava semana (Glick, 1995).

O timo das aves consiste em duas fileiras de lobos achatados e separados, situados a cada lado do pescoço da ave, próximos à veia jugular. Histologicamente, o órgão não difere do de mamíferos, tendo na zona cortical externa elevado número de linfoblastos e na zona cortical interna pequenos linfócitos, havendo ainda uma região medular. O timo é imprescindível no desenvolvimento de linfócitos T (Montassier, 2000). A diferenciação celular que ocorre no timo produz as sub-populações de células T: T helper ($CD4^+$) que promovem o crescimento e a diferenciação dos linfócitos B, secreção de citocinas e ativação de macrófagos e T-citotóxicas ou efetoras ($CD8^+$) (Glick, 1986; ABBAS, 2003).

b) Órgãos linfóides periféricos ou secundários

Glick (1986) referiu a presença de agregados linfóides em frangos ao longo das veias femoral e tíbio-poplítea, porém as aves não possuem uma rede de linfonodos como os mamíferos. Segundo Montassier (2000), somente vasos linfáticos estão presentes nas aves, estando ligados a concentrações de tecidos linfóides não delimitados por cápsula de tecido conjuntivo e estão junto aos órgãos. Estes tecidos linfóides se constituem de pequenos linfócitos organizados em camadas de células T e macrófagos que circundam folículos

linfóides com células B, principalmente depois de estímulos antigênicos.

O baço das galinhas é semelhante ao de mamíferos, dividido em polpa vermelha, constituída por sinusóides, contendo sangue e tecido linfóide difuso e polpa branca, onde o tecido linfóide se encontra mais organizado, envolvendo artérias e arteríolas. Neste local predominam células T. Estas arteríolas vão se estreitando à medida que penetram no parênquima do baço, e neste ponto há pequenos linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Já no 10º ou 11º dia de vida do embrião há colonização de linfócitos e no 12º dia já surgem os primeiros linfócitos B com IgM em sua membrana; a expressão de IgG (IgY nas aves) e IgA são presentes mais perto do nascimento. Linfócitos T já estão presentes no 16º dia de vida embrionária (Montassier, 2000). As funções do baço são remover partículas antigênicas circulantes e eritrócitos envelhecidos, mas também armazenar eritrócitos na polpa vermelha.

O tecido linfóide associado ao trato intestinal é o conjunto de órgãos que inclui, além da Bolsa Cloacal, as tonsilas cecais, placas de Peyer, divertículo de Meckel e agregados linfóides intra-epiteliais e na lâmina própria do intestino, este último o maior sítio efetor de respostas junto às mucosas, com predominância de linfócitos T e, em seguida, de linfócitos B, mas também de plasmócitos, macrófagos e eosinófilos.

As placas de Peyer apresentam-se como agregados linfóides do intestino, localizadas na porção mais distal do íleo, com um tecido linfóide característico, e uma zona T dependente e outra B dependente. Os antígenos que chegam ao intestino são absorvidos e processados por macrófagos e

sofrem ação das Ig expressas na superfície das células B.

As tonsilas cecais são a massa linfóide mais concentrada do intestino, compostas por duas áreas ovais nas paredes dos cecos. Sua lâmina própria é timo-dependente e nas zonas epitelial e sub-epitelial, há fagócitos e células linfóides de vários tamanhos, capazes de processar antígenos. As tonsilas cecais não estão nas aves recém nascidas como tal, mas apenas como centros germinativos e, ao que parece, vão se desenvolvendo na medida dos estímulos antigênicos que ocorrem na mucosa intestinal.

O afluxo de células linfóides para o divertículo de Meckel se inicia com duas semanas de idade nas galinhas, formando centros germinativos entre cinco e sete semanas, permanecendo funcionais até as 20 semanas. Existem células secretoras e grandes quantidades de plasmócitos oriundos dos linfócitos B também presentes. Considera-se que o divertículo de Meckel seja o terceiro órgão linfo-epitelial das aves jovens, devido à presença das células secretoras (Montassier, 2000).

Quanto aos tecidos linfóides paraocular e paranasal, embora tenham sido descritos em aves como vários tipos de agregados linfóides nesta área, o mais importante é o encontrado no interstício da glândula de Harder, localizado na cavidade orbital, atrás do globo ocular. Este órgão é responsável pelas respostas imune locais da mucosa nasal, ocular e trato respiratório superior, se origina do epitélio conjuntival e é infiltrado por células linfóides por volta do 18º dia de vida do embrião. Em aves com três a

quatro semanas de idade os centros germinativos ativos já estão presentes (Montassier, 2000).

1.2.2. Modulação nutricional do sistema imune

Segundo Klasing (1998) as características de uma dieta podem modular a susceptibilidade das aves a desafios e pequenas influências de níveis nutricionais ou de ingredientes usados podem influenciar a resposta imune. O autor destaca alguns pontos críticos onde nutrição está ligada à modulação da resistência de aves às doenças: 1) a nutrição afeta o desenvolvimento do sistema imune, desde o ovo até as primeiras semanas de vida, visto que deficiências de micronutrientes envolvidos na formação de órgãos linfóides e proliferação de linfócitos têm impacto negativo na vida futura das aves; 2) a necessidade de nutrientes para a resposta imune é bem menor do que as necessidades para crescimento e produção, mas a fase aguda de resposta em si é maior consumidora de nutrientes do que o sistema imune como um todo; 3) sendo os nutrientes substratos para moléculas envolvidas na resposta imune, baixas concentrações de ferro nos fluidos corporais, por exemplo, alteram o substrato para patógenos e limitam futuras necessidades da resposta imune; 4) nutrientes como os lipídios e vitaminas A, D e E têm ações diretas na regulação da adesão de leucócitos aos receptores e na ação de citocinas secretadas; 5) a dieta pode ter efeito regulatório indireto, medido pelo sistema endócrino; 6) aspectos físicos e químicos da dieta podem modificar a população de organismos no trato intestinal, a capacidade invasiva dos patógenos e a integridade do epitélio intestinal.

Do ponto de vista prático, as formulações das dietas para frangos de corte visam evitar as deficiências nutricionais e permitir uma produção satisfatória, conforme o potencial genético das linhagens modernas. Por outro lado, quando se pensa em manipular nutrientes com o objetivo de modular a resposta imune, é preciso ter em mente que para diferentes antígenos, pode haver resultados variáveis. Além disto, há o impacto econômico que acompanha tais alterações. Kidd (2004) observou que com o crescimento da área de estudo nutrição-imunologia, está se tornando mais claro que as necessidades para respostas imunes não coincidem com aquelas para crescimento ou deposição tecidual.

No que diz respeito a minerais e vitaminas, (Kidd (2004) comenta que no caso da vitamina A, pesquisas mostraram que a deficiência está associada à redução de imunidade celular e o excesso causa impacto na imunidade humoral. Já a vitamina E, reconhecida por suas propriedades antioxidantes, quando em deficiência, diminui a resposta imune. Em um trabalho oferecendo de 0 a 200 mg/kg de suplementação de vitamina E a frangos sob desafio vacinal, Leshchinski & Klasing (2001) encontraram que os níveis moderados (25 e 50 mg/kg) foram mais imunomoduladores do que os mais altos. Para explicar os resultados, os autores formularam a hipótese de que os níveis moderados (25 e 50 mg/kg) e os altos (100 e 200 mg/kg) de suplementação têm efeitos diferentes no balanço antioxidantes/radicais livres, alterando assim os eventos que se sucedem na atividade das células imunitárias. Kidd (2004) destacou a importância do estudo de minerais-traço, pois os mesmos têm sido associados a melhoras na imunidade, ou em

funções auxiliares à imunidade. Finch & Turner (1996) afirmam que selênio (Se) aliado à vitamina E mostra melhores resultados quanto à imunidade em várias espécies animais. Também o zinco (Zn) pode ter função imune auxiliar, tendo mostrado aumento de produção de anticorpos contra Doença de New Castle quando usado isolado e em conjunto com a vitamina E (Cardoso et al., 2006).

1.2.3. Metabolismo, fontes e ação da vitamina E

A vitamina E é componente e antioxidante natural das membranas celulares e, por muitos anos, foi quase que exclusivamente associada ao sistema reprodutivo dos animais. Atualmente, sabe-se que esta vitamina modula a sinalização inflamatória, regula a produção de prostaglandinas e leucotrienos (Friedman et al., 1998), minimiza os danos resultantes da ação citotóxica provocada pelos radicais livres no organismo (Leshchinski & Klasing, 2001) e melhora a atividade fagocitária de macrófagos na fase jovem da vida das aves (Konjufca et al, 2004). As formulações à base de milho e farelo de soja fornecem em média 10 mg/kg de vitamina E (NRC, 1994) e, em geral, suplementam-se as dietas com a forma acetato de dl- α -tocoferol, disponível comercialmente e a forma mais estável no processamento e estocagem de alimentos e rações. Para sua perfeita absorção, tanto a bile, quanto enzimas pancreáticas são requeridas e a distribuição corporal está sempre associada aos lipídios circulantes. Uma unidade internacional (UI) de atividade de vitamina E é definida como 1mg de dl- α -tocoferol. A maior via de excreção é a bile (Scherf et al., 1996). Existem ainda na natureza as formas γ , δ , e β – tocoferol, com diferentes graus de atividade entre si. O excesso de α -

tocoferol e seus análogos é extensivamente metabolizado antes da excreção, sugerindo que o organismo tenta manter um determinado nível de vitamina E por retenção seletiva de certas quantidades do α -tocoferol (Zingg, 2007).

Na literatura, há resultados controversos nos estudos com esta vitamina com respeito à resposta imune. Sakamoto et al. (2006), trabalhando com frangos de corte, encontraram maior produção de anticorpos contra SRBC, aos 10 dias de idade, com 10 mg/kg de vitamina E associada à glutamina do que com 500 mg/kg, não obtendo resposta aos 35 dias de idade. Boa-Amponsem et al. (2000) observaram queda na produção de anticorpos, relação heterófilo/linfócito (H/L) maior e resposta celular deprimida, em galos seis dias após a inoculação de SRBC recebendo 300 mg/kg de vitamina E na dieta, quando comparados aos que receberam 10 mg/kg. Leshchinski & Klasing (2001), ao utilizar vacina inativada contra Bronquite Infecciosa em frangos de corte, não obtiveram resultado claro para nível de vitamina E na produção de anticorpos. Utilizaram então SRBC como antígeno, encontrando maior produção de anticorpos com 50 mg/kg do que com 0 e 200 mg/kg de vitamina E. Os autores concluíram que a produção de anticorpos depende da natureza do antígeno e que níveis de 25 a 50 mg/kg de vitamina E seriam mais efetivos em desencadear resposta imune do que níveis altos. Para explicar os resultados, os autores formularam a hipótese de que os níveis moderados (25 e 50 mg/kg) e os altos (100 e 200 mg/kg) de suplementação têm efeitos diferentes no balanço antioxidantes/radicais livres. Friedmann et al. (1998) obtiveram maior produção de anticorpos com 0 e 10 mg/kg de vitamina E do que com 30 e 150 mg/kg, em aves vacinadas contra doença de

New Castle.

Em um dos processos mais importantes da resposta imune, quando partículas estranhas como bactérias se aderem aos heterófilos (primeira linha de defesa das aves), ativam-se sistemas enzimáticos NADP oxigênio-dependentes que resultam na produção dos radicais livres de oxigênio (ROS) como o superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Esses, uma vez no espaço extracelular, passam a danificar células imunes e os tecidos adjacentes. A vitamina E é o maior antioxidante no sangue, reagindo com os radicais peróxidos. Esta reação reduz os efeitos dos radicais livres, protegendo os tecidos e é este mecanismo pelo qual se acredita que a vitamina E tenha efeito imunomodulador (Chew, 1996).

1.2.4. Metabolismo, fontes e ação do selênio

Historicamente, a deficiência de selênio (Se) se relaciona à distrofia muscular e diátese exudativa em aves, associada à deficiência de vitamina E, devido à ação de ambos como antioxidantes e protetores de membranas celulares. O Se também participa na produção de anticorpos, estimula a atividade fagocitária e a quimiotaxia de macrófagos e neutrófilos, dependendo da natureza do agente e do conteúdo da vitamina E na dieta e está presente em solos, nas forragens e grãos, variando sua disponibilidade em função da localização e do clima (Finch & Turner, 1996).

Na resposta imune, o Se é componente essencial da enzima glutatona peroxidase (GPx), que tem como função principal detoxificar os

radicais livres como os peróxidos, produzidos no metabolismo normal das células, seja no citosol ou nas membranas, em associação com a vitamina E (McEnzie, 1998); tem impacto na resistência a doenças (Kidd 2004) como a coccidiose causada por *E. tenella*, onde auxilia na redução de mortalidade e de lesões no ceco das aves (Colnago, 1984). No homem e nos animais, além de proteger o organismo do ataque de patógenos, está também associado à prevenção de tumores, agindo nos espaços extracelulares, no citosol e nas membranas com a vitamina E, em nível de trato digestivo e também nos linfócitos T. O Se participa enfim, tanto no sistema inato quanto no adaptativo, de forma que sua deficiência afeta a proliferação de linfócitos, atividade de neutrófilos e macrófagos (Arthur et al., 2003). O Se participa no metabolismo dos aminoácidos sulfurados como a cisteína, a partir da metionina e na síntese de triiodotironina a partir da deiodinação da tiroxina na tireóide (Beckett et al., 1992). Em aves, os homônios da tireóide estão envolvidos no processo de empenamento (Edens, 2001).

As formulações básicas milho-farelo de soja precisam ser suplementadas com Se e as recomendações das tabelas variam de 0,15 (NRC 1994) a 0,33 mg/kg (Rostagno, 2005), para frangos de corte.

Até recentemente, a única fonte utilizada era o selenito de sódio, fonte inorgânica de Se (SeFI). As formas de Se incorporadas aos aminoácidos, chamadas de fontes orgânicas (SeFO) são melhor absorvidas e têm maior disponibilidade (Edens & Gowdy, 2004; Surai, 2000). Uma delas é a seleno-metionina (Se-Met) que é absorvida pelo intestino por transporte ativo, semelhante ao transporte da metionina. Por outro lado, selenito e seleno-

cisteína (Se-Cis) não são ativamente transportados (Rutz et al., 2005). O SeFI. (selenatos e selenitos), após absorvido, se liga a proteínas, e caso haja excesso de Se, este é metilado para ser excretado. Se a ingestão for superior à capacidade do organismo em excretar, uma forma chamada dimetil selenito é excretada via pulmões (Rutz et al., 2005) pela urina e fezes (Edens, 2001). Os animais não sintetizam Se-Met diretamente das formas inorgânicas fornecidas, contudo, a Se-Cis é encontrada em animais que receberam SeFI, devido à presença da enzima GPx e outras selenoproteínas, onde este aminoácido se incorpora. A Se-Met é facilmente convertida à forma inorgânica, para depois retornar à orgânica e transformar-se em Se-Cis para cumprir sua função biológica. Tal conversão é crucial para as selenoproteínas, uma vez que, conforme foi relatado, 30 a 80% do Se corporal pode estar na forma de Se-Cis (Hawkes et al., 1985). Segundo Edens (2001), a Se-Met é substrato disponível para proteínas, normalmente ao nível de músculo, enquanto que a Se-Cis é importante na síntese de GPx no citosol. Dentre os produtos comerciais existentes, há os obtidos de leveduras, como o Sel-Plex^{®3}, que é uma mistura de vários compostos de Se, sendo a Se-Met aproximadamente 50% dos aminoácidos que compõem a parede celular da levedura que origina o produto. O Sel-Plex[®] tem perfil de Se semelhante ao de plantas e grãos, prontamente disponível e facilmente absorvido pelo intestino, via transporte ativo à custa de sódio, tal como ocorre com a metionina (Arthur et al, 2003; Edens, 2001).

Segundo McKenzie et al. (1998), a suplementação de Se pode

³ Alltech Biotechnology

melhorar a imunidade por três mecanismos principais: (1) pela alta afinidade com os receptores de IL-2, regulando a expressão de células T e sendo um veículo para melhorar as respostas destas células; (2) por impedir os danos induzidos pelo estresse oxidativo nas células imunes e (3) por alterar a agregação plaquetária e baixar a taxa de tromboxanos/leucotrienos produzidos.

1.2.5. Desafios Sanitários e ambientais

1.2.5.1. Doença Infecciosa da Bolsa (DIB)

É uma doença aguda, altamente contagiosa e imunossupressora, que acomete mais comumente galinhas na fase jovem. O vírus causador da doença é do gênero *Birnavírus*, sorotipo 1 que tem tropismo pelo tecido linfóide da bolsa. Aves com até três semanas de idade, sem imunidade materna sofrem severa imunossupressão e outras infecções como colibacilose, coccidiose e Doença de Marek podem se instalar. Se a infecção ocorrer em idade maior, ocorre também mortalidade. Existem várias cepas ou patótipos, com diferentes graus de patogenicidade e que são bastante resistentes ao meio ambiente, persistindo por vários meses nas instalações contaminadas. A DIB está presente na avicultura mundial e no Brasil, em todas as regiões, sendo susceptíveis tanto aves de corte como de postura.

Programas de vacinação em matrizes são feitos como rotina para a obtenção de pintos de corte imunes pelo menos até os 14 dias, e com base no perfil de anticorpos maternos de pintos na primeira semana de vida, pode ser feita a vacinação de lotes. Há vacinas vivas de patogenicidade baixa ou intermediária no mercado, e a escolha do tipo de vacina e programa está na

dependência da taxa de desafio na região e dos níveis de imunidade materna de pintos alojados (Back, 2004).

Segundo Bolis et al. (2003), há comercialmente no Brasil cepas vacinais contra DIB classificadas como intermediárias, intermediárias-plus e fortes; no Brasil pela legislação do Ministério da Agricultura (IN nº 7 de 10/03/2006) lotes de vacinas produzidas são titulados e classificados como intermediários ou fortes. Os graus de patogenicidade das vacinas determinam diferentes graus de lesão nas bolsas das aves. Sua eficiência também está na dependência dos anticorpos maternos das aves vacinadas, e da idade de aplicação.

Bolis et al. (2003) e Moraes et al. (2004) realizaram experimentos para verificar o grau de patogenicidade de cepas vacinais por meio da medida de diâmetro de bolsa, da análise de depleção linfocitária e dos pesos relativos das bolsas. Moraes et al. (2004) observaram que as vacinas fortes causaram mais lesões às bolsas do que as demais vacinas, contudo a medida de diâmetro e os pesos relativos das bolsas mostraram baixa correlação com a análise de depleção, não constituindo uma boa medida para avaliar patogenicidade de vacinas. Bolis et al. (2003) por sua vez avaliaram uma cepa vacinal forte e uma intermediária, em aves desafiadas ou não com vírus da DIB, e concluíram que as vacinas fortes conferiram melhor proteção às aves, apesar do maior dano causado às bolsas.

1.2.5.2. Coccidiose

A coccidiose aviária é causada por protozoários intracelulares do

gênero *Eimeria*, sendo uma das doenças de maior importância econômica na avicultura mundial. As espécies de interesse na avicultura brasileira e seus locais de parasitismo no intestino são: *E. acervulina* e *E. maxima* (duodeno até a porção média do intestino delgado), *E. necatrix* (porção média e posterior do intestino delgado), *E. mitis* (do duodeno até o ceco), *E. tenella* (ceco), *E. praecox*, (duodeno) e *E. brunetti* (porção média e posterior do intestino delgado e ceco). Estas espécies ocorrem apenas em galinhas domésticas. Uma das dificuldades em eliminar esta parasitose está na complexidade de seu ciclo de vida. O hospedeiro é único e o parasita apresenta reprodução sexuada e assexuada, dentro das células do hospedeiro e esporogonia no meio exterior. As aves se infectam ao ingerirem os oocistos esporulados contendo esporozoítos. Uma vez na luz intestinal, os esporos são rompidos e com a ajuda da temperatura corporal do hospedeiro, dos sais biliares e das enzimas pancreáticas, os esporozoítos saem livres na luz intestinal e passam a invadir os enterócitos. No interior dos enterócitos, mudam de forma e se transformam em trofozoítos, que então sofrem várias divisões mitóticas, gerando merozoítos. Estes abandonam as células originais e invadem outras, e iniciam a fase sexuada da reprodução, diferenciando-se em gametas masculinos e femininos. Após a fecundação, os zigotos formados na luz intestinal se transformam em oocistos imaturos, que vão ao exterior com as excretas. Os oocistos no meio externo passam por meioses e mitoses, dando origem aos esporocistos (Kawazoe, 2000). Outro fator que desafia a eliminação deste parasita é a diversidade antigênica, ou seja, as aves montam uma resposta às eimerias, mas em uma nova infecção, o agente já sofreu

alguma alteração não sendo reconhecido pelas defesas do hospedeiro (Williams, 2002; Lilehoj, 2004). Cabe ressaltar que a imunidade à coccidiose é em nível celular, embora anticorpos sejam produzidos e liberados na circulação, mas com ação mínima (Kawazoe, 2000; Allen & Feterer, 2002; Lilehoj, 2004). Segundo Kawazoe (2000), na fase extracelular, as eimerias estão sujeitas à ação de anticorpos, complemento, mediadores inflamatórios e citocinas, bem como às células fagocíticas. Quando invadem as células, lizozimas e radicais de oxigênio podem agir sobre o parasita, mas a rápida multiplicação em suas várias formas garante a sobrevivência do invasor. Por fim, os tecidos linfóides associados ao intestino são os responsáveis pela resposta imune à coccidiose. A resposta celular está a cargo das células NK, T_H e T_C.

Até bem pouco tempo, apenas as drogas coccidiostáticas eram a única ferramenta de combate à coccidiose. Recentemente, vacinas têm sido testadas como opção a programas de controle de coccidiose na avicultura. Quando vacinas vivas são usadas, espécies de *Eimeria* pré-existentes nas instalações e que não estejam presentes na vacina podem causar a doença em certas circunstâncias. Por outro lado, espécies introduzidas por vacinas e usadas por alguns anos podem se combinar com as existentes no campo e se tornar persistentes. Não se deve esperar que nenhuma vacina viva contra coccidiose proporcione melhora de desempenho, a não ser em uma situação de perfeito manejo e controle das demais doenças (Williams 2002).

Atenção deve ser dada à nutrição no que diz respeito à formulação de dietas que ajudem a impedir, por exemplo, infecções por *Clostridium*, que

interferem diretamente com o uso efetivo de vacinas contra coccidiose (Williams, 2002). O autor recomenda a redução de inclusão de cereais como trigo às dietas devido a interferência no trânsito intestinal, ou o uso de enzimas específicas, evitar uso de farinhas de peixe e sugere a inclusão de drogas preventivas ao *Clostridium*. Vacinas vivas atenuadas, contendo as principais espécies de eimerias, têm sido usadas em frangos de corte e matrizes, e têm as seguintes características: ciclo evolutivo com período reduzido, redução dos estágios assexuados e produção menor de oocistos do que numa infestação natural, com menor disseminação na cama e menor dano ao hospedeiro. Por outro lado, não houve sucesso em todas as granjas que utilizaram vacinas atenuadas, provavelmente pela diversidade antigênica já comentada. As espécies de eimerias presentes na vacina podem ser as mesmas do local, porém se originam de outra localização geográfica e não há imunidade cruzada (Kawazoe, 2000). Esta é uma das dificuldades na produção de uma vacina universal contra coccidiose até a presente data.

1.2.5.3. Doença de New Castle (DNC)

É também conhecida como pneumoencefalite aviária, sendo uma doença respiratório-nervosa que faz parte da Lista A para o Escritório Internacional de Epizootias, devido ao seu caráter de alta patogenicidade, rápida difusão entre países e de grande importância para o comércio internacional de animais e seus subprodutos, sendo compulsória a notificação de focos. O agente etiológico é um RNA vírus envelopado da família *Paramyxoviridae*, com nove sorotipos descritos (APMV-1 a AMPV-9). No Brasil, a DNC teve grande impacto nas décadas de 50 e 60 e até

recentemente houve focos em aves domésticas, não havendo registros recentes em criações comerciais (Paulillo & Doretto, 2000). O vírus da DNC é encontrado em secreções respiratórias e no trato intestinal de aves contaminadas. Aerossóis, água, alimento, veículos, cama, animais mortos, ovos de reprodutoras contaminadas, por exemplo, podem disseminar o vírus. Quando o vírus atinge as aves, invade o trato digestivo e o respiratório, gerando uma infecção generalizada. No caso de cepas mesogênicas (média patogenicidade) e velogênicas (alta patogenicidade), o sistema nervoso também é atingido. Aves de todas as idades são susceptíveis, mas lotes de pintos jovens apresentam mortalidade mais alta. A sintomatologia está na dependência da cepa ou patótipo: para os mesogênicos, ocorrem mais comumente dificuldade respiratória, espirros e tosse e nem sempre os sinais nervosos estão presentes; cepas lentogênicas (baixa patogenicidade) podem não causar nenhum sintoma em aves adultas e sintomas respiratórios leves em aves jovens que desaparecem em uma semana, salvo haja complicações. Para as cepas velogênicas, os sintomas são mais severos, com depressão, incoordenação motora, torcicolo e morte abrupta em casos agudos. A morbidade da DNC em geral é de quase 100% e a mortalidade pode ser de 50% ou mais. Perus e frangos são igualmente susceptíveis, porém nos primeiros, os sinais clínicos costumam ser mais severos (Back, 2004). As vacinas atuais, compostas de cepas lentogênicas atenuadas (La Sota e B1) são mundialmente usadas, pois produzem reações mais suaves e podem ser administradas em aves jovens. Ainda assim, são observados sinais respiratórios, redução nas taxas de crescimento e aumento e susceptibilidade

à colibacilose. No futuro, as vacinas geneticamente modificadas, já em estudo, prometem eliminar o problema das reações vacinais (Paulillo & Doretto, 2000).

1.2.5.4. Estresse por calor, nutrição e imunidade

Frangos de corte submetidos a altas temperaturas mostram limitação de consumo (Teeter et al., 1985 ; Dahlke et al., 2005). Este fato por si só é prejudicial à imunidade, pois o aporte de nutrientes em geral é diminuído. A resposta ao estresse por calor está associada principalmente aos mecanismos do eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal, além do sistema nervoso parassimpático (Lin et al., 2006). Nesta situação, o organismo animal precisa encontrar formas de dissipar o calor corporal, e em última análise, garantir o funcionamento normal dos órgãos internos. Aves submetidas a estresse por calor cíclico (EPC) adaptam-se, comendo menos nas horas mais quentes, mas há outros prejuízos nesta condição, como a diminuição do peso relativo do baço e da bolsa para as aves em EPC (Ribeiro et al., 2008). Esses autores forneceram suplementações de selênio e zinco orgânicos e vitaminas E e C e não observaram efeito sobre os pesos de baços e bolsas. Mashaly et al. (2004) estudaram a influência do calor em poedeiras comerciais e observaram não só queda de produção, como também aumento na relação heterófilo/linfócito (H/L), menores títulos contra SRBC e menor número e atividade de linfócitos. Por outro lado, Reginer et al. (1980) submeteram frangos a estresse por calor agudo, ou intermitente e frio e não observaram

diferenças na produção de anticorpos entre os grupos estudados. Segundo Donker et al. (1990), fatores como a linhagem das aves, tipo de antígeno utilizado e até a adaptação das aves à constante manipulação podem influenciar nos efeitos sobre respostas imunes de aves submetidas a ambiente quente.

Sahin et al. (2008) estudaram o efeito de selênio orgânico e inorgânico na dieta de codornas criadas sob 34°C ou temperatura termoneutra e observaram ser a selenometionina (Se-Met) mais eficiente em diminuir os efeitos negativos do estresse por calor, melhorando o desempenho e a produção de ovos das aves, com redução dos níveis de malonildialdeído, que é um indicativo de estresse oxidativo no sangue. Em estudo anterior, Sahin & Kucuk (2001), trabalhando também com codornas submetidas a calor crônico de 34°C, haviam observado que a combinação de 250 mg/kg de vitamina E e 0,2 mg/kg de selênio inorgânico reduziram os efeitos negativos do EPC, através de melhoria de desempenho. Os autores atribuíram tal efeito à ação protetora dos nutrientes estudados nas membranas celulares.

Outras estratégias nutricionais podem melhorar o desempenho de aves sob EPC. Laganá et al. (2007) observaram que uma dieta com mais gordura e menor teor de proteína bruta no EPC, amenizou parte dos efeitos causados pelo calor, tendo sido obtidos maiores pesos relativos das bolsas, menor número de leucócitos no sangue e menor relação heterófilo /linfócito (H/L) do que as aves em EPC consumindo a dieta controle. Outros nutrientes e aditivos têm sido estudados com o propósito de amenizar o efeito de altas temperaturas sobre as aves. Bartlett & Smith (2003) estudaram o efeito de 34,

68 e 181 mg/kg de Zn na dieta de frangos de corte sob estresse por calor, e encontraram melhoria na produção de imunoglobulinas, maior número e atividade de macrófagos com o nível mais alto do mineral, porém não houve diferenças para desempenho com as suplementações. Minka & Ayo (2008) observaram que aves transportadas sob clima quente, ao consumirem ácido ascórbico antes do transporte, mantiveram valores de relação H/L, número de basófilos e valores de hemoglobina pouco alterados frente aqueles tomados antes da viagem. Esses parâmetros foram claramente alterados nas aves controle. Os autores recomendam assim o uso do ácido ascórbico para evitar estresse por calor no transporte. Aminoácidos também têm sido objeto de estudo na imunidade de aves, e nesta linha, Hale et al.(2004) observaram que dietas deficientes em isoleucina comprometeram a imunidade de frangos de corte de 30 a 40 dias de idade. Esse trabalho não foi conduzido em condições de estresse por calor, porém o desequilíbrio entre aminoácidos em dietas com baixo teor de proteína bruta é uma possibilidade na prática avícola, e que em face do que já foi comentado acima, podem ser mais um fator de agravamento das condições de saúde de aves criadas em ambiente quente.

1.3. Hipótese e objetivos

Foi testada a hipótese de que níveis e fontes de selênio e níveis de vitamina E são imunomoduladores. Os objetivos do trabalho foram determinar a melhor fonte e níveis de selênio e de vitamina E para frangos de corte sob desafios de ordem vacinal e ambiental, através da avaliação do desempenho, do perfil hematológico e das respostas imunológicas.

CAPÍTULO II

Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico

Isabel C.M. da Silva¹, Andréa Machado Leal Ribeiro¹, Cláudio Wageck Canal², Luciano Trevizan¹, Marisa Macagnan², Thomas A, Gonçalves¹, Luciana Lacerda³, Laura Lopes de Almeida², Rosecler Alves Pereira⁴

¹ Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia, UFRGS

² Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária, UFRGS

³ Laboratório de Análises Clínicas - Lac Vet, Faculdade de Veterinária, UFRGS

⁴ Méd. Veterinária, Doutora em Ciências Veterinárias (Patologista)

RESUMO - Em um experimento conduzido com 432 pintos de corte fêmeas de 1 a 42 dias, testaram-se níveis de Se de fonte inorgânica (SeFI) e de fonte orgânica (SeFO): 0,3 mg/kg SeFI; 0,3 mg/kg SeFI + 0,2 mg/kg SeFO; 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO. As aves foram alojadas em sala climatizada com 24 h de luz artificial e receberam água e ração à vontade. Parte das aves foi mantida até os 48 dias para avaliação de imunidade celular. Todas as aves foram vacinadas aos 19 dias contra Doença Infecciosa da Bolsa (DIB), e três aves por repetição foram inoculadas com SRBC ("sheep red blood cells") aos 32 dias. Três outras aves por repetição foram inoculadas com Adjuvante Completo de Freund aos 37 dias e tuberculina aviária (TA) na barbela aos 47 dias. A partir dos 22 dias, as aves foram submetidas a estresse por calor (EPC). Avaliou-se desempenho, pesos absolutos e relativos de baços e bolsas cloacais, diâmetro e depleção linfocitária das bolsas, anticorpos para SRBC e DIB, hematócrito, leucócitos, relação heterófilo/linfócito (H/L) e reação celular à TA. Os níveis ou fontes de Se não tiveram efeito sobre o desempenho das aves, porém a análise de contrastes de médias revelou que SeFO estimulou CR de 1 a 21 e de 22 a 42 dias ($P < 0,09$). O consumo de 0,3 mg/kg de SeFI resultou em maior relação H/L ($P < 0,10$) e maiores títulos de anticorpos contra SRBC ($P < 0,05$). Os títulos de anticorpos contra DIB foram mais altos com o uso de SeFI ($P < 0,04$) do que com uso de SeFO. Imunidade celular, pesos de baço e bolsa e diâmetro de bolsa não sofreram efeito de níveis e fontes de Se, porém aves consumindo SeFO tiveram menores escores de depleção linfocitária da bolsa e melhor relação H/L. O estímulo ao consumo observado para SeFO pode ser positivo para aves criadas em clima quente. SeFI foi mais eficiente do que SeFO na produção de anticorpos contra SRBC e DIB.

Palavras - chave: frango de corte, desempenho, Doença Infecciosa da Bolsa, resposta imune, selênio

ABSTRACT - One experiment was conducted with 432 female birds from 1 to 42 days testing levels of inorganic source (ISSe) and organic source (OSSe) 0,3 mg/kg ISSe; 0,3 mg/kg ISSe + 0,2 mg/kg OSSe; 0,5 mg/kg ISSe and 0,3 mg/kg OSSe. Birds were housed in one controlled temperature room at 24 h artificial light and feed and water *ad libitum*. One part of the birds was remain until 48 days for the cellular immunity evaluation. All birds were vaccinated against Infectious Bursal Disease (IBD) at 19 days and three birds for replication were inoculated with a sheep red blood cells suspension (SRBC) at 32 days. Three other birds for replication were inoculated with Freund's Complete Adjuvant solution at 37 days and avian tuberculin (AT) in the wattle at 47 days. Since day 22, birds were submitted to heat stress (HS). Performance, absolute and relative bursa and spleen weights, bursa diameter, lymphocytary bursa depletion, antibody production for IBD and SRBC, hematocrit, leucocytes, heterophil/lymphocyte ratio (H/L) and cellular reaction to AT were evaluated. Levels and sources of Se had no effect in birds performance but the means contrast analysis showed that OSSe has improved FI from 1 to 21 days and from 22 to 42 days ($P < 0,09$). Intake of 0,3 mg/kg ISSe resulted in a greater H/L ratio ($P < 0,10$) and the greatest antibody titles against SRBC ($P < 0,05$). The use of ISSe resulted in higher IBD antibody production ($P < 0,04$) as compared with OSSe use. Cellular immunity, spleen and bursa weights and bursa diameter were not affected by Se levels or sources however birds consuming OSSe showed lower bursa lymphocytary depletion scores and had the H/L ratio improved. The feed intake stimulus observed with OSSe use can be positive for birds raised under warm weather. ISSe was more efficient than OSSe in antibody production against SRBC and IBD.

Key words: broiler, immune response, Infectious Bursal Disease, performance, selenium

Introdução

As exigências nutricionais para desempenho de frangos de corte são bem estabelecidas, porém, ainda não estão definidas para uma melhor resposta imunológica. Historicamente, a deficiência de selênio, (Se) associada à de vitamina E, se relaciona à distrofia muscular e diátese exudativa em aves, ambos com ações antioxidantes e de proteção de membranas celulares. O Se participa na produção de anticorpos, estimula a fagocitose e a quimiotaxia de macrófagos e neutrófilos dependendo do agente patogênico e do nível da vitamina E na dieta. É componente essencial da enzima glutathiona peroxidase (GPx), tem impacto na resistência a doenças (Kidd, 2004) e, na infecção por *E. tenella*, mostrou reduzir a mortalidade e lesões no ceco das aves (Colnago, 1984). Atua no metabolismo de cisteína (Cis) e metionina (Met) e na síntese de hormônios da tireóide (Dahlke et al., 2005). No homem e nos animais, a deficiência de Se está associada à necrose hepática, ao mau empenamento e ao câncer (Edens, 2001). O Se está presente em forragens e grãos e a sua disponibilidade varia com a localização e o clima (Finch & Turner, 1996). As dietas milho-farelo de soja são suplementadas com Se, e as recomendações das tabelas variam de 0,15 (NRC 1994) a 0,33 mg/kg (Rostagno, 2005) para frangos de corte. Até recentemente, a fonte utilizada foi o Se inorgânico (SeFI) (selenito de sódio - Na_2SeO_3). As formas incorporadas a aminoácidos (Se-AA), como o Se associado à metionina (Se-Met), são melhor absorvidas e mais disponíveis (Edens & Gowdy, 2004; Surai, 2000), sendo denominadas fontes “orgânicas” (SeFO). Embora o SeFI possa ser usado na biossíntese de selenoproteínas, apenas os Se-AA são incorporados a proteínas corporais. Como Met e Se-Met se tornam análogas pela substituição do enxofre pelo Se na molécula, não sendo assim diferenciadas pelo código genético que regula a incorporação, a Se-Met oriunda de SeFO também pode constituir proteínas corporais. (Daniels, 1996;

Schrauzer, 2000). O selenieto de hidrogênio (H_2Se), produto chave do metabolismo do Na_2SeO_3 , forma-se antes desta incorporação e produz compostos reativos de oxigênio em um processo rápido de reciclagem e difusão entre plasma e hemácias. Os Se-AA também são convertidos em H_2Se , mas sua utilização na síntese de proteínas diminui os danos do efeito pró-oxidante (Leng et al., 2003).

A fim de explorar melhor as fontes de Se e testar níveis frente a situações de campo, este experimento estudou efeitos de níveis e fontes de Se na imunidade de frangos de corte submetidos a desafio por calor ambiental e estímulo vacinal contra Doença Infecciosa da Bolsa. As ferramentas usadas para avaliar a imunidade humoral e celular foram a inoculação com SRBC e a tuberculina, respectivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 432 aves fêmeas, da linhagem Ross 308, de um dia de idade. As aves foram alojadas em baterias metálicas ($0,72\text{ m}^2$ /gaiola, na fase inicial e $0,84\text{ m}^2$ /gaiola, no crescimento), em sala climatizada. Foram mantidas 24 h de luz durante todo o período e o desempenho foi medido de 1 a 42 dias. O experimento foi dividido em fase inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 42 dias). No entanto, para avaliação de reação celular de barbela (tuberculinização), uma parte das aves foi mantida recebendo os tratamentos até 48 dias. As rações experimentais (Tabela 1) foram elaboradas a partir de uma ração basal, calculada com base nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno, 2005), onde se adicionou doses e fontes (inorgânicas ou orgânicas) de Se, constituindo quatro tratamentos: $0,3\text{ mg/kg SeFI}$; $0,3\text{ mg/kg SeFI} + 0,2\text{ mg/kg SeFO}$; $0,5\text{ mg/kg SeFI}$ e $0,3\text{ mg/kg SeFO}$. A forma inorgânica de Se foi o selenito de sódio a 45% e a forma orgânica foi o produto Sel-Plex[®], à base de leveduras e com pelo menos 50% de Se-Met (Edens, 2001). Selenito de sódio e Sel-Plex[®] foram diluídos em casca

de arroz e misturados em 3 kg de ração basal para adição às batidas finais. Os níveis de vitamina E da dieta basal foram de 40 mg/kg para a fase inicial e de 25 mg /kg para a fase de crescimento. O premix mineral comercial utilizado não continha Se. As dietas foram analisadas para Se antes do início do experimento e os níveis ficaram de acordo com o calculado.

Os quatro tratamentos constituídos tiveram nove repetições cada, com 12 aves por repetição. As aves receberam rações experimentais desde o primeiro dia e água à vontade.

Na fase de crescimento, as aves foram submetidas a estresse por calor cíclico (EPC), constituído diariamente por 12 horas de temperatura de 24°C, 3 horas em elevação gradual de 24 a 30-31°C, 6 horas de temperatura de 30 a 31°C e 3 horas em queda gradual de 30-31 a 24°C. A umidade relativa do ar manteve-se ao redor de 74,1% \pm 10,3%.

Todas as aves foram submetidas a um programa de estímulos imunológicos, a saber: 1) vacinas aplicadas no incubatório de origem, no primeiro dia de vida contra Doença de Marek, Bouda Aviária e Bronquite Infecciosa; 2) vacinação contra Doença Infecciosa da Bolsa (DIB), aos 19 dias de idade; 3) inoculação de SRBC a 10% via endovenosa (EV), aos 32 dias de idade; 4) adjuvante completo de Freund aos 37 dias e tuberculina aviária (TA) aos 47 dias de idade. A vacina contra Doença Infecciosa da Bolsa (cepa Winterfield, CEVAC IBD-L[®]-vacina viva liofilizada) foi oferecida via água de bebida a todas as aves, seguindo as instruções do fabricante. Adjuvante Completo de Freund (Adjuvante Completo de Freund com 4 mg/mL de *Mycobacterium avium* inativado) foi aplicado intramuscular, na dose de 0,5 mL em três aves/repetição, a fim de sensibilizar as mesmas, para posterior aplicação de 0,01 mL de tuberculina aviária nas barbelas, via intradérmica para medida de imunidade celular.

Semanalmente, as aves foram pesadas e o consumo de ração foi medido para o cálculo da conversão alimentar (CA). Aos 19, 29, 35 e 42 dias, foram coletadas amostras de sangue para as análises sorológicas para DIB, e aos 42 dias, para SRBC e para análise do perfil hematológico, em três aves por repetição, aonde foram avaliados hematócrito e leucócitos totais e seus subtipos: linfócitos, heterófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos, e ainda a relação heterófilo/linfócito. Também aos 42 dias, três aves por repetição foram sacrificadas por deslocamento cervical e pesadas e os respectivos baços e bolsas cloacais foram coletados e pesados para avaliação de peso relativo ao peso vivo. As bolsas foram ainda medidas com auxílio de um “bursômetro” e, após, acondicionadas em formol a 10% tamponado para posterior análise de depleção linfocitária. A partir desta data, as aves restantes continuaram submetidas aos tratamentos até os 47 dias, quando as três aves/repetição previamente inoculadas com adjuvante foram inoculadas com tuberculina aviária e 24 horas após sacrificadas por eletrocussão. As barbelas inoculadas e não inoculadas de cada ave foram retiradas e pesadas.

Os parâmetros imunológicos mensurados foram a imunidade humoral, através do teste de ELISA para DIB, e para SRBC, pela técnica de Hemaglutinação (HA). As densidades óticas obtidas nas leituras dos testes ELISA para DIB foram transformadas em títulos de anticorpos através de fórmula recomendada pelo fabricante do “kit” (IDEXX Corporation[®]). Para SRBC, os títulos foram obtidos seguindo-se o protocolo adaptado de Bartlett & Smith (2003). Imunidade celular foi mensurada através da reação de tuberculinização, pela diferença de peso entre barbela inoculada vs. não inoculada de uma mesma ave. Foi realizada ainda a análise de depleção linfocitária das bolsas conservadas em formol tamponado a 10% na coleta, as quais foram cortadas e seguiram-se desidratação, clarificação e inclusão destas peças em parafina, cortes em

secções de 0,5 µm de espessura e, por fim, a coloração com hematoxilina e eosina. As lesões foram avaliadas ao microscópio e classificadas pela escala de escores de Muskett (1979), que varia de um a cinco.

O delineamento foi completamente casualizado, com quatro tratamentos e nove repetições compostas de 12 aves cada. Os dados foram analisados pelo programa SAS (2001) através de ANOVA. Os títulos de anticorpos para SRBC foram analisados utilizando-se a transformação para Raiz Quadrada dos mesmos. Diante do teste de F significativo ($P < 0,10$), realizou-se o teste de médias pelo LSmeans. Foram realizados também, contrastes ortogonais para comparar os tratamentos com selênio inorgânico vs. orgânico (0,3 e 0,5 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO) para os dados de desempenho, de títulos de anticorpos, de análise quantitativa e qualitativa de sangue (perfil hematológico), dos pesos absolutos e relativos de baços e bolsas, de depleção linfocitária das bolsas e de pesos e diferença de pesos entre barbelas inoculadas e não inoculadas. À exceção dos dados de desempenho, as análises estatísticas foram realizadas sobre resultados obtidos de 27 aves por tratamento (três aves por repetição). Na análise dos resultados de depleção de bolsas, foi utilizado ainda o Teste de Qui-Quadrado (χ^2).

Tabela 1 – Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas experimentais

Ingredientes, (%)	Inicial				Crescimento			
	Níveis (mg/kg) e Fontes de Se							
	0,3 SeFI	0,3 SeFI + 0,2 SeFO	0,5 SeFI	0,3 SeFO	0,3 SeFI	0,3 SeFI + 0,2 SeFO	0,5 SeFI	0,3 SeFO
Milho moído	57,44	57,42	57,44	57,41	65,24	65,22	65,24	65,21
Farelo de soja 45%	35,62	35,62	35,62	35,62	28,55	28,55	28,55	28,55
Fosfato	1,67	1,67	1,67	1,67	1,41	1,41	1,41	1,41
Calcário	1,12	1,12	1,12	1,12	1,00	1,00	1,00	1,00
Óleo de soja	3,00	3,00	3,00	3,00	2,6	2,6	2,6	2,6
Sal Comum	0,48	0,48	0,48	0,48	0,464	0,464	0,464	0,464
DL Metionina	0,27	0,27	0,27	0,27	0,25	0,25	0,25	0,25
L-Lisina	0,16	0,16	0,16	0,16	0,27	0,27	0,27	0,27
L-Treonina	0,026	0,026	0,026	0,026	0,017	0,017	0,017	0,017
Cl Colina 60%	0,011	0,011	0,011	0,011	-	-	-	-
Monensina 20%	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Px Mineral ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Px Vitamínico ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sel. de sódio 45 % ³	0,000067	0,000067	0,000111	-	0,000067	0,000067	0,000111	-
Sel-Plex ⁴	-	0,02	-	0,03	-	0,02	-	0,03
Total	100	100	100	100	100	100	100	100
Nutrientes Calculados								
PB, %	21	21	21	21	18,5	18,5	18,5	18,5
EM, kcal/kg	3050	3050	3050	3050	3125	3125	3125	3125
Cálcio, %	0,865	0,865	0,865	0,865	0,752	0,752	0,752	0,752
Fósforo disponível, %	0,434	0,434	0,434	0,434	0,377	0,377	0,377	0,377
Sódio, %	0,21	0,21	0,21	0,21	0,203	0,203	0,203	0,203
Cloro, %	0,33	0,33	0,33	0,33	0,323	0,323	0,323	0,323
Lis dig, %	1,15	1,15	1,15	1,15	1,071	1,071	1,071	1,071
Met dig., %	0,559	0,559	0,559	0,559	0,512	0,512	0,512	0,512

Met+Cis dig %	0,85	0,85	0,85	0,85	0,778	0,778	0,778	0,778
Treonina dig %	0,74	0,74	0,74	0,74	0,642	0,642	0,642	0,642
Colina, mg/kg	1400	1400	1400	1400	1188	1188	1188	1188
Selênio, mg/kg	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5	0,3

¹ Composição por kg de produto: Mn, 150.000 mg; Zn, 140.000 mg; Fe, 100.000 mg; Cobre, 16.000 mg; Iodo, 1.500 mg.

² Composição por kg de produto: Vit A, 8.000 KUI; Vit D3, 2.000 KUI; Vit K3, 1.800mg; Vit B1, 1.800 mg; Vit B2, 6.000 mg; Vit B6, 2.800 mg; Vit B12, 12.000 mcg; Ácido Pantotênico, 10.000 mg; Niacina, 40.000 mg; Ácido Fólico, 1.000 mg; Biotina, 60.000 mcg. Vit E, 40.000 mg/kg, na fase inicial e 25.000 mg/kg na fase de crescimento.

³ Sel. de sódio a 45% = selenito de sódio a 45%

⁴ SelPlex, 0,1% de Se; produzido por Alltech Biotechnology, Lexington, Kentucky, USA

Resultados e Discussão

Durante o experimento, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com relação à mortalidade. Os resultados de desempenho encontram-se na Tabela 2. Através da ANOVA, não houve efeito significativo dos níveis e fontes de selênio sobre as respostas de desempenho. Na análise de contrastes de médias, porém, observou-se que o uso de SeFO estimulou o consumo tanto no período de 1 a 21 dias ($P < 0,09$) quanto no período de 21 a 42 dias ($P < 0,10$). No entanto, o maior consumo observado não afetou o ganho de peso, nem a conversão alimentar ($P < 0,10$). O fato das dietas terem sido feitas a partir de uma única dieta basal diminuiu a possibilidade de um erro de mistura da ração, reforçando as diferenças observadas.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte fêmeas recebendo diferentes níveis e fontes de Se na dieta nos períodos de 1 a 21 dias, 22 a 42 e 1 a 42 dias de idade

¹ Tratamentos	1 a 21 dias			22 a 42 dias			1 a 42 dias		
	CR(g)	GP(g)	CA(g)	CR(g)	GP (g)	CA(g)	CR(g)	GP(g)	CA(g)
0,3 SeFI	1182	841	1,40	2644	1276	2,08	3826	2116	1,81
0,3 SeFI+0,2 SeFO	1172	846	1,39	2640	1273	2,08	3812	2118	1,80
0,5 SeFI	1171	845	1,39	2632	1268	2,08	3803	2112	1,80
0,3 SeFO	1201	860	1,40	2705	1290	2,10	3906	2150	1,82
P	0,26	0,43	0,56	0,39	0,89	0,94	0,26	0,62	0,86
CV	2,95	3,0	2,3	3,7	5,0	4,4	3,1	3,1	2,6
² Contrastes									
SeFI vs SeFO ¹	1176 vs 1201	-	-	2638 vs 2705	-	-	3814 vs 3906	-	-
P	0,09	0,11	0,86	0,10	0,48	0,59	0,08	0,19	0,51

¹0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

²contrastes 0,3 mg/kg SeFI + 0,5 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO

Estes resultados contradizem em parte os dados de Ribeiro et al. (2008), que observaram que aves recebendo suplementação de vitamina E, C, Zinco e 0,3 ppm de SeFO em uma dieta basal com 0,3 ppm de SeFI, tiveram menor CR e melhor CA. Entretanto, deve-se considerar que nesse trabalho, vários nutrientes foram estudados além de Se. Moreira et al. (2001) testaram 0, 0,15, 0,45, 0,75, 1,05 e 1,35 mg/kg de SeFO e SeFI e encontraram aumento do CR para as aves consumindo 1,05 mg/kg, no período de 1 a 21 dias, sem efeito para a fonte de Se. Esta resposta foi considerada inesperada pelos autores, não se refletindo no período de 22 a 42 dias. Por outro lado, Dahlke et al. (2005) submetendo frangos a diferentes temperaturas, não observaram efeitos de níveis e fontes de Se sobre as respostas de desempenho, incluindo CR. Em

um trabalho recente, Yoon et al (2007) compararam níveis de zero a 0,3 mg/kg de SeFI e duas fontes de SeFO na dieta de frangos de corte, também não encontrando efeito dos níveis ou fontes de Se sobre o desempenho das aves. No entanto, a retenção corporal de Se foi maior para SeFO e foi mais eficiente à medida que a idade das aves aumentou e os níveis de Se na dieta diminuíram. Os autores sugerem que existem diferenças na biodisponibilidade das fontes orgânicas de Se, baseados nos resultados de Se sanguíneo e da atividade de GPx. Ao contrário, Payne & Southern (2005) não verificaram diferenças em qualquer das respostas de desempenho, de carcaça ou atividade da GPx em frangos recebendo 0 ou 0,3 mg/kg de Se, independentemente da fonte. Porém, observaram maior retenção muscular de Se com SeFO. Edens (2001), compilando trabalhos com SeFO e SeFI observou que o uso das duas fontes combinadas não resultou em melhora de peso corporal em relação ao oferecimento de SeFO apenas, já a CA foi melhorada com SeFO+SeFI, comparado a SeFI somente. Cabe ressaltar que a dieta basal, nessa comparação, continha 0,26 mg/kg de SeFO, o que pode ser considerado um nível razoável. O autor concluiu que as linhagens modernas de frangos de corte, caracterizadas por crescimento rápido, podem estar exigindo mais Se do que o recomendado pelo NRC (1994), que é de 0,15 mg/kg.

Levando-se em conta que, no presente experimento, as aves sofreram EPC e que o ambiente quente limita consumo (Dahlke et al., 2005; Ribeiro et al., 2008; Teeter et. al., 1985), o aumento no CR verificado é uma resposta positiva, ainda que não tenha sido acompanhada pela melhora no ganho de peso ou na conversão alimentar.

Não foi observado no presente experimento um efeito da combinação SeFO e SeFI sobre o desempenho das aves, confirmando as observações de Edens (2001). O nível de 0,5 mg/kg de Se, via SeFI, também não mostrou efeito positivo e isso pode ser devido ao fato de as aves não exigirem mais do que 0,3 mg/kg de Se, sendo o excesso

ingerido prontamente metilado e eliminado via urina e fezes (Edens, 2001) e pulmões (Rutz et al., 2005).

Não houve efeito significativo dos níveis e fontes de selênio sobre os pesos absolutos e relativos de baços e bolsas, (Tabela 3) concordando com os resultados de Ribeiro et al.(2008) e Laganá et al. (2005), onde também a suplementação de SeFI ou SeFO, bem como Zn, com e sem Vitaminas C e E não afetaram estes parâmetros; em ambos os trabalhos porém, houve efeito do estresse por calor cíclico (EPC) aplicado. Segundo Guimarães et al. (2003), frangos de corte expostos ao calor apresentaram às três semanas de vida um maior índice de morte celular e hipotrofia nas bolsas. A regressão fisiológica da bolsa se inicia por volta da quinta semana de vida das aves, completando-se por volta das 23 semanas. No presente trabalho, os pesos de bolsas foram muito menores do que os encontrados por Ribeiro et al.(2008) e Laganá et al. (2005), ainda que no primeiro, a avaliação tenha sido realizada aos 42 dias, e nos últimos, as bolsas tenham sido avaliadas aos 35 dias. Tal efeito pode ser atribuído em parte ao fato de as aves serem fêmeas e certamente também à aplicação da vacina contra DIB. Resultado semelhante foi obtido por Rubin et al. (2007), ao vacinar aos 14 dias as aves contra DIB. Moraes et al. (2004) observaram que quanto mais patogênica a cepa vacinal, menor o tamanho de bolsa. Esta também pode ter sido uma das causas do pequeno peso relativo observado nesse trabalho.

O diâmetro das bolsas também não sofreu efeito dos tratamentos (Tabela 3) Conforme o Manual Técnico FORT DODGE (2008), o grau de lesão das bolsas de aves avaliadas aos 35-40 dias, se vacinadas aos 21 dias, varia com o poder de invasão da cepa viral envolvida. Vírus altamente patogênicos provocam destruição maciça da camada córtico-medular do órgão, com posterior substituição por tecido fibroso e atrofia, resultando em diminuição considerável do diâmetro. Nessas condições, os

diâmetros de bolsas esperados variam de 9,5 a 15, 9 mm. O diâmetro médio das bolsas encontradas no presente experimento foi 12 mm, indicando uma vacinação eficiente, segundo o Manual Técnico FORT DODGE (2008). Moraes et al. (2004) estudaram o efeito de vacinas classificadas como intermediárias, “intermediárias-plus” e fortes e constataram que as bolsas de aves, aos 28 dias, vacinadas com as cepas vacinais “intermediárias-plus” e fortes, tiveram diâmetros significativamente menores do que os de aves controle ou vacinadas com cepas intermediárias. A cepa vacinal usada nesse experimento é considerada como forte (Bolis, 2003) e, desta forma, os diâmetros estão dentro do tamanho esperado.

Tabela 3. Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas e diâmetro de bolsas de frangos de corte fêmeas aos 42 dias, vacinados contra Doença Infecciosa da Bolsa e recebendo diferentes níveis e fontes de Se na dieta

¹ Tratamentos	Peso baços, g	³ Peso relativo baços, %	Peso bolsas, g	³ Peso relativo bolsas, %	² Diâmetro bolsas, mm
0,3 SeFI	2,01	0,099	0,978	0,045	12,7
0,3 SeFI +0,2 SeFO	2,25	0,108	0,922	0,044	12,1
0,5 SeFI	2,09	0,097	0,844	0,039	12,1
0,3 SeFO	1,90	0,089	0,870	0,041	12,0
P	0,34	0,22	0,44	0,5	0,53
CV	34,9	33,63	35,3	35,8	15,53

¹ 0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

² obtidos com auxílio de bursômetro, com correspondência a valores em mm

³ peso relativo ao peso vivo da ave

Com relação à depleção linfocitária das bolsas, a Tabela 4 revelou efeitos significativos entre os tratamentos. O contraste de médias mostrou que as bolsas das aves com 0,3 mg/kg de SeFO foram as que tiveram os menores escores de depleção,

($P < 0,01$) comparadas às aves que receberam SeFI. Moraes et al. (2004) acreditam que uso de vacinas de cepas “fortes” está associado à maior depleção linfocitária. Neste caso, o uso de SeFO apresentou-se como uma boa alternativa para a diminuição deste quadro, sugerindo um efeito protetor sobre o órgão. Leng et al. (2003) observaram que o complexo enzimático glutathiona-peroxidase melhora sua atividade antioxidante e protetora das células com níveis adequados de Se. Já Edens (2001), Schrauzer (2000) e Yoon et al (2007) observaram este mesmo efeito com o uso de SeFO, explicando assim, porque os danos celulares provocados pela vacina no tecido das bolsas foram minimizados no presente experimento, com o uso de 0,3 mg/kg de SeFO. Por fim, Dawson, (2006) comenta resultados de pesquisas em nutrigenômica mostrando efeito positivo de suplementações com SeFO e SeFI na transcrição gênica em células intestinais e reprodutoras de ratos, provavelmente por melhorar a atividade dos mecanismos antioxidantes nestes tecidos.

Tabela 4. Frequência de escores de depleção linfocitária das bolsas de frangos de 42 dias, vacinados contra Doença Infecciosa da Bolsa aos 19 dias e recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta.

¹ Tratamentos	² Escores				Total
	2	3	4	5	
0,3 SeFI	10	13	4	0	27
0,3 SeFI + 0,2 SeFO	11	14	1	1	27
0,5 SeFI	6	16	2	3	27
0,3 SeFO	14	13	0	0	27
Total	41	56	7	4	108
χ^2	P<0,06				

¹0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

²Escores: **2**, 31 a 50% de depleção ; **3**, 51 a 69% ; **4**, 70 a 80% e **5**, > 90% (Muskett, 1979)

Os resultados de pesos e diferenças de peso entre barbelas inoculadas e não inoculadas na mesma ave encontram-se na Tabela 5. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para esta resposta. Rubin et al.(2007), estudando o efeito de metionina e arginina sobre a resposta celular de frangos através do peso de barbela, observaram que com nível deficiente de metionina houve uma reação celular menor. Cabe ressaltar que estes autores utilizaram frangos machos e fizeram duas aplicações de TA. Já no presente experimento, foram utilizadas fêmeas, cujas barbelas são menores e apenas uma inoculação foi feita. Além disso, houve uma grande variabilidade nos resultados (CV= 72%) quando comparados aos do estudo de Rubin et al (2007), cujo CV foi de 39%.

Tabela 5. Pesos e diferença de pesos entre barbela inoculada e não inoculada de frangos de corte aos 48 dias recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta.

¹ Tratamentos	Peso, g	Diferença peso, g
0,3 SeFI	0,71	0,39
0,3 SeFI +0,2 SeFO	0,63	0,37
0,5 SeFI	0,60	0,33
0,3 SeFO	0,55	0,31
P	0,29	0,65
CV	43,8	72,5

¹0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

Na Tabela 6 encontram-se os resultados da análise do perfil hematológico das aves. A análise de variância não mostrou diferença entre níveis ou fontes de Se sobre as respostas analisadas, porém na análise de contrastes, a dose de 0,3 mg/kg de SeFI,

comparada a 0,3 mg/kg de SeFO, resultou em valores mais altos de hematócrito ($P < 0,07$). No entanto, estes valores não estão fora das faixas aceitáveis para este parâmetro (Feldmann, 2000). Valores altos indicam desidratação (Yahav et al., 1997), o que não foi observado no presente experimento, mesmo tendo submetido as aves ao EPC durante 21 dias. Também foi observada uma maior relação heterófilo/linfócito (H/L) ($P < 0,10$) nas aves recebendo SeFI. Este parâmetro tem sido referido na literatura como importante indicativo de estresse, especialmente por calor. Nessa situação, os corticóides liberados na circulação reduzem o número de linfócitos (Gross & Siegel, 1983). Valores menores do que 1 para esta relação podem ser considerados normais. Por outro lado, um desafio imunológico faz elevar a número de heterófilos nas primeiras 6 a 12 horas da resposta imune, constituindo-se na primeira linha de defesa para aves (Harmon, 1998). Laganá et al. (2005) encontraram valores de H/L de 0,91 e 0,6 para frangos no EPC e em ambiente termoneutro, respectivamente. A suplementação com Zn e Se de fonte orgânica não conseguiu reverter este quadro. No presente experimento, o uso do SeFO aliviou, em parte, os efeitos do EPC, reduzindo a relação H/L para 0,73. Não foram encontrados dados na literatura para confrontar estas observações. No entanto, a explicação pode estar relacionada à influência que o Se exerce ao manter a funcionalidade dos neutrófilos (Arthur et al., 2003), que em aves equivalem aos heterófilos (Harmon, 1998).

Tabela 6. Perfil hematológico de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta

¹ Tratamentos	Hematocr	Leu Tot	Heter	Eosin	Basof	Monoc	Linfoc	H/L
0,3 SeFI	29,19	7736	3105	187	231	597	3613	0,96
0,3 SeFI+0,2 SeFO	28,11	8192	3036	210	261	692	3993	0,81
0,5 SeFI	28,04	8400	2959	305	264	899	3972	0,80
0,3 SeFO	28,00	7461	2610	211	187	596	3858	0,73
P	0,23	0,23	0,52	0,12	0,40	0,13	0,47	0,39
CV (%)	8,8	21,7	42,0	81,4	74,0	73	25,0	58,0
SeFI vs SeFO ²	28,6 vs 28	8068 vs 7461	3032 vs 2610	246 vs 211	248 vs 187	645 vs 596	3793 vs 3852	0,88vs 0,73
P	0,27	0,17	0,18	0,46	0,17	0,24	0,79	0,21
0,3 SeFI vs 0,3 SeFO ³	29,2 vs 28	7736 vs 7461	3036 vs 2610	187 vs 211	231 vs 187	597 vs 596	3613 vs 3858	0,96vs 0,73
P	0,07	0,58	0,17	0,65	0,38	0,99	0,37	0,10

Médias com letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Duncan

Hematócr=hematócrito (%); Hb= hemoglobina (g/dL);

LeuTot= leucócitos totais (; Heter= heterófilos; Eosin= eosinófilos; basof= basófilos; Monoc=monócitos;

Linfoc= linfócitos (n° células/ μ L sangue)

H/L=relação heterófilo.

¹0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

²Contrastes 0,3 mg/kg SeFI + 0,5 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO; ³Contraste 0,3 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO

Uma observação importante é que os valores de leucócitos totais e linfócitos encontram-se bem abaixo dos padrões considerados normais (Feldmann, 2000), caracterizando leucopenia e linfopenia. Ambas têm sido relatadas como parte das respostas a corticosteróides em algumas espécies de aves (Davison & Flack, 1981), e nas aves sob EPC (Borges et al., 2003). Aengwanich et al. (2003) observaram em

frangos submetidos a EPC cíclico, durante 21 dias, um decréscimo no número de leucócitos e linfócitos totais na segunda semana após a aplicação do calor. Linfopenia também pode ser esperada em certas doenças virais, porém com pouca documentação (Campbell, 2007). Oladele et al. (2005) encontraram linfopenia em frangos e perus de quatro semanas de idade, 24 horas após inoculação intra-ocular do vírus da DIB, porém 72h após a inoculação, a população de linfócitos já estava normalizada. No presente experimento, a coleta do sangue foi feita 23 dias após a vacina, tempo suficiente para a normalização dos valores. Além disto, não há relato de que a cepa vacinal, ou mesmo cepas de campo estejam relacionadas à leucopenia ou linfopenia em frangos de corte.

Na Tabela 7, encontram-se os resultados da avaliação de títulos de anticorpos contra SRBC e contra Doença Infecciosa da Bolsa. Quanto aos títulos contra SRBC, o nível de 0,3 mg/kg SeFI foi o que mostrou maior produção de anticorpos ($P < 0,05$), diferindo significativamente dos demais tratamentos. Segundo Boa-Amponen et al. (2006), a forma de administração do antígeno (intra muscular ou endovenosa) pode influenciar na resposta imune, bem como o fator genético. No caso do presente experimento, todas as aves foram injetadas por via endovenosa, o que não suscita questionamentos sobre a interferência da forma de aplicação.

Para a avaliação de títulos de anticorpos contra DIB, a análise de variância não mostrou diferença significativa entre os tratamentos. Para as datas de coleta, houve diferença estatística, sendo que os títulos mais altos foram obtidos na terceira coleta, ou seja, 14 dias após a vacinação, discordando de Cardoso et al. (2006), que observaram que o aumento nos títulos de anticorpos contra Doença de New Castle, que ocorreu nos 14 dias pós vacinação, continuou à medida que avançou a idade das aves. No entanto, a análise de contrastes de médias revelou que o uso de SeFI resultou em títulos mais altos ($P < 0,04$) do que o uso de SeFO. Cabe comentar que títulos de anticorpos obtidos por

sorologia são respostas bastante variáveis, o que pode ser constatado através do alto coeficiente de variação.

O uso de SeFO não foi capaz de aumentar a produção de anticorpos, tanto contra SRBC quanto contra DIB. A ação desta forma de selênio pode estar mais ligada à integridade de tecidos e órgãos e à melhoria de sistemas metabólicos importantes para o equilíbrio orgânico, o que, em última análise, não deixa de representar, indiretamente, maior resistência às doenças.

Tabela 7. Títulos de anticorpos contra Doença Infecciosa da Bolsa¹ (aos 19, 29, 35 e 42 dias de idade) e SRBC² (aos 42 dias de idade) em aves recebendo diferentes níveis e fontes de selênio na dieta.

¹ Tratamentos	² Títulos Ac Contra Doença Infecciosa da Bolsa	³ Títulos Ac Contra SRBC
0,3 SeFI	2347	18,2a
0,3 SeFI +0,2 SeFO	2398	9,0b
0,5 SeFI	2425	8,8b
0,3 SeFO	2072	9,7b
P	0,49	0,003
⁴ Coletas		
1	Negativo	-
2	2667c	-
3	3516a	-
4	3059b	-
P	<0,0001	-
CV (%)	43,1	62
P	0,0357	-
⁵ 0,3 SeFI + 0,5 SeFI vs 0,3 SeFO	3181 vs 2763	
P	0,0357	-
⁶ 0,3 SeFI vs 0,3 SeFO	-	18,2 vs 8,8
P	-	0,0175

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo LSmeans

¹0,3 mg/kg SeFI, 0,3 mg/kg SeFI +0,2 mg/kg SeFO, 0,5 mg/kg SeFI e 0,3 mg/kg SeFO

²resultados obtidos por teste ELISA (Kit Flock Check IBD, IDEXX Inc.) Resultados considerados negativos para valores abaixo de 396.

³resultados obtidos pela técnica de Hemaglutinação e representados na forma de raiz quadrada

⁴Coleta 1: pré-vacina, aos 19 dias de idade; coleta 2: 10 dias pós-vacina; coleta 3: 14 dias pós-vacina e coleta 4: 23 dias pós vacina

⁵Contrastes 0,3 mg/kg SeFI + 0,5 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO; ⁶Contraste 0,3 mg/kg SeFI vs 0,3 mg/kg SeFO

Estudos com resultados antagônicos em imunidade são comuns na literatura. Lessard et al. (1997) observaram que 400 UI de vitamina A revelaram melhor produção de anticorpos contra Doença de New Castle do que 15.000 UI; por outro lado, o maior nível de vitamina A foi o que mostrou maior reação celular. Dada a diversidade e especificidade de ações de células e moléculas que compõem o sistema imune e suas inter-relações, entende-se que a decisão por um nível nutricional ou fonte nem sempre afetará todos os tipos de resposta imune da mesma maneira.

Conclusão

Níveis de Se, ao redor dos valores práticos usados na nutrição de aves e fontes orgânica ou inorgânica, não afetaram o desempenho das aves. Porém, SeFO estimulou o consumo de ração, efeito que pode ser interessante em altas temperaturas. Nem imunidade celular, nem peso de baço e de bolsa ou o diâmetro de bolsa foram afetados por níveis ou fontes de Se. No entanto, o SeFO auxiliou na proteção linfocitária das bolsas após vacinação contra Doença Infecciosa da Bolsa e melhorou a relação heterófilo/linfócito das aves. Por outro lado, o uso de SeFI foi mais eficiente na produção de anticorpos contra SRBC e contra Doença Infecciosa da Bolsa.

Literatura Citada

- ARTHUR, J.R.; McKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1457S-1459S, 2003.
- AENGWANICH, W.; SRIDAMA, P.; PHASUK, Y.; VONGPRALAB, T. et al. Effects of ascorbic acid in cell mediated, humoral immune response, and pathophysiology of white blood cell in broiler under heat stress. **The Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.25, n.3, p.297-305, 2003.
- BOLIS, D.A; PAGANINI, F.J; SIMON, V.A; ZUANAZE, et al. Gumboro disease: evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, n.2, p.137-146, 2003.
- BOA-AMPONSEM, K.; PICARD, M.; BLAIR, M.E. ; et al. Memory antibody responses of broiler and leghorn chickens as influenced by dietary vitamin E and route of red blood cell administration. **Poultry Science**, v.85, p.173-177, 2006.
- BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; A.V.F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.975-981, 2003.
- CAMPBELL, T.W. Hematology in birds. In: CAMPBELL, T.W.; ELLIS, C. **Avian and exotic animal hematology and cytology**. 3.ed. Iowa: Ames, Blacwell, 2007, p.10-34.
- CARDOSO, A.L.S.P.; ALBUQUERQUE, R.; TESSARI, E.N.C. Humoral immunological response in broilers vaccinated against New Castle Disease and supplemented with dietary zinc and vitamin E. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.2, p.99-103, 2006.
- COLNAGO, G.L.; JENSEN, L. S.; LONG, P. L. Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. **Poultry Science**, v.63, p. 1136-1143, 1984.
- DAHLKE, F.; GONZALES, E.; FURLAN, R.L. et al. Avaliação de diferentes fontes e níveis de selênio para frangos de corte em diferentes temperaturas. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1, p.21-26, 2005.
- DANIELS, L.A. Selenium metabolism and bioavailability. **Biological Trace Element Research**, v.54, p.185-199, 1996.
- DAVISON, T.F.; FLACK, I.H. Changes in the peripheral blood leucocyte populations following an injection of corticotrophin in immature chicken. **Research in Veterinary Science**, v.30, p.79-82, 1981.
- DAWSON, K.A. Nutrigenomics: feeding the genes for improved fertility. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.312-322, 2006.
- EDENS, F.W.; GOWDY, K.Y.M. Selenium sources and selenoproteins in practical poultry production. Nutritional Biotechnology in the feed and food industries. In: Alltech's Annual Symposium, 20., 2004, Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology (CD ROM).
- EDENS, F.W. Involvement of Sel-Plex in physiological stability and performance of broiler chickens. Science and Technology in the feed industry. In: Alltech's Annual Symposium, 17., 2001, Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology (CD ROM).
- FINCH, J.M.; TURNER, R.J. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. **Research in Veterinary Science**, v.60, p.97-106, 1996.

- FELDMAN, B.; JAIN, N.; SCHALM, O.W.; ZINKL, J.G. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5.ed. Philadelphia: Blacwell Publishing, 2000. 1344 p.
- FORT DODGE, Programa de Monitoria da Bolsa de Fabrício. Disponível em:<
http://www.fortdodge.com.br/fd/aves/manuais/aves01/folheto_bf/index.htm>
Acesso em 15/10/08.
- GUIMARÃES, E.B.; VASCONCELOS, A.C.; MARTINS, N.R.S.; et al. Porcentagem de parênquima e índice apoptótico da bolsa cloacal em frangos de corte em ambiente de conforto e estresse térmico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.2, p.178-186, 2003.
- GROSS, W.B.; & SIEGEL, H.S. Evaluation of heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v.27, p.972-979, 1983.
- HARMON, B.G. Avian heterophils and inflammation and disease resistance. **Poultry Science**, v.77, p.972-977, 1998.
- KIDD, M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.650-657, 2004.
- LAGANÁ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; GONZÁLEZ, F.H.D. et al. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de frangos de corte em estresse por calor. **Boletim da Indústria Animal**, v.62, n.2, p.157-165, 2005.
- LENG, L.; BOBCEK, R.; KURICOVÁ, S. et al. Comparative metabolic and immune responses of chickens fed diets containing inorganic selenium and TM organic selenium. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. **In: Alltech's Annual Symposium**, 19, 2003, Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology (CD ROM).
- LESSARD, M.; HUTCHINGS, D.; CAVE., N. Cell-mediated and humoral immune responses in broiler chickens maintained on diets containing different levels of vitamin A. **Poultry Science**, v.76, p.1368-1378, 1997.
- MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; PADILHA, A.P.; NASCIMENTO, V. et al. Infectious bursal disease: Evaluation of pathogenicity of commercial vaccines in Brazil in specific pathogen free chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science/Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.6, n.4, p.243-247, 2004.
- MOREIRA, J.; SANTOS, dos C.D.; ABREU, de C.M.P.; et al. Efeito de níveis e fontes de selênio na atividade enzimática da glutathione peroxidase e no desempenho de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.645-649, 2001.
- MUSKETT, J.C.; HOPKINS, I.G.; EDWARDS, et al. Comparison of two Infectious Bursal Disease vaccine strains: Efficacy and potential hazards in susceptibility and maternally immune birds. **Veterinary Record**, v.104, p.332-334, 1979.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of poultry**. 9th ed. Washington: National Academy Press; 1994.
- OLADELE, D.A.; ADENE, D.F.; OBI, T.U. et al. Sequential hematological study of experimental infectious bursal disease virus infection in chickens, turkeys and ducks. **Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v.58, n.4, p.211-215, 2005.
- PAYNE, R.L.; SOUTHERN, L.L. Changes in glutathione peroxidase and tissue selenium concentrations of broilers after consuming a diet adequate in selenium. **Poultry Science**, v.84, p.1268-1276, 2005.
- RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W. et al. 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, n.4, p.636-644, 2008.

- ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 2ed. Viçosa: UFV; Departamento de Zootecnia, 2005. 181p.
- RUBIN, L.L. et al. Effects of methionine and arginine levels on the immunity of broiler chickens submitted to immunological stimuli. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.4, p.241-247, 2007.
- RUTZ, F; ANCIUTI, M.A.; RECH, J.L. et al. Following response to Sel-Plex® and other organic minerals through the broiler breeder maze: case studies in Brazil. Nutritional Biotechnology Feed and Food Industries. **In: In: Alltech's Alltech's Annual Symposium**, 21, 2005, Lexington. **Proceedings...**Lexington: Alltech Biotechnology (CD ROM)
- SCHRAUZER, G.N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1653-1656, 2000.
- SURAI, P.F. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. Biotechnology in the Feed Industry. **In: Alltech's Annual Symposium**, 16, 2000, Lexington. **Proceedings...**Lexington: Alltech Biotechnology (CD ROM).
- TEETER, R.G.; SMITH, M.O.; OWENS, F.N.; et al. Chronic heat stress and respiratory alkalosis in broiler chicks. **Poultry Science**, v.64, p.1060-1064, 1985.
- YAHAV, S.; STRASCHNOW, A.; PLAVNICK, I. et al. Blood system response of chickens to changes in environmental temperatures. **Poultry Science**, v.76, p.627-633, 1997.
- YOON, I.; WERNER, T.M.; BUTLER, J.M. Effect of source and concentration of selenium on growth performance and selenium retention in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.727-730, 2007.

CAPÍTULO III

Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta

**Isabel C.M. da Silva⁴, Andréa Machado Leal Ribeiro¹, Cláudio Wageck Canal⁵,
Cátia C. Pinheiro¹, Maitê de Moraes Vieira¹, Thomas A. Gonçalves¹, Luciana
Lacerda⁶, Rosecler Alves Pereira⁷**

RESUMO: Em um experimento com 432 pintos de corte de 1 a 36 dias de idade, avaliaram-se diferentes estímulos imunológicos em aves submetidas a 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na dieta. Metade das aves foi estimulada através de uma vacina atenuada contra coccidiose e a outra metade não, alojadas em diferentes salas sob mesmo manejo de temperatura e arraçoamento, constituindo um fatorial 3 x 2. Ambos os grupos foram vacinados contra doença de New Castle (DNC) para verificar títulos de anticorpos. Avaliou-se desempenho, pesos absolutos e relativos de baços e bolsas (Pbolsa, PRbolsa, Pbaço e PRbaço), diâmetro e depleção linfocitária das bolsas, anticorpos contra DNC, hematócrito, hemoglobina, leucócitos e relação heterófilo/linfócito (H/L). Houve interação entre vacinação contra coccidiose (VaCC) e nível de vitamina E, sendo que, nas aves vacinadas, as que consumiram 65 mg/kg mostraram significativamente melhor ganho de peso (GP) no período total, menor relação H/L e maiores títulos de anticorpos contra DNC. Na fase inicial, aves VaCC mostraram menor peso (PM) e GP, mas, no período total, igualaram seu desempenho ao das não vacinadas. A vacinação contra coccidiose resultou em menores Pbolsa, PRbolsa, menor diâmetro de bolsas, porém menor depleção linfocitária das bolsas. A vitamina E não teve efeito sobre estas respostas, bem como Pbaço e PRbaço não foram afetados pelo nível de vitamina E ou VaCC. Aves VaCC mostraram os menores valores de hematócrito e hemoglobina ($P < 0,05$) e os maiores valores para leucócitos totais e linfócitos ($P < 0,05$). Os parâmetros sanguíneos analisados não foram afetados pelos níveis de vitamina E. O nível de 65 mg/kg de vitamina E afetou positivamente o desempenho e melhorou a resposta imune humoral, principalmente das aves vacinadas contra coccidiose.

⁴ Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia, UFRGS

⁵ Laboratório de Virologia da faculdade de Veterinária, UFRGS

⁶ Laboratório de Análises Clínicas – LACVET, Faculdade de Veterinária da UFRGS

⁷ Médica Veterinária, Doutora em Ciências Veterinárias (Patologista)

Palavras-chave: frango de corte, desempenho, doença de New Castle, resposta imune, vacina, coccidiose, vitamina E

ABSTRACT: One experiment conducted with 432 birds since 1 to 36 days of age evaluated different immunological stimulus in birds submitted to 30, 65 and 100 mg/kg of vitamin E in the diet. Birds were housed in two rooms under the same temperature management and feeding. In one of the rooms, birds were immunologically challenged through vaccination against coccidiosis (VaCC). In both rooms, all birds were vaccinated against New Castle Disease (NCD) in order to verify the antibody titer generated in by the different treatments. The parameters evaluated were: performance, absolute and relative bursa and spleen weights (BurW, RBurW, SW, and RSW), bursa diameter and lymphocytary bursa depletion (LBD), antibody production for New Castle Disease, (AbNCD) hematocrit, hemoglobin, leucocytes and heterophil/lymphocyte ratio (H/L). There was a significant interaction between VaCC and vitamin E levels; VaCC birds consuming 65 mg/kg showed better weight gain ($P \leq 0.03$) in total period, lower value for H/L ratio ($P \leq 0.09$) and grater titles of AbNCD ($P < 0.035$). In the first period, VaCC birds showed lower weight e weight gain ($P < 0,05$), but in the total period these group achieved the same performance of non-vaccinated birds. VaCC resulted in less BurW, RBurW, bursa diameters ($P < 0.05$), but lower LBD ($P < 0.05$). Vitamin E levels had no effect on those parameters, and SW and SRW were no affected by vitamin E levels or VaCC. Vaccinated birds showed lower hematocrit and hemoglobin values ($P < 0.05$) and higher leucocytes and lymphocytes values ($P < 0.05$). Blood analysis was not affected by vitamin E levels. The level of 65 mg/kg vitamin E positively affected the performance and improved humoral immune response, mainly for immunologically challenged birds.

Key words: broiler, coccidiosis vaccine, immune response, New Castle disease, performance, vitamin E

Introdução

As exigências nutricionais para frangos de corte estão bem estabelecidas; no entanto, ainda não foram definidas as exigências para uma melhor resposta imunológica. A vitamina E é o antioxidante natural das membranas celulares. Além disso, modula a sinalização inflamatória, regula a produção de prostaglandinas e leucotrienos (Friedman et al, 1998), minimiza os danos resultantes da ação citotóxica no organismo (Leshchinski & Klasing, 2001) e melhora a atividade fagocitária de macrófagos na fase jovem da vida das aves (Konjufca et al, 2004). As formulações à base de milho e farelo de soja fornecem, em média, 10 mg/kg de vitamina E (NRC, 1994) e, em geral, suplementa-se as dietas com α -tocoferol. Na literatura, há resultados controversos quanto à influência desta vitamina sobre a resposta imune. Sakamoto et al. (2006) encontraram maior produção de anticorpos contra SRBC (“sheep red blood cells”) em frangos de corte, aos 10 dias de idade, suplementados com 10 mg/kg de vitamina E do que com 500 mg/kg associadas à glutamina, sem a mesma resposta aos 35 dias de idade. Também utilizando SRBC em galos, Boa-Amponsem et al. (2000) observaram menor produção de anticorpos seis dias após a inoculação, relação heterófilo/linfócito (H/L) maior, e resposta celular deprimida com 300 mg/kg de vitamina E na dieta, quando comparadas as 10 mg/kg. Leshchinski & Klasing (2001), ao utilizar vacina inativada contra Bronquite Infecciosa em frangos de corte, não obtiveram resultado claro no nível de vitamina E para produção de anticorpos. Porém, ao utilizarem SRBC como antígeno, encontraram maior produção de anticorpos com 50 mg/kg do que com 0 e 200 mg/kg de vitamina E. Os autores concluíram que a produção de anticorpos depende da natureza do antígeno e que níveis de 25 a 50 mg/kg de vitamina E seriam mais efetivos em desencadear resposta imune do que níveis altos. Isto pode ser explicado pelos diferentes efeitos da vitamina E sobre o balanço

antioxidante/radicais livres, resultando em diversos eventos de sinalização e estados de ativação do sistema imune. Também Friedmann et al. (1998) obtiveram maior produção de anticorpos com 0 e 10 mg/kg de vitamina E do que com 30 e 150 mg/kg de suplementação sobre uma dieta basal (8 mg/kg de vitamina E) em aves vacinadas contra doença de New Castle. Para os autores, o excesso da vitamina produziu pró-oxidantes, ao invés de atuar como antioxidante, de forma semelhante ao que ocorre com a vitamina C (Halliwell, 1996). Em vista destes diferentes resultados, o objetivo do presente experimento foi estudar os efeitos de níveis de vitamina E próximos dos recomendados em situação de campo na imunidade de frangos de corte, ao mesmo tempo em que se reproduziu os desafios sanitários que as aves sofrem em condições comerciais através do estímulo com uma vacina contra coccidiose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 432 pintos de corte de 1 dia, machos, da linhagem ROSS 308. As aves foram alojadas em baterias metálicas (0,72 m²/gaiola, na fase inicial e 0,84 m²/gaiola, na fase de crescimento), recebendo rações experimentais desde o primeiro dia de idade e água à vontade. Metade das aves foi vacinada contra coccidiose e a outra metade não e foram criadas em ambientes separados sob mesmo manejo de temperatura controlada com termômetros de máxima e mínima e termohigrômetros. Aves mortas e eliminadas foram registradas. Luz artificial por 24 horas foi mantida durante todo o período de criação que se prolongou até os 36 dias de idade.

O experimento foi realizado em um delineamento completamente casualizado, em um arranjo fatorial 3x2, com três níveis de vitamina E na dieta e vacinação ou não contra coccidiose (VaCC) e seis repetições por sala, com 12 aves cada. Aos 29 dias, este número foi diminuído para 10 aves por repetição.

As rações experimentais foram elaboradas a partir de uma ração basal calculada com base nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al, 2005), onde se adicionou, para cada tipo de ração, as doses de vitamina E testadas: 30, 65 e 100 mg/kg (Tabela 1). A vitamina E foi utilizada na forma de α -tocoferol a 50% (BASF®). As rações foram analisadas para matéria seca e proteína bruta (Laboratório de Nutrição Animal da UFRGS) e para nível de vitamina E (CBO Assessoria e Análises, Campinas), sendo que os resultados mantiveram-se dentro dos valores esperados.

Tabela 1 – Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas basais

Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento
Milho moído	53,55	59,57
Farelo de soja 45%	38,93	33,34
Fosfato Monobicálcico	1,43	1,21
Calcário Calcítico	1,35	1,38
Óleo de arroz	3,84	3,51
Sal Comum	0,41	0,43
DL Metionina	0,207	0,214
L-Lisina	0,129	0,197
Cl. Colina 60%	0,06	0,05
Premix Mineral/Vitamínico ¹	0,1	0,1
Total	100	100
Nutrientes calculados		
Proteína bruta, %	22,0	20,00
Energia Met. Aves, kcal/kg	3050	3100

Cálcio, %	0,9	0,85
Fósforo disponível, %	0,4	0,35
Sódio, %	0,2	0,21
Cloro, %	0,27	0,29
Lis dig., %	1,15	1,07
Met dig., %	0,49	0,48
Met+Cis dig., %	0,81	0,77
Treonina dig., %	0,78	0,71
Colina, mg/kg	1.420	1.300

¹Composição por kg de produto: Mn, 75.000 mg; Zn, 70.000 mg; Fe, 50.000 mg; Cobre, 8.000 mg; Iodo, 750 mg.; Vit A, 8.000 KUI; Vit D3, 2.000 KUI; Vit K3, 1.800mg; Vit B1, 1.800 mg; Vit B2, 6.000 mg; Vit B6, 2.800 mg; Vit B12, 12.000 mcg; Ácido Pantotênico, 10.000 mg; Niacina, 40.000 mg; Ácido Fólico, 1.000 mg; Biotina, 60.000 mcg; Selênio, 300 mg/kg .

O grupo das aves vacinadas contra coccidiose recebeu aos três dias de idade Livacox Q[®], Merial, na dose de 10 mL/4 L de água, e foram distribuídos 110 mL em cada bebedouro infantil instalado nas gaiolas. Esta dose objetivou o consumo de 300 a 500 oocistos de *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. necatrix* por ave e foi mais concentrada do que a normalmente utilizada a campo, a fim produzir um alto desafio. Foi mantido um tapete de jornal sobre o piso das gaiolas por 16 dias após a aplicação da vacina, com o objetivo de favorecer a re-infestação das aves com os oocistos eliminados.

Aos 14 e 30 dias de idade, as aves de ambas as salas foram vacinadas contra doença de New Castle (DNC) (New Vac LS[®], Fort Dodge, intraocular) entendendo-se esta vacinação como um modelo para posterior determinação dos efeitos dos diferentes níveis de vitamina E e vacinação contra coccidiose sobre a imunidade humoral.

Semanalmente, as aves foram pesadas para obtenção do consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA). Aos 22, 29 e 36 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue de três aves por repetição (sempre as mesmas aves) para determinação dos títulos de anticorpos contra DNC. Aos 36 dias, as três aves foram sacrificadas por deslocamento cervical e pesadas. Baços e bolsas cloacais foram coletados e pesados para avaliação do peso absoluto e relativo. As bolsas foram ainda medidas com auxílio de um “bursômetro” (FORT DODGE, 2008) e, após, acondicionadas em formol a 10% tamponado, para posterior análise de depleção linfocitária. Outra coleta de sangue foi realizada aos 34 dias para análise qualitativa e quantitativa de sangue (perfil hematológico) em três aves por repetição selecionadas apenas para esta coleta, aonde foram avaliados hematócrito, hemoglobina e o número de leucócitos totais e seus subtipos (linfócitos, heterófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos) e ainda a relação heterófilo/linfócito. Os parâmetros imunológicos mensurados foram os títulos de anticorpos para DNC, o diâmetro das bolsas, os pesos absolutos e relativos de baços e bolsas, e ainda a análise de depleção linfocitária das bolsas como medidas indiretas de resposta imune humoral.

As análises sorológicas foram realizadas através da prova de Inibição de Hemaglutinação (HI) conforme protocolo preconizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (IN nº32, 13/05/2002), onde os títulos são definidos como a recíproca da maior diluição onde houve a inibição.

Para coletas de sangue, sorologia, coleta de baços e bolsas e análise de perfil hematológico foram utilizadas três aves por repetição.

As bolsas, conservadas em formol tamponado a 10% após a coleta, foram cortadas e seguiram-se desidratação, clarificação e inclusão em parafina, cortes em secções de 0,5 µm de espessura e, por fim, coloração com hematoxilina e eosina. As lesões foram

avaliadas e classificadas ao microscópio pela escala de escores de Muskett (1979), desenvolvida por este autor em estudo relacionado à Doença Infecciosa da Bolsa, variando de um a cinco.

Os dados do experimento foram analisados pelo programa SAS (2001) através da ANOVA, depois de verificado o pressuposto de normalidade dos dados. Os dados de sorologia para DNC sofreram transformação para \log^2 . Diante de um F significativo, realizou-se teste de médias pelo LSmeans. Teste de Qui-Quadrado (χ^2) foi aplicado para análise das freqüências de diâmetro das bolsas (em mm) e freqüências dos escores de depleção linfocitária das mesmas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto no período de 1 a 21 dias quanto no de 22 a 36 dias não houve interação entre os fatores estudados. Quanto aos fatores principais, os resultados de desempenho mostram que, para o período de 1 a 21 dias, a vacina contra coccidiose diminuiu GP ($P<0,05$) associado ao menor consumo de ração ($P<0,08$), já que a CA não foi diferente entre os grupos. No entanto, nos períodos de 22 a 36 dias e no período total, não se verificou esse efeito, indicando uma recuperação do grupo vacinado (Tabela 2). Apesar de, no período inicial, ter-se observado que o nível de 65 mg/kg de vitamina E propiciou a redução no GP, comparado ao nível de 30 mg/kg, no período de 22 a 36 dias, foi este o nível de vitamina E que proporcionou melhor resposta em GP.

Tabela 2. Desempenho das aves recebendo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na dieta nos períodos 1 a 21 dias, 22 a 36 e 1 a 36 dias de idade

Períodos	1 a 21 dias			22 a 36 dias			1 a 36 dias		
	CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA
Níveis de Vitamina E	(g)	(g)	(g/g)	(g)	(g)	(g/g)	(g)	(g)	(g/g)
30	1402	1029a	1,36	2283	1261b	1,812b	3685	2290ab	1,612b
65	1353	996b	1,36	2316	1301a	1,779a	3668	2297a	1,597a
100	1373	1003ab	1,38	2293	1265b	1,814b	3668	2241b	1,622b
P	0,11	0,04	0,52	0,44	0,04	0,03	0,88	0,05	0,10
CV	4,0	3,11	3,41	2,8	3,12	1,86	2,6	2,6	1,6
Vacina contra coccidiose									
Vacinados	1358	995b	1,37	2298	1278	1,80	3656	2272	1,610
Não vacinados	1393	1024a	1,37	2297	1273	1,80	3692	2280	1,611
P	0,08	0,01	0,96	0,96	0,75	0,79	0,27	0,71	0,9

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

CR= consumo de ração, GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar

O pico de ação da vacina contra coccidiose ocorre entre os 21 e os 28 dias de idade das aves (MERIAL[®]). Passada esta fase, é possível que o nível 65 mg/kg de vitamina E tenha auxiliado na recuperação do desempenho.

No período total, houve interação significativa entre a vacinação contra coccidiose e o nível de vitamina E ($P \leq 0,03$) para GP. As aves VaCC que receberam 65 mg/kg de vitamina E tiveram melhor GP, enquanto que, nas aves não vacinadas, o melhor nível foi de 30 mg/kg de vitamina E (Tabela 3). Independentemente do fator VaCC, a CA foi melhor no grupo que recebeu 65 mg/kg de vitamina E tanto no período de crescimento ($P < 0,03$), quanto no total ($P < 0,10$) (Tabela 2). Por outro lado, Allen & Fetterer (2002)

testaram, por meio de média e alta infecção com *E. maxima*, o efeito de cinco níveis de vitamina E (13 a 200 mg/kg). Na infecção média, o GP foi reduzido para todos os tratamentos e o grupo consumindo 76 mg/kg teve o menor GP e pior CA em relação ao nível de 13 mg/kg, seis dias após a infecção. Na infecção alta, as aves recebendo 100 ou 200 mg/kg tiveram os mais baixos GP quando comparadas às que receberam 13 mg/kg. Os autores concluíram que altos níveis de vitamina E não impedem ou diminuem os efeitos provocados por infecções causadas por *E. maxima* e atribuíram este resultado à má absorção da vitamina E devido às lesões na mucosa do jejuno causadas pelo parasita. Os autores sugerem que haja redução na atividade das esterases que hidrolisam a vitamina E a α -tocoferol e uma generalizada má absorção de lipídios, impedindo a mobilização do α -tocoferol livre até o sangue e tecidos infectados. Não há dados claros sobre quantidades de α -tocoferol nos diversos segmentos intestinais das aves, mas é conhecido que sua absorção está condicionada a absorção dos lipídios (Villaverde et al., 2008) e desta forma, fica claro porque ambos têm absorção prejudicada pela presença de coccidiose. Friedmann et al. (1998) não encontraram efeito da suplementação de 50 ou 100 mg/kg de vitamina E em uma dieta basal com 10 mg/kg de vitamina E sobre o desempenho de frangos e perus submetidos à inoculação de *E. coli* e vacinados contra DNC. Sakamoto et al. (2006) estudaram a suplementação de 10 e 500 mg/kg de vitamina E, associada ou não à glutamina, e não encontraram efeito dos tratamentos sobre o desempenho de frangos de corte criados em boxes e sem desafio por agentes patogênicos. Na comparação com outros trabalhos, é importante observar que as condições de desafio usadas foram diferentes. Resultados em condições semelhantes às propostas no presente experimento, não foram encontrados na literatura.

Tabela 3. Efeito das interações entre níveis de vitamina E e vacinação contra coccidiose sobre o ganho de peso (g) no período de 1 a 36 dias de idade

Níveis Vitamina E	Vacinados	Não Vacinados
30	2290ab	2350a
65	2330a	2280b
100	2240b	2270b

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Lsmeans ($p < 0,03$)

Nas Tabelas 4 e 5 encontram-se os pesos de baço e bolsa e diâmetro de bolsa. Como pode se observar, as aves VaCC tiveram menores pesos absolutos e relativos de bolsas ($P < 0,05$) e menores diâmetros de bolsa ($P < 0,0001$), independentemente do nível de vitamina E fornecido. Os baços, no entanto, não sofreram efeito de vacina ou dos níveis de vitamina E.

Tabela 4. Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas de frangos aos 36 dias consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na ração

Níveis de Vitamina E	Peso baço, g	Peso relativo, %	Peso Bolsa, g	Peso relativo, %
30	2,90	0,012	5,53	0,023
65	2,81	0,012	5,25	0,022
100	2,80	0,012	5,27	0,023
P	0,82	0,95	0,50	0,73
CV	28,2	29,7	20,8	20,5
Vacina contra Coccidiose				
Vacinados	2,80	0,012	5,13b	0,022b
Não vacinados	2,86	0,012	5,60a	0,024 ^a
P	0,70	0,87	0,04	0,04

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Lsmeans ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Diâmetro de bolsas (mm) ¹ de frangos aos 36 dias de idade consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na ração

Diâmetro, em mm	16 mm	19 mm	22 mm	Total
Níveis de Vitamina E		Frequência (Nº aves/medida)		
30	6	20	9	
65	9	20	6	
100	8	21	7	106
P	0,47			
Vacina contra Coccidiose				
Vacinados	20	30	3	
Não vacinados	3	31	19	106
P	<,0001			

¹Medidas foram obtidas através da correspondência em mm no Bursômetro e analisadas pelo teste χ^2 .

Os diâmetros das bolsas de 16, 19 e 22 mm correspondem, conforme o manual técnico da FORT DODGE (2008), a bolsas de aves de 35 a 40 dias de idade, não desafiadas, nem vacinadas com o vírus da Doença Infecciosa da Bolsa, o que foi o caso do presente experimento. Os níveis de vitamina E não afetaram os diâmetros de bolsas, mas a vacina contra coccidiose afetou ($P < 0,0001$) de forma que, para as aves que receberam VaCC ocorreu uma frequência maior de bolsas de menor medida (16 mm) e menor frequência das de maior medida (22 mm). Para as aves não vacinadas o resultado foi inverso. Estes resultados corroboram com os obtidos para pesos de bolsas (Tabela 4), menores para as aves VaCC. Laganá et al. (2005), ao submeterem frangos de corte a estresse por calor cíclico, com um controle de 30/60 mg/kg de vitamina E na fase

inicial/crescimento e suplementação de 100 mg/kg sobre o controle e Sakamoto et al. (2006) com aves recebendo 10 e 500 mg/kg de vitamina E na dieta, não encontraram efeito de níveis de vitamina E sobre pesos de bolsas e baços das aves. Por outro lado, Konjufca et al. (2004) observaram aumento de peso relativo de baço às sete semanas de idade em aves que receberam 110 e 220 mg/kg de vitamina E, comparadas às que receberam 16 mg/kg. Os autores acreditam que a vitamina E possa ter provocado um aumento na proliferação de linfócitos aumentando assim, o peso do órgão.

No presente experimento, a resposta de diminuição de peso e diâmetro de bolsas para as aves vacinadas foi inesperada, uma vez que o efeito principal da vacina contra coccidiose é a resposta imune local em nível intestinal. Silva et al. (2006) encontraram baços e bolsas menores e mais leves em pintos matrizes criados na primeira semana em cama reciclada e sem antimicrobianos na ração, atribuindo tal efeito a uma menor resistência deste grupo aos desafios ambientais, entre eles o vírus da Doença Infecciosa da Bolsa e oocistos presentes na cama reciclada. Pode-se esperar uma ocorrência semelhante com o uso de vacinas contra coccidiose. Duas explicações são plausíveis para os menores pesos e diâmetros de bolsas de aves vacinadas: a primeira não está em uma ação direta da vacina sobre o órgão, mas sim no seu efeito secundário, ou seja, a falta de nutrientes provocada pela má absorção devida às lesões no epitélio intestinal, que afetou inclusive o desempenho das aves vacinadas (Tabela 2). Dibner (1998) observou que pintos recém eclodidos e privados de alimento e água nas primeiras horas de vida tiveram pesos relativos de bolsas menores do que os que receberam alimento, tendo este efeito persistido até os 21 dias de idade. O desempenho das aves pode ser recuperado, passado o pico de ação da vacina que ocorre por volta dos 28 dias de idade, como ocorreu no presente experimento, porém o crescimento dos órgãos, inclusive a bolsa, que foram prejudicados na primeira semana de vida não é recuperado. Ressalta-se

ainda que a dose de vacina contra coccidiose, aplicada no presente experimento, foi mais concentrada do que a usada a campo, aumentando a chance de provocar lesões intestinais e queda de crescimento. A segunda explicação seria a presença de vírus da Doença Infecciosa da Bolsa nas instalações do experimento, uma vez que esse vírus afeta diretamente as bolsas cloacais e é de difícil erradicação por completo nos ambientes de criação de aves. Desta forma, é provável que a vacinação contra coccidiose tenha facilitado a infecção pelo vírus da Doença Infecciosa da Bolsa que levou à diminuição do peso e diâmetro de bolsas de aves vacinadas.

Na Tabela 6, encontram-se os resultados da análise de depleção linfocitária das bolsas. Os resultados mostram que os níveis de vitamina E não afetaram significativamente a depleção de linfócitos, porém houve efeito da vacina ($P < 0,05$), no sentido de que aves vacinadas tiveram menor depleção linfocitária do que aves não vacinadas. Porém, apenas escores acima de 3 são considerados como depleção linfocitária grave, quando se trata da Doença Infecciosa da Bolsa, ainda que outras doenças, inclusive bacterianas e condições estressantes, possam também afetar as bolsas através da liberação de corticóides que levam à apoptose dos linfócitos (Vieira et al., 2007). Como pode ser observado essa resposta não pode ser super valorizada, visto que somente três aves do total tiveram escore 3, e nenhuma acima deste número.

Analisados em conjunto, os resultados de peso/diâmetro e depleção de bolsas parecem ser contraditórios, porém segundo Moraes et al (2004), existe baixa correlação entre diâmetro e escore de depleção de bolsas de aves desafiadas ou vacinadas contra Doença Infecciosa da Bolsa. Por outro lado, fica difícil explicar porque as aves vacinadas contra coccidiose apresentaram bolsas com menor grau de depleção linfocitária embora com menores pesos e diâmetros.

Tabela 6. Depleção linfocitária das bolsas de frangos de corte de 36 dias consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose

Escores ¹	1	2	3	Total
Níveis de Vit E		Frequência (Nº aves/escore)		
30	27	9	0	
65	24	9	3	
100	29	7	0	
P		0,65		108
Vacina contra Coccidiose				
Vacinados	46	8	0	
Não vacinados	34	17	3	
P		0,02		108

Escores analisados pelo teste χ^2

¹Escores: **1** < 30% de depleção linfocitária; **2**, 31 a 50% e **3**, 51 a 69% (Muskett, 1979).

Na Tabela 7, encontram-se os resultados do perfil hematológico das aves aos 34 dias de vida. Os valores obtidos na análise do perfil hematológico encontram-se dentro dos parâmetros normais para frangos de corte, segundo Feldman (2000). Observa-se que os valores de hematócrito e hemoglobina foram menores para as aves vacinadas ($P < 0,05$), enquanto leucócitos totais e linfócitos foram maiores nas aves vacinadas ($P < 0,05$). Já os níveis de vitamina E não exerceram efeito sobre essas respostas. Laganá et al. (2005) também não encontraram efeito da suplementação de vitamina E sobre essas respostas, em frangos sob estresse por calor.

Tabela 7. Análise do perfil hematológico do sangue de frangos de 34 dias submetidos a três níveis de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose

Níveis de Vit. E	Hematocr	Hb	LeuTot	Heter	Eosin	Basof	Monoc	Linf	H/L
30	32,4	7,0	15.058	4.535	480,6	684,3	1.524	7.834	0,63
65	32,4	6,8	14.656	3.836	492,2	607,1	1.627	8.093	0,50
100	32,9	7,0	14.705	4.231	418,6	580,3	1.622	7.853	0,57
CV	7,3	8,8	18,2	36,2	74,0	60,5	49,1	23,1	50,9
P	0,58	0,58	0,8	0,15	0,63	0,49	0,82	0,80	0,19
Vacina contra Coccidiose									
Vacinados	31,9b	6,7b	15.418a	4.205	455,3	662,0	1.658	8.437a	0,55
Não vacinados	33,3a	7,2a	14.194b	4.196	472,3	586,0	1.523	7.416b	0,59
P	0,002	0,003	0,02	0,97	0,80	0,30	0,37	0,005	0,44
Interação VE X Vacc									
P	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem entre si pelo LS means ($P < 0,05$)

Hematócr=hematócrito (%); Hb= hemoglobina (g/dL);

LeuTot= leucócitos totais (; Heter= heterófilos; Eosin= eosinófilos; basof= basófilos; Monoc=monócitos;

Linfoc= linfócitos (n° células/ μ L sangue)

H/L=relação heterófilo.

Tabela 8. Efeito das interações entre níveis de vitamina E e vacinação contra coccidiose sobre a relação H/L

Níveis Vitamina (mg/kg)	Vacinados	Não Vacinados
30	0,68a	0,57
65	0,41b	0,60
100	0,55a	0,59

Médias na mesma coluna, seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Lsmeans ($P \leq 0,09$)

Houve interação significativa ($P \leq 0,09$) entre níveis de vitamina E e vacina contra coccidiose para a relação H/L (Tabela 8). As aves vacinadas que consumiram 65 mg/kg de vitamina E mostraram o menor valor de H/L. Este parâmetro tem sido referido na literatura como importante indicativo de estresse, especialmente por calor. Nessa situação, os corticóides liberados na circulação reduzem o número de linfócitos (Gross & Siegel, 1983). Segundo Campbell (2007), na maior parte das espécies, há mais linfócitos do que heterófilos na circulação de aves saudáveis, influenciando na relação H/L. Valores menores do que um, para esta relação, podem ser considerados normais para frangos de corte. Um desafio imunológico pode elevar a número de heterófilos nas primeiras 6 a 12 horas da resposta imune, já que estes participam na primeira linha de defesa para aves (Harmon, 1998), principalmente contra bactérias, mas também no controle de parasitas e vírus (Campbell, 2007). Laganá et al. (2005) encontraram valores de H/L de 0,91 para frangos submetidos ao estresse por calor; Ribeiro et al (2008), desafiando frangos com albumina sérica bovina, não observaram efeito sobre H/L com suplementação de vitamina E, vitamina C e Zn e Se orgânicos. No presente experimento, através da relação H/L, as aves com 65 mg/kg vitamina E parecem ter respondido menos aos desafios impostos pela vacinação. Boa-Amponen et al. (2000) encontraram valor significativamente maior de H/L em galos inoculados com SRBC e recebendo 300 mg/kg de vitamina E, contra os que receberam 10 mg/kg. Já Leshchinsky & Klasing (2001) não observaram efeito do nível de vitamina E na ração sobre esta relação.

Quanto à resposta imune humoral medida através dos títulos de anticorpos contra DNC, os resultados mostram interação significativa ($P < 0,05$) entre nível de vitamina E, vacinação e data de coleta do sangue (Tabela 9 e Figura 1). A interação foi no sentido de que, na segunda coleta, as aves vacinadas contra coccidiose e consumindo 65 mg/kg

de vitamina E mostraram maiores títulos do que as que consumiram 30 mg/kg de vitamina E, sem diferir porém das com 100 mg/kg. Na primeira e terceira coletas, não houve diferença significativa entre as médias dos títulos de aves consumindo qualquer um dos níveis de vitamina E, vacinadas ou não. A falta de diferenças entre os tratamentos para a primeira e terceira coletas pode ser consequência do pequeno intervalo entre vacinação e coleta (oito dias). Esta é uma dinâmica esperada no que diz respeito à produção de anticorpos frente a vacinações. Segundo Tizard (2002) a resposta de um animal a uma segunda dose de antígeno difere da primeira, pois ocorre mais rapidamente, os anticorpos atingem níveis mais altos e duram por mais tempo, mas de qualquer forma, com o passar da idade dos animais, os títulos de anticorpos declinam. Esta resposta secundária acontece mesmo que a primária tenha sido fraca e não detectada, e é devida à capacidade de memória do sistema produtor de anticorpos. Por outro lado, Cardoso et al (2006) observaram diferenças significativas entre tratamentos nos títulos contra DNC, já aos sete dias após a vacinação. Neste último trabalho, 120 e 400 mg/kg de vitamina E e Zn respectivamente, isoladamente ou em combinação, proporcionaram os maiores títulos de anticorpos contra DNC.

Tabela 9. Títulos de anticorpos¹ contra Doença de New Castle, obtidos em três momentos diferentes em frangos suplementados com 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E, vacinados ou não contra coccidiose

Níveis de vitamina E, mg/kg	Títulos de Anticorpos Log2			P
	30	65	100	
	6,49b	6,77a	6,72ab	0,29
Vacina Contra Coccidiose	Vacinados		Não vacinados	0,67
	6,69		6,63	
Coleta (C)**	1 ^a	2 ^a	3 ^a	<0,0001
	5,58c	7,83a	6,56b	
vitamina E vs. vacina vs. coletas				0,035
CV			20,7	

Médias na mesma linha, seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Lsmeans ($P \leq 0,05$)

¹ resultados transformados em Log2

** coleta 1= 8 dias após 1^a dose da vacina; coleta 2= 14 dias após 1^a dose e coleta 3= 22 dias após 1^a dose e 8 dias após 2^a dose

Leshchinsky & Klasing (2001) observaram melhor resposta humoral em frangos vacinados contra bronquite infecciosa (BI) nos níveis de 0 a 25 mg/kg de vitamina E; contra SRBC, no nível de 50 mg/kg de vitamina E enquanto que contra *Brucella abortus* (BA), não houve efeito dos níveis de vitamina E. Já Friedman et al. (1998) observaram que aves recebendo 0 e 10 mg/kg de vitamina E suplementada tiveram títulos mais altos contra DNC do que aquelas com 30 e 150 mg/kg. Por outro lado, Ribeiro et al. (2008) não encontraram efeito para anticorpos contra albumina sérica bovina quando suplementaram frangos com 100 e 300 mg/kg de vitamina E e vitamina C, respectivamente, e Zn e Se orgânicos. Tal como afirmaram Leshchinsky & Klasing (2001), possíveis efeitos da vitamina E sobre a imunidade devem estar condicionados à natureza do antígeno pelo qual as aves são desafiadas. Além disto, a metodologia de

aplicação de vacinas e as datas de coletas de sangue para análise de anticorpos podem ser determinantes para os resultados obtidos. Pode haver ainda diferenças nas respostas intrínsecas de linhagens de frangos de corte (Onbasilar & Erol, 2007) ou mesmo da idade e linhagem das matrizes de origem, bem como nas interações destes fatores entre si (Siegel et al., 2006).

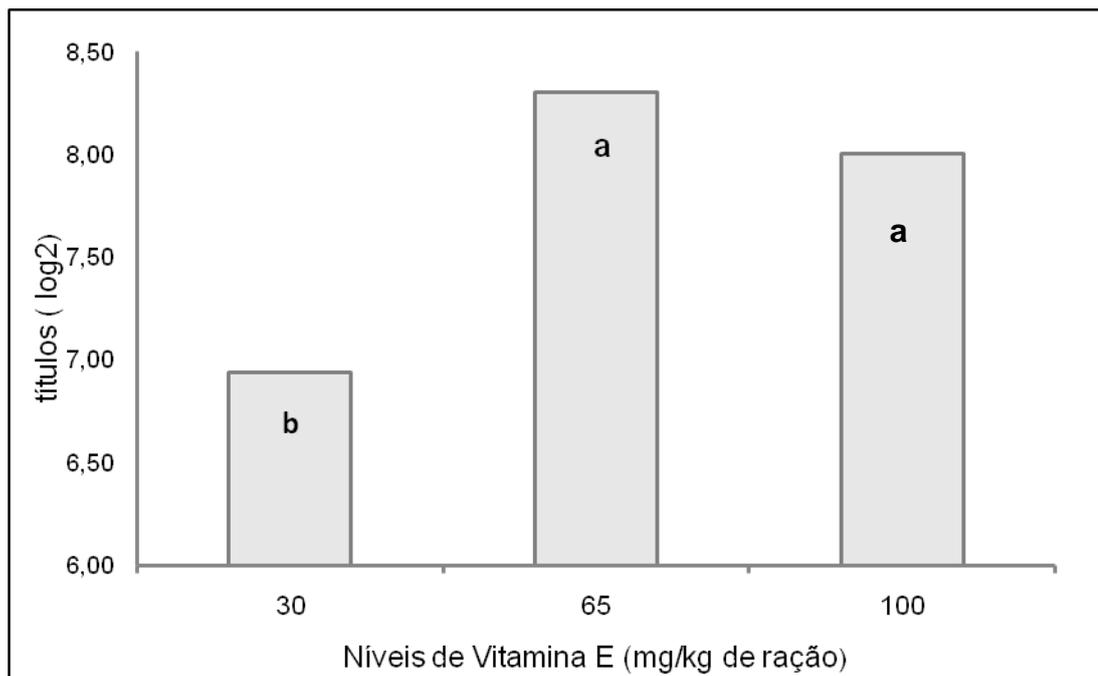


Figura 1. Médias dos títulos de anticorpos (em log2) contra doença de New Castle em relação aos níveis de suplementação de vitamina E obtidos na segunda coleta em aves vacinadas contra coccidiose.

Conclusões

Pelos resultados obtidos, observou-se que vacinação contra coccidiose afetou o desempenho das aves na idade jovem, no entanto seu efeito negativo é revertido ao longo do crescimento. A vacinação diminuiu o diâmetro e o peso das bolsas. O nível de 65 mg/kg de vitamina E mostrou ser o melhor para um bom desempenho de aves desafiadas através de vacinação contra coccidiose e pode ser eficaz na melhora da resposta imune humoral a determinados antígenos. Como, ao nível de campo, as situações de desafio imunológico são comumente encontradas, conclui-se que o uso de 65 mg/kg de vitamina E na ração é aconselhável.

Literatura citada

- ALLEN, P.C.; FETTERER, R.H. Interaction of dietary vitamin E with *Eimeria maxima* infections in chickens. **Poultry Science**, v.81, p.41-48, 2002.
- BOA-AMPONSEM, K.; PRICE, S.E.H.; PICARD, M. et al. Vitamin E and immune responses of broiler pureline chickens. **Poultry Science**, v.79, p.466-470, 2000.
- CAMPBELL, T.W. Hematology in birds. In: CAMPBELL, T.W.; ELLIS, C. **Avian and exotic animal hematology and cytology**. 3.ed. Iowa: Ames, Blacwell, 2007. p.10-34.
- CARDOSO, A.L.S.P.; ALBUQUERQUE, R.; TESSARI, E.N.C. Humoral immunological response in broilers vaccinated against New Castle Disease and supplemented with dietary zinc and vitamin E. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.2, p.99-103, 2006.
- DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D.; KITCHELL, M.L. ATWELL, C.A. et al. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, p.420-436, 1998.
- FELDMAN, B.; JAIN, N.; SCHALM, O.W.; ZINKL, J.G. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5.ed. Philadelphia: Blacwell Publishing, 2000. 1344p.
- FRIEDMAN, A.; BARTOV, I.; SKLAN, D. Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. **Poultry Science**, v.77, p.956-962, 1998.
- FORT DODGE, Programa de Monitoria da Bolsa de Fabrício. Disponível em: <http://www.fortdodge.com.br/fd/aves/manuais/aves01/folheto_bf/index.htm> Acesso em 16/09/08.
- GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v.27, p.972-979, 1983.
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Reviews**, v.16, p.33-50, 1996.
- HARMON, B.G. Avian heterophils and inflammation and disease resistance. **Poultry Science**, v.77, p.972-977, 1998.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.
- KONJUFCA, V.K.; BOTTJE, W.G.; BERSI, K.; ERF, G.F. Influence of dietary Vitamin E on fagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.1530-1534, 2004.
- LAGANÁ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; GONZÁLEZ, F.H.D. et al. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de frangos de corte em estresse por calor. **Boletim da Indústria Animal**, v.62, n.2. p.157-165, 2005.
- LESHCHINSKY, T.V.; KLASING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v.80, p.1590-1599, 2001.
- MAPA – SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA [abril 2007] Plano de contingência para influenza aviária e doença de New Castle (Instrução Normativa nº 32 13/05/2002). Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/PROGRAMAS/AREA_ANIMAL/PNSA/PLANO%20DE%20CONTINGENCIA%20VERS%C3O%201.2-%20ABRIL-2007.PDF> Acesso em 04/08/08.

- MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; PADILHA, A.P.; NASCIMENTO, V. et al. Infectious bursal disease: Evaluation of pathogenicity of commercial vaccines in Brazil in specific pathogen free chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science/ Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.6, n.4, p.243-247, 2004.
- MUSKETT, J.C.; HOPKINS, I.G.; EDWARDS, et al. Comparison of two Infectious Bursal Disease vaccine strains: Efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. **Veterinary Record**, v.104, p.332-334, 1979.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of poultry**. 9. ed. Washington: National Academy Press; 1994.
- ONBASILAR, E.E.; EROL, H. Effects of different forced molting methods on postmolt production, corticosterone level, and immune response to sheep red blood cells in laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.16, p.529-536, 2007.
- RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W. et al. 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, n.4, p.636-644, 2008.
- ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 2ed. Viçosa: UFV; Departamento de Zootecnia, 2005. 181p.
- SAKAMOTO, M.I.; MURAKAMI, A.E.; SILVEIRA, T.G.V. et al. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.4, p.243-249, 2006.
- SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; SILVA da, E.L. et al. Efeito da substituição dos antimicrobianos pelo ovo desidratado na fase pré-inicial de frangas de dois grupos genéticos alojadas em camas nova e reciclada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.2077-2084, 2006.
- SIEGEL, P.B.; BLAIR, M.; GROSS, W.B.; MELDRUM, B. et al. Poultry performance as influenced by age of dam, genetic line and dietary vitamin E. **Poultry Science**, v.85, p.939-942, 2006.
- TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 6.ed. São Paulo: Roca, 2002. 533p.
- VIEIRA, V.R.; NASCIMENTO do, V.P.; BORSOI, A.; SANTOS dos, L.R. Número mais provável (NMP) de *Salmonella sp.* em cecos de frangos de corte e correlação com a população linfocitária bursal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.1, p.49-53, 2007.
- VILLAVERDE, C.; BAUCCELLS, M.D.; MANZANILLA, E.G. et al. High levels of dietary unsaturated fat decrease α -tocopherol of whole body, liver and plasma of chickens without variations in intestinal apparent absorption. **Poultry Science**, v.87, p.497-505, 2008.

CAPÍTULO IV

Efeito dos níveis de vitamina E na imunidade celular de frangos de corte vacinados contra coccidiose

**Isabel C.M. da Silva⁸, Andréa Machado Leal Ribeiro¹, Cláudio Wageck Canal⁹,
Maitê de Moraes Vieira¹, Cátia C. Pinheiro¹, Mário F. Gianfelici¹, Thomas A.
Gonçalves¹, Mariana de Moraes¹, Juliana Grandi¹**

RESUMO: A reação de hipersensibilidade cutânea (cutaneous basophil hypersensitivity - CBH) consiste na infiltração de células inflamatórias, principalmente linfócitos e basófilos, como resultado da aplicação de substâncias capazes de provocar proliferação celular. Fitohemaglutinina-P (PHA-P) foi utilizada em um experimento com 216 pintos de corte que receberam 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na ração, de 1 a 36 dias de idade. As aves foram alojadas em uma sala sob temperatura controlada, recebendo ração e água à vontade por todo o período. Todas as aves foram desafiadas imunologicamente através de vacinação contra coccidiose aos três dias de idade e contra Doença de New Castle (DNC), aos 14 e aos 30 dias de idade. Aos 36 dias, o teste de CBH foi conduzido conforme a metodologia de Corrier & DeLoach (1990). Aves consumindo 65 mg/kg, mostraram reação celular mais duradoura ($P \leq 0,08$) indicando que este nível de vitamina E melhorou a resposta imune celular das aves.

Palavras - chave: coccidiose, Doença de New Castle, frango de corte, resposta imune celular, vacina, vitamina E

⁸ Departamento de Zootecnia da faculdade de Agronomia, UFRGS

⁹ Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária, UFRGS

ABSTRACT: The cutaneous basophil hypersensitivity test (CBH) consists on inflammatory cells infiltration mainly of lymphocytes and basophils, as result of application of substances that are capable to induce cellular proliferation. Phytohemagglutinin-P (PHA-P) was used in one experiment with 216 chicks that has received 30, 65 e 100 mg/kg of vitamin E in diet, from 1 to 36 days of age. Birds were housed in one controlled temperature room receiving food and water *ad libitum* for the whole período. All birds were immunologically challenged trough vaccination against coccidiosis at three days of age and against New Castle Disease (NCD) at 14 and 30 days of age. At 36 days the CBH test was conducted following the Corrier & DeLoach (1990) methodology. Birds consuming 65 mg/kg showed the lasting cellular reaction ($P \leq 0,08$) indicating that this vitamin E level improved the cellular immune response of birds.

Key words: broiler, coccidiosis, cellular immune response, New Castle disease, vaccine, vitamin E

Introdução

A reação de hipersensibilidade cutânea (cutaneous basophil hypersensitivity - CBH) consiste na injeção intradérmica de fitohemaglutinina-P (PHA-P) e é uma reação timo-dependente mediada por células T que pode ser avaliada no espaço interdigital, pela facilidade na injeção intradérmica em aves de até duas semanas de idade (Stadecker et al.,1977). Corrier & Deloach (1990) utilizaram esta metodologia em aves recebendo dexametazona e concluíram ser o teste CBH com PHA-P um método simples e rápido de avaliação de imunidade celular em aves. Sakamoto et al. (2006) utilizaram este método em aves com 36 dias de idade e Boa-Amponsen et al. (2000), aos 90 dias de idade. Descoberta em 1959, a propriedade mitogênica da PHA-P é estimular células T de várias espécies animais; no homem, aplica-se a testes de hipersensibilidade tardia

(Goto et al., 1978). A PHA-P é uma glicoproteína de origem não imune, presente no feijão rosa (*Phaseolus vulgaris* - SIGMA-Aldrich®). A vitamina E, um dos nutrientes mais estudados com foco no sistema imune, é o antioxidante natural das membranas celulares e melhora a atividade fagocitária de macrófagos (Konjufca et al, 2004), entre outras ações. Na literatura, há resultados controversos nos estudos com esta vitamina com respeito à resposta imune de frangos de corte, e níveis da vitamina que mostram efeito em algum parâmetro imunológico, geralmente não mostram efeito significativo para outros, incluindo resposta celular cutânea. Sakamoto et al. (2006) encontraram maior proliferação celular com o uso de 10 mg/kg de vitamina E do que com 500 mg/kg; Leshchinsky & Klasing (2001) não encontraram efeito dos níveis de vitamina E sobre CBH oferecendo 0 a 200 mg/kg, e Boa-Amponsem et al. (2000) encontraram menor reação com um nível de 300 mg/kg do que com 10 mg/kg de vitamina E na dieta de galos. Em vista disso, o objetivo do presente experimento foi estudar os efeitos de níveis de vitamina E, próximos aos recomendados numa situação de campo, e sua ação na imunidade celular de frangos de corte submetidos a desafio vacinal.

Material e Métodos

Foram utilizados 216 pintos de corte de um dia, machos, da linhagem ROSS 308. As aves foram alojadas em baterias metálicas (0,72 m²/gaiola na fase inicial e 0,84 m²/gaiola na fase de crescimento), dispostas em uma sala com temperatura controlada, recebendo as rações experimentais desde o primeiro dia e água à vontade. Luz artificial foi mantida durante todo o período de criação que se prolongou até os 36 dias de idade.

O experimento foi realizado em um delineamento completamente casualizado, com três níveis de vitamina E na ração e seis repetições com 12 aves cada, do alojamento até os 29 dias, quando este número foi diminuído para 10 aves por repetição.

As rações experimentais foram elaboradas a partir de uma ração basal calculada com base nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al, 2005), onde se adicionou, para cada tipo de ração, as doses de vitamina E testadas: 30, 65 e 100 mg/kg (Tabela 1). A vitamina E utilizada foi na forma de α -tocoferol a 50% (BASF®). As rações foram analisadas para matéria seca e proteína bruta (Laboratório de Nutrição Animal da UFRGS) e para teor de vitamina E (CBO Assessoria e Análises, Campinas), obtendo-se resultados dentro dos valores esperados. A composição das dietas encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas basais

Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento
Milho moído	53,55	59,57
Farelo de soja 45%	38,93	33,34
Fosfato Monobicálcico	1,43	1,21
Calcário Calcítico	1,35	1,38
Óleo de arroz	3,84	3,51
Sal Comum	0,41	0,43
DL Metionina	0,207	0,214
L-Lisina	0,129	0,197
Cl. Colina 60%	0,06	0,05
Premix Mineral/Vitamínico ¹	0,1	0,1
Total	100	100
Nutrientes calculados		
Proteína bruta, %	22,0	20,00
Energia Met. Aves, kcal/kg	3050	3100
Cálcio, %	0,9	0,85
Fósforo disponível, %	0,4	0,35
Sódio, %	0,2	0,21
Cloro, %	0,27	0,29

Lis dig., %	1,15	1,07
Met dig., %	0,49	0,48
Met+Cis dig., %	0,81	0,77
Treonina dig., %	0,78	0,71
Colina, mg/kg	1.420	1.300

¹Composição por kg de produto: Mn, 75.000 mg; Zn, 70.000 mg; Fe, 50.000 mg; Cobre, 8.000 mg; Iodo, 750 mg.; Vit A, 8.000 KUI; Vit D3, 2.000 KUI; Vit K3, 1.800mg; Vit B1, 1.800 mg; Vit B2, 6.000 mg; Vit B6, 2.800 mg; Vit B12, 12.000 mcg; Ácido Pantotênico, 10.000 mg; Niacina, 40.000 mg; Ácido Fólico, 1.000 mg; Biotina, 60.000 mcg; Selênio, 300 mg/kg .

As aves receberam aos três dias de idade, vacina contra coccidiose - Livacox Q[®], Merial,(10 mL/4 L de água), sendo distribuídos 110 mL em cada bebedouro infantil instalado nas gaiolas. Foi mantido um tapete de jornal sobre o piso das gaiolas por 16 dias após a aplicação da vacina, com o objetivo de favorecer a reinfestação das aves com os oocistos eliminados.

Aos 14 e 30 dias de idade, as aves foram vacinadas para Doença de New Castle (DNC) (New Vac LS[®], Fort Dodge, intra-ocular). Aos 35 dias de idade das aves, foi aplicada Fitohemaglutinina (PHA), na dose de 100 µg/ave, em três aves por repetição. A reação celular, obtida pela injeção de PHA, foi avaliada pela reação de sensibilidade cutânea (CBH), segundo a metodologia descrita por Corrier & DeLoach (1990). O produto foi adquirido junto à SIGMA Aldrich[®] (PHA-P cód. L8754 – lectin from *Phaseolus vulgaris*) e 15 mg de produto na forma de pó liofilizado foram diluídos em 15 mL de solução de PBS para obter-se ao final, 100 µg/0,1 mL por ave. A inoculação foi feita no espaço interdigital entre o 3º e o 4º dedos da pata direita de três aves por repetição, via intradérmica. No mesmo espaço interdigital da pata esquerda da mesma ave, 0,1 mL de PBS foram injetados, constituindo assim o controle. As espessuras dos espaços interdigitais foram medidas antes da injeção, seis, 12 e 24 horas após, com auxílio de um paquímetro digital (*Eletronic Digital Caliper CE*, precisão 0,01 mm).

Para cálculo da reação, como segue: (1) resposta à PHA-P = espessura pós injeção PHA-P, pata direita - espessura pré injeção PHA-P, pata direita; 2) resposta controle PBS = espessura pós injeção PBS, pata esquerda – espessura pré-injeção PBS, pata esquerda. Desta forma, a reação celular em cada momento foi obtida por : $CBH = 1 - 2$.

Os dados do experimento foram analisados pelo programa SAS (2001) através da ANOVA, depois de verificado o pressuposto de normalidade dos dados. Diante de um F significativo, realizou-se teste de médias pelo LSmeans.

Resultados e Discussão

Na Figura 1 pode-se observar que a resposta imune celular para o nível de vitamina E de 65 mg/kg proporcionou uma reação celular mais duradoura ($P \leq 0,08$), pois às 24 horas após a injeção de PHA-P, ainda havia uma maior espessura da pele no espaço interdigital das aves que receberam este nível da vitamina.

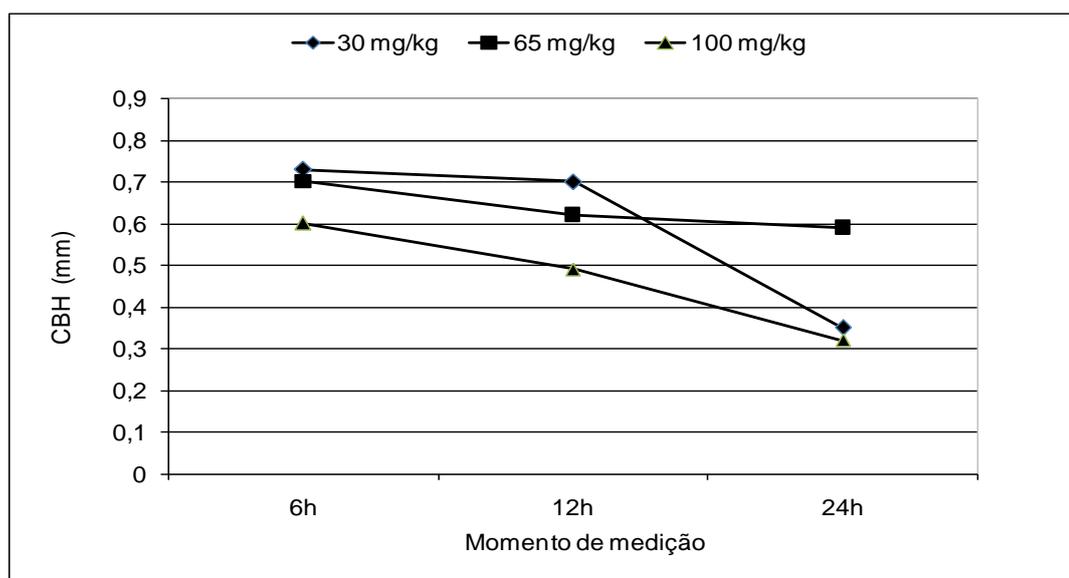


Figura 1. Espessuras dos espaços interdigitais após a aplicação de PHA-P em relação ao momento “zero” para aves vacinadas contra coccidiose consumindo 30, 65 e 100 mg/kg de vitamina E na dieta

A resposta medida, também chamada de resposta celular é especializada em eliminar antígenos intracelulares necessitando da liberação de citocinas pelos linfócitos T “helper” Th1 (Erf, 2004), que em associação com a imunidade humoral e imunidade inata, completa os subsistemas do sistema imune. Ao contrário, porém do sistema inato que é inespecífico e produz uma série de consequências negativas ao indivíduo, como febre e anorexia (Humphrey & Klasing, 2004), a resposta mediada por células é capaz de reconhecer um grande número de antígenos intracelulares através dos receptores dos linfócitos T, eliminá-los e também secretar citocinas e expressar moléculas de superfície celular que irão emitir sinais de ativação para outras células tanto do sistema inato quanto do adaptativo (Erf, 2004). Na maioria das vezes não causa queda de desempenho como observado por Konjufca et al. (2004) e Sakamoto et al. (2006). Contrariando esta idéia, Koustos et al. (2007) em vista da variabilidade de resultados em um teste CBH, sugerem que os aumentos de espessura no local de aplicação da PHA-P podem revelar processos de reação imune inata, e não apenas de reação celular. Estes autores realizaram biópsias e identificação celular das lesões provocadas por PHA-P e observaram que o aumento de espessura da pele no local de aplicação pode ser devido mais a um maior fluxo de macrófagos e heterófilos do que de basófilos e linfócitos, indicando melhor uma reação imune inata ou interações entre diversos tipos de leucócitos do que apenas de uma reação celular. Corrier & DeLoach, (1990) também relataram ao exame histopatológico das lesões a presença de infiltração difusa tanto de neutrófilos e basófilos, como de linfócitos e monócitos, e a máxima reação celular 12 horas pós-injeção de PHA-P. Esta reação se manteve constante ou com leve declínio até as 24 horas pós-injeção. Koustos et al. (2007) estudaram a influência de carotenóides, mais especificamente luteína na imunidade de aves, e encontraram reação celular local até 48 h pós injeção de PHA-P. Para estes autores, a luteína pode interferir em reações

locais à PHA-P por ativar a multiplicação de linfócitos e pela diminuição da produção de radicais livres. No presente experimento não foi realizada avaliação dos tipos de células envolvidos nas lesões provocadas pela aplicação de PHA-P, mas como a vitamina E age como antioxidante à semelhança da luteína, o nível de 65 mg/kg de vitamina E pode ter contribuído para as reações celulares mais duradoras.

Sakamoto et al. (2006), utilizando níveis de vitamina E associada ou não à glutamina na dieta de frangos, observaram maior proliferação celular às 12 horas pós-injeção nas aves consumindo 10 mg/kg do que naquelas consumindo 500 mg/kg. Por outro lado, Leshchinsky & Klasing (2001), utilizando de 0 a 200 mg/kg de vitamina E na dieta de frangos, não encontraram efeito sobre CBH, e Boa-Amponsem et al. (2000) encontraram menor CBH com o nível de 300 mg/kg do que com 10 mg/kg de vitamina E na dieta de galos. Estes autores enfatizaram ainda que este método de medição pode induzir respostas muito variadas em função da difícil aplicação da dose efetiva de PHA-P, explicando os altos coeficientes de variação encontrados para esta resposta.

Conclusões

Os resultados obtidos para com o grupo consumindo o nível de 65 mg/kg de vitamina E mostraram ser este nível eficaz na melhora da resposta imune avaliada através de CBH em aves desafiadas através de vacinação contra coccidiose.

Literatura citada

- BOA-AMPONSEM, K.; PRICE, S.E.H.; PICARD, M. et al. Vitamin E and immune responses of broiler pureline chickens. **Poultry Science**, v.79, p.466-470, 2000.
- ERF, G.F. Cell-mediated immunity in poultry. **Poultry Science**, v.83, p.590-580, 2004.
- CORRIER, D.E.; DeLOACH, J.R. Evaluation of cell mediated cutaneous basophil hipersensitibility in young chickens by an interdigital skin test. **Poultry Science**, v.69, p.403-408, 1990.
- GOTO, N.; KODAMA, H.; OKADA, K. et al. Supression of phytohemagglutinin skin response in tymectomized chickens. **Poultry Science**, v.57, p.246-250, 1978.
- HUMPHREY, B.D.; KLASING, K.C. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.90-100, 2004.
- KONJUFCA, V.K.; BOTTJE, W.G.; BERSI, K.; ERF, G.F. Influence of dietary Vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.1530-1534, 2004.
- KOUTSOS, E.A; LÒPEZ, J. G. C and KLASING, K.C. Maternal and dietary carotenoids interactively affect cutaneous basophil responses in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Phisiology**, Part B, v.147, p.87-92, 2007.
- LESHCHINSKY, T.V.; KLASING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v.80, p.1590-1599, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington: National Academy Press, 1994.
- ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 2ed. Viçosa: UFV; Departamento de Zootecnia, 2005. 181p.
- SAKAMOTO, M.I.; MURAKAMI, A.E.; SILVEIRA, T.G.V. et al. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.4, p.243-249, 2006.
- STADECKER, M.J.; LUKIC, M.; DVORAK, A. et al. The cutaneous basophil response to phytohemagglutinin in chickens. **Journal of Immunology**, v.118, p.1564-1568, 1977.

CAPÍTULO V

5. Capítulo V

5.1. Conclusões/ Considerações Finais

No estágio atual da avicultura brasileira, o equilíbrio entre o bom desempenho e resistência das aves a doenças é constantemente posto à prova. Uma vez que as exigências do mercado internacional restringem a adição de quimioterápicos às rações, estratégias nutricionais praticáveis e de custo razoável podem ser uma ferramenta eficiente na criação de lotes saudáveis e produtivos, e é neste cenário que a pesquisa que une as áreas de nutrição e imunologia tem mostrado sua aplicabilidade. Conhecemos os efeitos fisiológicos da resposta imune sobre os animais, sabemos que tais fenômenos não podem ser evitados, porém se faz necessário minimizá-los, para um menor prejuízo à produção. Conhecemos também a ação dos nutrientes no organismo saudável, então o foco da pesquisa integrando as duas áreas é encontrar os níveis necessários para atender ao sistema imune em particular frente aos desafios por patógenos comuns à avicultura. Porém, as respostas imunes são variáveis, sejam inerentes ao tipo de antígeno desafiador, sejam devidas à linhagem, idade e ao tipo de produção a que os animais se destinam. Tais variações é que constituem o verdadeiro desafio à esta linha de pesquisa.

Alguns resultados de trabalhos com vitamina E que é um dos nutrientes aqui estudados, disponíveis na literatura mostram resultados de comparações entre dietas deficientes no nutriente em estudo e níveis extremamente altos e distantes da prática. Porém cabe questionar se um nível 5 ou 10 vezes maior do que o usual mostrar a melhora de algum dos

parâmetros estudados, qual seria seu efeito sobre os demais parâmetros, e se esta suplementação é factível inclusive do ponto de vista econômico. Estudar níveis mais próximos das tabelas usuais parece mais lógico, mas conforme o modelo experimental adotado, algumas respostas podem não ser claras. Em qualquer uma destas situações, um desenho experimental com desafios imunológicos potentes, que mostrem seu efeito frente aos níveis de inclusão é dificultado pela variabilidade de resposta dos animais a tais antígenos.

Para o selênio, sobre o qual nesta tese foi estudado também o efeito das fontes, os níveis mais altos do que são usados na prática têm aplicabilidade limitada devido aos valores máximos permitidos atualmente, e os resultados tem sido mais promissores para outras respostas que não a imunidade das aves, como produção de ovos, empenamento, atividade enzimática e qualidade de carne. Além disso, os efeitos das fontes orgânicas ainda necessitam de mais estudos, quanto a seu modo de ação.

Nas pesquisas com animais de produção, têm sido aplicadas metodologias para o estudo das respostas imunes já bem difundidas na espécie humana e em animais de laboratório. Cabe lembrar que uma avaliação de desempenho oferece preciosas informações a este tipo de estudo na medida em que mostra o quanto o desafio aplicado interfere na produção. Análises sorológicas, histopatologia, hemograma e perfil de células sanguíneas, provas bioquímicas sanguíneas, como atividade enzimática ou presença de metabólitos e testes de resposta imune celular têm sido bem utilizadas, porém também apresentam variabilidades intrínsecas. No caso de análises sorológicas, por exemplo, existe variabilidade individual dos animais,

e o momento das coletas após o desafio antigênico é determinante na qualidade das respostas, assim como a correta manipulação das amostras até que cheguem ao laboratório. Por fim, quando tecidos e órgãos são coletados, mensurados e armazenados para posterior processamento, a habilidade nestas tarefas sem dúvida irá interferir no resultado final. Em nosso trabalho percebemos a dificuldade em inocular tuberculina aviária nas barbelas e posteriormente coletar as mesmas, devido ao pequeno tamanho e localização deste tecido nas aves fêmeas. A aplicação de fitohemaglutinina no espaço interdigital teve menor grau de dificuldade, mas os aumentos de espessura no local mostraram variações, como já foi observado por outros autores, em grande parte devido à dificuldade injetar-se a substância de forma uniforme em todas as aves. Não podemos deixar de pensar também que a manipulação constante das aves para cumprir as tarefas propostas no protocolo experimental pode interferir nos resultados, e esta é uma questão difícil de equacionar.

Quanto aos antígenos, dentre os que comumente encontramos na avicultura, reproduzir as doenças fornecendo um agente causador às aves, a não ser em condições de perfeito isolamento, implica na disseminação deste agente no ambiente, e pode causar perda do lote experimental. Utilizar-se então as vacinas comerciais contra os mesmos patógenos é uma outra possibilidade. Por outro lado, através de vacinas os agentes podem se comportar de forma diferente do que na infecção natural a campo. Ainda o efeito protetor do nutriente pode ser uma ferramenta auxiliar em programas de vacinação, como foi o observado para o nível de 65 mg/kg de vitamina E nas

aves vacinadas contra coccidiose.

Pelo exposto, parece que o futuro da pesquisa em nutrição relacionada à imunidade está na escolha de metodologias de estudo das respostas imunológicas a diferentes antígenos, utilizando ferramentas de medida cada vez mais precisas para a obtenção de respostas aos parâmetros estudados.

A partir dos experimentos aqui relatados concluiu-se que fontes de selênio e níveis de vitamina E podem modular a resposta imune de aves, abrindo possibilidades práticas para o uso de ambos. Com já comentado, o nível 65 mg/kg mostrou ser eficaz na melhora da resposta imune celular, proporcionar bom desempenho e melhorar a resposta imune humoral em aves desafiadas através da vacinação, podendo ser recomendado na prática. Está claro que, sendo a vitamina E uma das vitaminas de maior custo em formulações, as alterações de inclusão às dietas, ainda que temporárias, requerem monitoramento a campo, de forma que possíveis benefícios possam validar o uso deste nível.

Foi importante também observar que o uso de fonte orgânica de selênio estimulou consumo de ração nas aves criadas em ambiente quente, podendo ser esta uma opção para os meses quentes na avicultura brasileira. A fonte orgânica de selênio mostrou também ser capaz de conferir proteção ao tecido linfóide das bolsas cloacais das aves, porém não se mostrou eficaz na melhoria da produção de anticorpos para os antígenos testados. Por fim, quanto aos níveis de selênio, não foram observadas em nosso estudo

vantagens em aumentar os usuais 0,3 mg/kg de ração para 0,5 mg/kg, fosse na fonte inorgânica ou utilizando as duas fontes no mesmo tratamento. Há pesquisas utilizando suplementações com níveis maiores do 0,3 mg/kg de selênio, e nesta linha a inclusão das fontes orgânicas em níveis mais altos deve ser mais estudada, com menores riscos de toxicidade do que ocorre com a fonte inorgânica.

Por fim, a busca de metodologias de estudo integrando nutrição e imunologia constituem um desafio por si só à pesquisa, uma vez que o objetivo final é aplicar os resultados obtidos a campo. Protocolos experimentais em galpões, ao invés de em baterias devem ser conduzidos, tendo-se em mente um controle de variáveis possíveis nesta condição, e para avaliação mais precisas de respostas, deve-se lançar mão das recentes descobertas da pesquisa básica que permitam identificar tipos celulares, antígenos, anticorpos e demais variáveis imunológicas envolvidas nas respostas. Existem também análises de atividade de tipos celulares específicos e detecção metabólitos representativos de uma resposta imune em curso nos animais estudados, como atividade de macrófagos e de óxido nítrico. Algumas destas técnicas modernas ainda não estão disponíveis para grande número de amostras, porém em vista disso, podem ser incluídas como ensaio paralelo a um modelo experimental mais complexo.

6. Capítulo VI

6.1. Referências Bibliográficas

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Cellular and molecular Immunology, 4. ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 2003, 533p.

ALLEN, P.C.; FETTERER, R.H. Interaction of dietary vitamin E with *Eimeria maxima* infections in chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.81, p.41-48. 2002.

ARTHUR, J.R.; MCKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.133, p.1457S-1459S, 2003.

BACK, A. Doença de New Castle. **In: Manual de Doenças das Aves**. Cascavel: Coluna do Saber. 2004. p. 96-100.

BACK, A. Doença Infecciosa da Bolsa. **In: Manual de Doenças das Aves**. Cascavel: Coluna do Saber, 2004. p. 100-102.

BARTLETT, J.R.; SMITH, M.O. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.1580-1588, 2003.

BOA-AMPONSEM, K.; PRICE, S.E.H.; PICARD, M. et al. Vitamin E and immune responses of broiler pureline chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p.466-470, 2000.

BOLIS, D.A.; PAGANINI, F.J.; SIMON, V.A.; ZUANAZE, et. al. Gumboro disease: evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, v.5, n.2, p.137-146, 2003.

BRASIL - Instrução Normativa nº 7 de 10 de março de 2006. Aprova o Regulamento Técnico para a Produção, o Controle e o uso de Vacinas e Diluentes para uso na Avicultura. **DIÁRIO OFICIAL** [da república federativa do Brasil]. Brasília, nº 54, página 4, 20/03/2006, seção 1, pt.1.

CARDOSO, A.L.S.P.; ALBUQUERQUE, R.; TESSARI, E.N.C. Humoral immunological response in broilers vaccinated against New Castle Disease and supplemented with dietary zinc and vitamin E. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, n.2, p.99-103, 2006.

CAMPBELL, T.W. Hematology in birds. **In: CAMPBELL, T.W ; ELLIS, C. Avian and exotic animal hematology and cytology**. Ames: Blackwell, 2007. p.10-34.

CHEW, Boon P. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in

- animals **Animal Feed Science Technology**, Clare, IR, v 59 p. 103-114, 1996.
- COLNAGO, G. L.; JENSEN, L. S; LONG, P. L. Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.63, p.1136–1143, 1984.
- DAHLKE, F.; GONZALES, E.; FURLAN. R.L.; GADELHA, A.C.; MAIORKA, A.; ALMEIDA, J.G. Avaliação de diferentes fontes e níveis de selênio para frangos de corte em diferentes temperaturas. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.10, n.1, p.21-26, 2005.
- DONKER, R.A.; NEUWLAND, M.G.B.; ZIJPP. Heat stress influences on antibody production in chicken lines selected for high and low immune responsiveness. **Poultry Science**, Champaign, v.69, p.590-607, 1990.
- EDENS, F.W. Involvement of in physiological stability and performance of broiler chickens. Science and Technology in the feed industry. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 17., 2001. Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology, 2001(CD ROM).
- EDENS, F.W. and GOWDY, K.Y.M. Selenium sources and selenoproteins in practical poultry production. Nutritional Biotechnology in the feed and food industries. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 20., 2004. Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology, 2004 (CD ROM).
- ERF, G. F. Cell-mediated immunity in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.580– 590, 2004.
- FINCH, J. M; TURNER, R. J. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. **Research in Veterinary Science**, Oxford, UK, v.60, p.97-106, 1996.
- FRIEDMAN, A.; BARTOV, I.; SKLAN, D. Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.956-962, 1998.
- GLICK, B. Immunophysiology, In: STURKIE, P.D. **Avian Physiology**. 4.ed, Tennessee: Kingsport Press, 1986. p.87- 101.
- GLICK, B. Embriogenesis of the Bursa of Fabricius: Stem cell, microenvironment and receptor-paracrine pathways. **Poultry Science**, Champaign, v.74, p. 419–426, 1995.
- HALE, L.L; PHARR, G.T.; BURGESS, S.C. et al. isoleucine needs of thirty- to forty-day-old female chickens immunity. **Poultry Science**, Champaign, v.83:1979–1985, 2004.
- HARMON, B.G. Avian heterophils and inflammation and disease resistance. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.972-977, 1998.
- HAWKES, W.C.; WILHELMSEM, E.C.; TAPPEL, A.L. Abundance and tissue

distribution of selenocysteine-containing proteins in the rat. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Oxford, UK, v.23, p.77-92, 1985.

HUMPPHREY, B.D.; KLASING, K.C. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, UK, v.60, p.90-100, 2004.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: MACARI, M.; BERCHIERI Jr., A. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.391-401.

KIDD, M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.650-657, 2004.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of Resistance to Infectious Diseases. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.1119-1125, 1998.

KONJUFCA, V.K.; BOTTJE, W.G.; BERSI, K.; ERF, G.F. Influence of dietary Vitamin E on fagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.1530-1534, 2004.

LAGANÁ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; GONZÁLEZ, F.H.D. et al. Níveis dietéticos de proteína e gordura e parâmetros bioquímicos, hematológicos e empenamento em frangos de corte estressados pelo calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, n.6, p.1783-1790, 2007.

LESHCHINSKY, T.V.; KLASING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.80, p.590-599, 2001.

LILLEHOJ, H.S.; MIN, W.; DALLAOU, R.A. Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to *Eimeria*. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.611-623, 2004.

LIN, H.; JIAO, H.C.; BUYSE, J. et al. Strategies for preventing heat stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, UK, v.62, p.71-85, 2006.

MASHALY, M.M.; HENDRICHS, III; KALAMA, M.A. et al. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.889-894, 2004.

McKENZIE, R.C.; RAFFERTY, T.S. and BECKETT, G.J. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology Today**, St. Louis, v.19, p.342-345, 1998.

MINKA, N.S.; AYO, J.O. Haematology and behaviour of pullets transported by road and administered with ascorbic acid during the hot-dry season. **Research in Veterinary Science**, Oxford, UK, v.85, p.389-393, 2008.

MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; PADILHA, A.P. ; NASCIMENTO, V. et. al.

Infectious bursal disease: Evaluation of pathogenicity of commercial vaccines in Brazil in specific pathogen free chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science/ Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.6, n.4, p.243-247, 2004.

MONTASSIER, H.J. Enfermidades do Sistema Imune. In: MACARI, M.; BERCHIERI Jr., A. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.133-150.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of poultry**. 9th ed. Washington: National Academy Press; 1994.

PAULILLO, A.C.; DORETTO Jr, L. Doença de New Castle. In: MACARI, M.; BERCHIERI Jr., A. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.267-277.

REGINER, J.A; KELLEY, K.W.; GASKINS, C.T. Acute thermal stressors and synthesis of antibodies in chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.59, p.985-990, 1980.

RIBEIRO, A.M.L.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W. et al. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.37(4), p.636-644, 2008.

ROITT, I.M. and DELVES, P.J. Imunidade Inata. In: **Fundamentos de Imunologia**, 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.1-21.

ROITT, I.M. and DELVES, P.J. Imunidade Adquirida. In: **Fundamentos de Imunologia** 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.22-36.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 2ed. Viçosa: UFV; Departamento de Zootecnia, 2005. 181p.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; RECH, J.L. et al. Following response to Sel-Plex and other organic minerals through the broiler breeder maze: case studies in Brazil. Nutritional Biotechnology Feed and Food Industries. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 21., 2005. Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology, 2005 (CD ROM).

SAHIN, K.; KUCUK, O. Effects of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress (34°C). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.85, p.342-348, 2001.

SAHIN, N; ONDERCI, M.; SAHIN, K. et al. Supplementation with organic or inorganic selenium in heat-distressed quail. **Biological Trace Element Research**, Totowa, NJ, v.122, p.229-237, 2008.

SAKAMOTO, M.I.; MURAKAMI, A.E.; SILVEIRA, T.G.V. et al. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, n4,

p.243-249, 2006.

SCHERF, H NACHLIN, L.J., FRYES, T.M.; KRAUTMANN, B.A. et al. Vitamin E biopotency: Comparison of various natural-derived and chemically synthesized α -tocopherols. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v.59, p.115-126, 1996.

SCOTT, T.R. Our current understanding of humoral immunity of poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p. 1559-1564, 2004.

SURAI, P.F. Organic Selenium: benefits to animal and humans, a biochemist's view. Biotechnology in the feed industry. **In ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM**, 16., 2000. Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech Biotechnology, 2000 (CD ROM).

TEETER, R.G.; SMITH, M.O.; OWENS, F.N.; et al. Chronic heat stress and respiratory alkalosis in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.64, p.1060-1064, 1985.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 6.ed. São Paulo: Roca, 2002. 533p.

WILLIAMS, R. B. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. **Avian Pathology**, Compton, UK, v.31, p.317– 353, 2002.

ZINGG, Jean-Marc. Vitamin E: An overview of major research directions. **Molecular Aspects of Medicine**, Boston, v.28, p.400–422, 2007.

APÊNDICES

Apêndice nº 1- Pesos médios (PM), consumo de ração (CR) e ganhos de peso de 1 a 21, 22 a 42 e 1 a 42 dias (d) do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

TRATAMENTOS	REPET	PM 21dias	1 a 21 d			22 a 42 d			1 a 42 d			
			CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA	
0,3 SI	1	907,50	1187,00	862,00	1,38	2163,33	2654,58	1255,83	2,11	3841,58	2117,83	1,81
0,3 SI	2	889,09	1243,88	843,79	1,47	2245,45	2835,36	1356,36	2,09	4079,24	2200,15	1,85
0,3 SI	3	837,50	1141,67	792,75	1,44	2244,17	2709,50	1406,67	1,93	3851,17	2199,42	1,75
0,3 SI	4	865,83	1154,08	821,67	1,40	2108,33	2580,50	1242,50	2,08	3734,58	2064,17	1,81
0,3 SI	5	908,33	1166,67	863,83	1,35	2099,17	2652,50	1190,83	2,23	3819,17	2054,67	1,86
0,3 SI	6	873,64	1204,48	828,64	1,45	2124,55	2599,55	1250,91	2,08	3804,03	2079,55	1,83
0,3 SI	7	896,67	1184,83	850,25	1,39	2190,00	2591,92	1293,33	2,00	3776,75	2143,58	1,76
0,3 SI	8	898,33	1181,08	852,92	1,38	2089,09	2594,67	1190,76	2,18	3775,76	2043,67	1,85
0,3 SI	9	895,83	1176,08	850,75	1,38	2190,00	2578,42	1294,17	1,99	3754,50	2144,92	1,75
0,3 SI + 0,2 SO	1	873,64	1203,61	829,30	1,45	2162,73	2630,36	1289,09	2,04	3833,98	2118,39	1,81
0,3 SI + 0,2 SO	2	868,33	1140,58	823,50	1,39	2143,33	2544,83	1275,00	2,00	3685,42	2098,50	1,76
0,3 SI + 0,2 SO	3	888,33	1160,75	843,23	1,38	2238,33	2697,08	1350,00	2,00	3857,83	2193,23	1,76
0,3 SI + 0,2 SO	4	848,33	1096,17	803,67	1,36	2092,73	2602,11	1244,39	2,09	3698,27	2048,06	1,81
0,3 SI + 0,2 SO	5	940,83	1219,00	894,50	1,36	2238,18	2819,63	1297,35	2,17	4038,63	2191,85	1,84
0,3 SI + 0,2 SO	6	909,17	1193,67	864,83	1,38	2170,00	2679,00	1260,83	2,12	3872,67	2125,67	1,82
0,3 SI + 0,2 SO	7	889,17	1153,42	843,50	1,37	2150,91	2582,95	1261,74	2,05	3736,36	2105,24	1,77
0,3 SI + 0,2 SO	8	877,50	1171,75	832,58	1,41	2060,00	2492,42	1182,50	2,11	3664,17	2015,08	1,82
0,3 SI + 0,2 SO	9	921,67	1212,25	876,25	1,38	2215,83	2712,83	1294,17	2,10	3925,08	2170,42	1,81
0,5 SI	1	892,50	1172,75	847,33	1,38	2059,17	2551,00	1166,67	2,19	3723,75	2014,00	1,85
0,5 SI	2	950,00	1236,67	904,33	1,37	2216,36	2554,85	1266,36	2,02	3791,52	2170,70	1,75
0,5 SI	3	921,67	1205,25	876,83	1,37	2293,33	2815,67	1371,67	2,05	4020,92	2248,50	1,79
0,5 SI	4	850,00	1130,83	805,67	1,40	2186,67	2708,00	1336,67	2,03	3838,83	2142,33	1,79
0,5 SI	5	895,00	1188,67	849,42	1,40	2153,33	2538,25	1258,33	2,02	3726,92	2107,75	1,77
0,5 SI	6	865,00	1170,17	820,83	1,43	2209,17	2696,42	1344,17	2,01	3866,58	2165,00	1,79
0,5 SI	7	870,83	1133,92	825,42	1,37	2124,00	2595,45	1253,17	2,07	3729,37	2078,58	1,79
0,5 SI	8	868,33	1121,83	823,75	1,36	2112,73	2602,39	1244,39	2,09	3724,23	2068,14	1,80
0,5 SI	9	890,00	1181,83	847,00	1,40	2060,00	2627,83	1170,00	2,25	3809,67	2017,00	1,89
0,3 SO	1	905,00	1191,83	859,00	1,39	2249,17	2592,25	1344,17	1,93	3784,08	2203,17	1,72
0,3 SO	2	891,67	1161,08	846,42	1,37	2119,17	2589,58	1227,50	2,11	3750,67	2073,92	1,81
0,3 SO	3	871,67	1169,83	826,50	1,42	2083,64	2562,45	1211,97	2,11	3732,28	2038,47	1,83
0,3 SO	4	899,09	1213,71	855,09	1,42	2274,00	2752,14	1374,91	2,00	3965,85	2230,00	1,78
0,3 SO	5	927,27	1246,54	882,52	1,41	2178,00	2922,82	1250,73	2,34	4169,36	2133,25	1,95
0,3 SO	6	919,17	1201,67	874,00	1,37	2146,67	2679,83	1227,50	2,18	3881,50	2101,50	1,85
0,3 SO	7	891,67	1174,42	846,25	1,39	2252,50	2713,50	1360,83	1,99	3887,92	2207,08	1,76
0,3 SO	8	935,00	1198,00	890,25	1,35	2230,00	2710,25	1295,00	2,09	3908,25	2185,25	1,79
0,3 SO	9	902,73	1252,73	857,06	1,46	2222,73	2824,91	1320,00	2,14	4077,64	2177,06	1,87

Tratamentos: em mg/kg de selênio inorgânico (SI) ou selênio orgânico (SO)

Repet: repetição

Apêndice nº 2- Análise da variância e de contrastes de médias para consumo de ração (CR), ganhos de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 21 dias do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 36

Dependent Variable: CR1A21D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	5140.64366	1713.54789	1.40	0.2606
Error	32	39150.77764	1223.46180		
Corrected Total	35	44291.42130			

R-Square 0.116064
 Coeff Var 2.959870
 Root MSE 34.97802
 CR1A21D Mean 1181.742

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	5140.643656	1713.547885	1.40	0.2606

TRAT	CR1A21D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	1182.19667	11.65934	<.0001	1
2	1172.35556	11.65934	<.0001	2
3	1171.32444	11.65934	<.0001	3
4	1201.09000	11.65934	<.0001	4

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	3551.531202	3551.531202	2.90	0

Dependent Variable: GP1A21D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	1855.11554	618.37185	0.93	0.4362
Error	32	21211.36229	662.85507		

Corrected Total	35	23066.47783				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	GP1A21D Mean		
	0.080425	3.037312	25.74597	847.6564		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
TRAT	3	1855.115542	618.371847	0.93	0.4362	
	GP1A21D	Standard		LSMEAN		
TRAT	LSMEAN	Error	Pr > t	Number		
	1	840.733333	8.581991	<.0001	1	
	2	845.706667	8.581991	<.0001	2	
	3	844.508889	8.581991	<.0001	3	
	4	859.676667	8.581991	<.0001	4	
Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
inorg x organico	1	1745.351852	1745.351852	2.63	0.1145	

Dependent Variable: CA1A21D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	3	0.00207778	0.00069259	0.69	0.5630	
Error	32	0.03197778	0.00099931			
Corrected Total	35	0.03405556				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA1A21D Mean		
	0.061011	2.267885	0.031612	1.393889		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
TRAT	3	0.00207778	0.00069259	0.69	0.5630	
	TRAT	CA1A21D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number	
	1	1.40444444	0.01053726	<.0001	1	
	2	1.38666667	0.01053726	<.0001	2	
	3	1.38666667	0.01053726	<.0001	3	
	4	1.39777778	0.01053726	<.0001	4	

The GLM Procedure

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
inorg x organico	1	0.00002963	0.00002963	0.03	0.8644	

Apêndice nº3 - Análise da variância e de contrastes de médias para consumo de ração (CR) e ganhos de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de 1 a 42 dias do

experimento "Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico"

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4
Number of observations		36

Dependent Variable: CR1A42D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	59855.3048	19951.7683	1.39	0.2643
Error	32	460083.3033	14377.6032		
Corrected Total	35	519938.6080			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR1A42D Mean
0.115120	3.124863	119.9066	3837.181

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	59855.30476	19951.76825	1.39	0.2643

TRAT	CR1A42D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	3826.30889	39.96888	<.0001	1
2	3812.49000	39.96888	<.0001	2
3	3803.53222	39.96888	<.0001	3
4	3906.39444	39.96888	<.0001	4

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	50204.83409	50204.83409	3.49	.0708

Dependent Variable: GP1A42D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	8053.4136	2684.4712	0.61	0.6150
Error	32	141404.5382	4418.8918		
Corrected Total	35	149457.9519			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	GP1A42D Mean
0.053884	3.129201	66.47475	2124.336

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	-------------	-------------	---------	--------

TRAT	3	8053.413633	2684.471211	0.61	0.6150
------	---	-------------	-------------	------	--------

TRAT	GP1A42D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	2116.44000	22.15825	<.0001	1
2	2118.49333	22.15825	<.0001	2
3	2112.44444	22.15825	<.0001	3
4	2149.96667	22.15825	<.0001	4

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	7571.916919	7571.916919	1.71	0.1999

Dependent Variable: CA1A42D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00169722	0.00056574	0.25	0.8633
Error	32	0.07346667	0.00229583		
Corrected Total	35	0.07516389			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA1A42D Mean
0.022580	2.651706	0.047915	1.806944

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.00169722	0.00056574	0.25	0.8633

TRAT	CA1A42D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	1.80777778	0.01597162	<.0001	1
2	1.80000000	0.01597162	<.0001	2
3	1.80222222	0.01597162	<.0001	3
4	1.81777778	0.01597162	<.0001	4

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.00097963	0.00097963	0.43	0.5183

Apêndice nº4 - Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas (g) e diâmetro das bolsas (mm) das aves aos 42 dias de idade no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Tratamentos	Repet	Ave	Pbolsa	PRbolsa	Pbaço	PRbaço	Bolsa, mm
0,3 SI	1	1	1,10	0,053	2,00	0,097	12,7
0,3 SI	1	2	0,50	0,026	1,80	0,094	9,52
0,3 SI	1	3	1,00	0,047	2,10	0,099	12,7
0,3 SI	2	1	1,00	0,047	2,70	0,126	12,7
0,3 SI	2	2	0,90	0,047	2,10	0,109	12,7
0,3 SI	2	3	1,00	0,048	2,70	0,130	12,7
0,3 SI	3	1	0,70	0,032	2,10	0,096	12,7
0,3 SI	3	2	1,50	-	2,60	-	-
0,3 SI	3	3	1,50	0,060	2,20	0,089	15,87
0,3 SI	4	1	1,00	0,049	2,10	0,103	12,7
0,3 SI	4	2	1,00	0,047	2,00	0,095	12,7
0,3 SI	4	3	0,50	0,023	1,70	0,077	9,52
0,3 SI	5	1	0,80	0,039	2,90	0,143	12,7
0,3 SI	5	2	0,70	0,032	2,40	0,111	9,52
0,3 SI	5	3	0,90	0,037	1,40	0,057	12,7
0,3 SI	6	1	0,40	0,020	1,90	0,095	9,52
0,3 SI	6	2	0,80	0,040	1,60	0,081	12,7
0,3 SI	6	3	1,30	0,062	2,30	0,109	15,87
0,3 SI	7	1	0,90	0,042	2,10	0,099	15,87
0,3 SI	7	2	0,70	0,032	1,80	0,083	12,7
0,3 SI	7	3	2,00	0,090	2,00	0,090	15,87
0,3 SI	8	1	1,00	0,049	1,80	0,089	12,7
0,3 SI	8	2	1,00	0,052	2,10	0,109	12,7
0,3 SI	8	3	0,80	0,041	1,50	0,077	12,7
0,3 SI	9	1	0,80	0,028	2,50	0,088	9,52
0,3 SI	9	2	0,60	0,028	0,00	0,000	12,7
0,3 SI	9	3	2,00	0,104	2,50	0,130	15,87
0,3 SI + 0,2 SO	1	1	0,60	0,029	1,60	0,079	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	1	2	1,20	0,064	2,70	0,144	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	1	3	0,90	0,041	2,00	0,092	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	2	1	0,70	0,036	2,60	0,135	9,52
0,3 SI + 0,2 SO	2	2	0,90	0,040	2,50	0,110	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	2	3	0,60	0,033	3,20	0,173	9,52
0,3 SI + 0,2 SO	3	1	1,10	0,052	1,80	0,085	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	3	2	1,30	0,059	1,20	0,055	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	3	3	0,70	0,032	2,00	0,090	9,52
0,3 SI + 0,2 SO	4	1	1,30	0,062	2,50	0,118	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	4	2	0,80	0,037	1,90	0,089	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	4	3	1,00	0,047	1,40	0,066	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	5	1	0,80	0,037	1,60	0,074	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	5	2	0,60	0,027	1,50	0,067	9,52
0,3 SI + 0,2 SO	5	3	1,10	0,049	1,50	0,066	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	6	1	0,80	0,037	3,70	0,172	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	6	2	0,80	0,037	3,70	0,171	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	6	3	1,10	0,055	2,40	0,120	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	7	1	1,40	0,070	3,40	0,170	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	7	2	0,60	0,025	2,10	0,086	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	7	3	0,80	0,040	2,10	0,105	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	8	1	0,70	0,035	2,10	0,106	9,52
0,3 SI + 0,2 SO	8	2	0,70	0,036	2,80	0,143	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	8	3	1,10	0,049	2,20	0,098	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	9	1	0,70	0,036	1,20	0,062	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	9	2	1,00	0,046	2,10	0,096	12,7
0,3 SI + 0,2 SO	9	3	1,60	0,077	3,00	0,145	12,7

Apêndice nº4 - Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas (g) e diâmetro das bolsas (mm) das aves aos 42 dias de idade no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico” (continuação...)

Tratamentos	Repet	Ave	Pbolsa	PRbolsa	Pbaço	PRbaço	Bolsa, mm
0,5 SI	1	1	0,60	0,034	1,10	0,061	9,52
0,5 SI	1	2	0,40	0,021	2,90	0,151	9,52
0,5 SI	1	3	0,50	0,023	2,20	0,102	9,52
0,5 SI	2	1	0,70	0,034	2,50	0,120	12,7
0,5 SI	2	2	1,00	0,046	2,60	0,119	15,87
0,5 SI	2	3	1,80	0,081	4,10	0,184	15,87
0,5 SI	3	1	0,80	0,033	2,00	0,083	12,7
0,5 SI	3	2	0,80	0,040	1,80	0,090	12,7
0,5 SI	3	3	0,80	0,034	1,70	0,072	12,7
0,5 SI	4	1	0,50	0,023	1,30	0,061	9,52
0,5 SI	4	2	0,90	0,045	2,10	0,104	12,7
0,5 SI	4	3	1,40	0,063	1,80	0,082	12,7
0,5 SI	5	1	1,10	0,055	1,50	0,075	12,7
0,5 SI	5	2	0,90	0,047	1,60	0,083	12,7
0,5 SI	5	3	0,50	0,024	1,50	0,073	9,52
0,5 SI	6	1	0,70	0,035	3,90	0,194	12,7
0,5 SI	6	2	1,00	0,042	3,60	0,151	12,7
0,5 SI	6	3	1,10	0,046	3,20	0,133	12,7
0,5 SI	7	1	0,90	0,031	2,30	0,079	12,7
0,5 SI	7	2	0,60	0,030	0,90	0,046	12,7
0,5 SI	7	3	0,90	0,042	2,10	0,099	12,7
0,5 SI	8	1	0,70	0,032	1,50	0,069	9,52
0,5 SI	8	2	0,60	0,027	2,40	0,107	9,52
0,5 SI	8	3	0,90	0,044	2,00	0,099	12,7
0,5 SI	9	1	0,80	0,043	1,20	0,064	12,7
0,5 SI	9	2	0,50	0,023	1,10	0,050	9,52
0,5 SI	9	3	1,40	0,069	1,70	0,083	15,87
0,3 SO	1	1	0,70	0,034	3,10	0,150	9,52
0,3 SO	1	2	0,80	0,039	2,10	0,103	12,7
0,3 SO	1	3	1,00	0,046	1,20	0,055	12,7
0,3 SO	2	1	0,70	0,029	1,20	0,049	9,52
0,3 SO	2	2	1,00	0,045	2,00	0,089	12,7
0,3 SO	2	3	0,80	0,038	2,30	0,109	9,52
0,3 SO	3	1	0,50	0,023	2,90	0,131	9,52
0,3 SO	3	2	1,10	0,060	1,80	0,099	12,7
0,3 SO	3	3	0,80	0,041	1,60	0,083	12,7
0,3 SO	4	1	1,00	0,044	1,70	0,075	15,87
0,3 SO	4	2	0,90	0,040	1,70	0,075	12,7
0,3 SO	4	3	1,50	0,072	2,60	0,124	19,05
0,3 SO	5	1	0,70	0,034	1,60	0,078	9,52
0,3 SO	5	2	0,50	0,024	2,00	0,095	9,52
0,3 SO	5	3	0,80	0,039	1,70	0,082	12,7
0,3 SO	6	1	0,40	0,018	1,40	0,063	9,52
0,3 SO	6	2	1,00	0,045	1,40	0,063	12,7
0,3 SO	6	3	1,00	0,046	1,00	0,046	12,7
0,3 SO	7	1	1,10	0,049	2,10	0,093	12,7
0,3 SO	7	2	1,10	0,049	2,00	0,089	12,7
0,3 SO	7	3	0,80	0,037	1,50	0,069	12,7
0,3 SO	8	1	0,30	0,014	0,60	0,028	9,52
0,3 SO	8	2	0,60	0,027	2,20	0,100	9,52
0,3 SO	8	3	1,30	0,063	2,00	0,097	12,7
0,3 SO	9	1	1,00	0,049	2,20	0,109	12,7
0,3 SO	9	2	1,10	0,049	4,30	0,191	12,7
0,3 SO	9	3	1,10	0,054	1,20	0,058	12,7

Apêndice nº 5- Análise da variância e de contrastes de médias para pesos absolutos (PBUR, PBaço) e relativos de bolsas e baços (PRBREL e PBAREL) e diâmetros de bolsas (mm) das aves aos 42 dias do experimento "Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 108

Dependent Variable: PBUR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.27583333	0.09194444	0.90	0.4425
Error	104	10.59185185	0.10184473		
Corrected Total	107	10.86768519			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBUR Mean
0.025381	35.27755	0.319131	0.904630

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.27583333	0.09194444	0.90	0.4425

Dependent Variable: PBUR

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.02469136	0.02469136	0.24	0.6235

Number of observations 107

Dependent Variable: PBUREL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00054616	0.00018205	0.79	0.5015
Error	103	0.02369974	0.00023009		
Corrected Total	106	0.02424591			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBUREL Mean
0.022526	35.76617	0.015169	0.042411

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.00054616	0.00018205	0.79	0.5015

TRAT	PBUREL LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	0.04519231	0.00297486	<.0001	1
2	0.04400000	0.00291925	<.0001	2
3	0.03951852	0.00291925	<.0001	3
4	0.04103704	0.00291925	<.0001	4

Dependent Variable: PBUREL

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.00003109	0.00003109	0.14	0.7140

Number of observations 107

Dependent Variable: PBACO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	1.74567338	0.58189113	1.12	0.3449
Error	103	53.55320513	0.51993403		
Corrected Total	106	55.29887850			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBACO Mean
0.031568	34.89548	0.721065	2.066355

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	1.74567338	0.58189113	1.12	0.3449

TRAT	PBACO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	2.01153846	0.14141239	<.0001	1
2	2.25185185	0.13876893	<.0001	2
3	2.09629630	0.13876893	<.0001	3
4	1.90370370	0.13876893	<.0001	4

Dependent Variable: PBACO

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.40356770	0.40356770	0.78	0.3804

Number of observations 106

Dependent Variable: PBAREL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00492277	0.00164092	1.50	0.2195
Error	102	0.11169659	0.00109506		
Corrected Total	105	0.11661936			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBAREL Mean
0.042212	33.63113	0.033092	0.098396

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.00492277	0.00164092	1.50	0.2195

TRAT	PBAREL LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	0.09904000	0.00661835	<.0001	1
2	0.10803704	0.00636851	<.0001	2
3	0.09755556	0.00636851	<.0001	3
4	0.08900000	0.00636851	<.0001	4

Dependent Variable: PBAREL

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.00153560	0.00153560	1.40	0.2391

Number of observations 106

Dependent Variable: (diâmetros) BUR em mm

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	7.9842614	2.6614205	0.74	0.5318
Error	103	371.5237890	3.6070271		
Corrected Total	106	379.5080505			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	BUR Mean
0.021038	15.53736	1.899217	12.22355

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	7.98426144	2.66142048	0.74	0.5318

TRAT	BUR LSMEAN	Error	Pr > t	Number
1	12.6980769	0.3724672	<.0001	1
2	12.1111111	0.3655046	<.0001	2
3	12.1100000	0.3655046	<.0001	3
4	11.9925926	0.3655046	<.0001	4

Dependent Variable: (diâmetros)BUR em mm

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	3.02776987	3.02776987	0.84	0.3617

Apêndice nº6 - Pesos e diferenças de pesos (g) entre barbelas inoculadas e não inoculadas com tuberculina aviária aos 48 dias de idade no experimento "Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico"

TRAT	REPET	Ave	difpeso	pbarbela	TRAT	REPET	Ave	difpeso	pbarbela
0,3 SI	1	1	1,0942	1,3595	0,5 SI	1	1	-	0,3265
0,3 SI	1	2	0,2359	0,6097	0,5 SI	1	2	0,2341	0,4589
0,3 SI	1	3	0,2332	0,6515	0,5 SI	1	3	0,4034	0,8971
0,3 SI	2	1	0,2736	0,4168	0,5 SI	2	1	0,1551	0,4223
0,3 SI	2	2	0,3121	0,5217	0,5 SI	2	2	0,2010	0,4016
0,3 SI	2	3	0,1606	0,3492	0,5 SI	2	3	0,1131	0,3118
0,3 SI	3	1	0,7197	1,0265	0,5 SI	3	1	-	0,2165
0,3 SI	3	2	0,3766	0,7828	0,5 SI	3	2	0,0223	0,1313
0,3 SI	3	3	0,1042	0,5087	0,5 SI	4	1	0,1902	0,4870
0,3 SI	4	1	0,2422	0,5912	0,5 SI	4	2	0,4930	0,8123
0,3 SI	4	2	0,5900	0,9011	0,5 SI	4	3	0,4695	0,8009
0,3 SI	5	1	0,1745	0,5841	0,5 SI	5	1	0,4262	0,6703
0,3 SI	5	2	0,3490	0,7454	0,5 SI	5	2	1,1737	1,5661
0,3 SI	5	3	0,3023	0,5192	0,5 SI	5	3	0,5157	0,8744
0,3 SI	6	1	0,4614	0,8111	0,5 SI	6	1	0,8111	1,1070
0,3 SI	6	2	0,5900	0,9011	0,5 SI	6	2	0,2021	0,5365
0,3 SI	7	1	0,4130	0,6554	0,5 SI	6	3	0,2049	0,4840
0,3 SI	7	2	0,3698	0,5258	0,5 SI	7	1	0,2774	0,5124
0,3 SI	7	3	0,0843	0,2331	0,5 SI	7	2	0,2843	0,5023
0,3 SI	8	1	0,5125	0,8858	0,5 SI	7	3	0,5300	0,7229
0,3 SI	8	2	0,2217	0,8257	0,5 SI	8	1	0,4181	0,6020
0,3 SI	9	1	0,6147	0,8825	0,5 SI	8	2	0,0345	0,2045
0,3 SI	9	2	0,1354	0,3975	0,5 SI	8	3	0,0859	0,3254
0,3 SI	9	3	0,8528	1,2329	0,5 SI	9	1	0,1060	0,3760
0,3 SI + 0,2 SO	1	1	-	0,1473	0,3 SO	1	1	0,3445	0,7557
0,3 SI + 0,2 SO	1	2	0,2034	0,3699	0,3 SO	1	2	0,3202	0,7243
0,3 SI + 0,2 SO	2	1	0,3193	0,4320	0,3 SO	1	3	0,1793	0,4418
0,3 SI + 0,2 SO	2	2	0,5667	0,6625	0,3 SO	2	1	0,0505	0,2201
0,3 SI + 0,2 SO	3	1	1,1453	1,2750	0,3 SO	2	2	0,4535	0,5647
0,3 SI + 0,2 SO	3	2	0,5693	0,7027	0,3 SO	3	1	0,3944	0,7109
0,3 SI + 0,2 SO	3	3	0,5070	0,7463	0,3 SO	3	2	0,2976	0,4883
0,3 SI + 0,2 SO	4	1	0,1672	0,4268	0,3 SO	4	1	0,1681	0,3644
0,3 SI + 0,2 SO	4	2	0,2151	0,5830	0,3 SO	4	2	0,3307	0,4780
0,3 SI + 0,2 SO	4	3	0,3835	0,7361	0,3 SO	4	3	0,0990	0,3333
0,3 SI + 0,2 SO	5	1	0,1712	0,4580	0,3 SO	5	1	0,3696	0,5286
0,3 SI + 0,2 SO	5	2	0,0911	0,5085	0,3 SO	5	2	0,2747	0,4200
0,3 SI + 0,2 SO	5	3	0,0659	0,4335	0,3 SO	5	3	0,1967	0,3674
0,3 SI + 0,2 SO	6	1	0,3110	0,6164	0,3 SO	6	1	0,3368	0,7145
0,3 SI + 0,2 SO	6	2	0,5375	0,9918	0,3 SO	6	2	0,3921	0,7755
0,3 SI + 0,2 SO	6	3	0,1681	0,4223	0,3 SO	6	3	0,3558	0,7449
0,3 SI + 0,2 SO	7	1	0,2527	0,5598	0,3 SO	7	1	0,3769	0,5321
0,3 SI + 0,2 SO	7	2	0,1889	0,3650	0,3 SO	7	2	0,5665	0,8119
0,3 SI + 0,2 SO	7	3	0,0520	0,3600	0,3 SO	8	1	0,5240	0,7823
0,3 SI + 0,2 SO	8	1	-	0,4440	0,3 SO	8	2	0,1184	0,4315
0,3 SI + 0,2 SO	8	2	0,1913	0,5372	0,3 SO	8	3	-	0,3316
0,3 SI + 0,2 SO	8	3	0,1798	0,5341	0,3 SO	9	1	0,4455	0,6394
0,3 SI + 0,2 SO	9	1	0,6446	0,8069	0,3 SO	9	2	0,1674	0,3695
0,3 SI + 0,2 SO	9	2	0,3181	0,4698	0,3 SO	9	3	0,2796	0,5283
0,3 SI + 0,2 SO	9	3	1,3727	1,6233					

Apêndice nº 7 - Análise da variância e contrastes de médias para pesos (PBARBELA) e diferenças de pesos (DIFPESO) entre barbela inoculada e não inoculada com tuberculina aviária de uma mesma ave (g) das aves aos 48 dias de idade no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 97

peso das barbelas x trat 82

Dependent Variable: PBARBELA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.35293908	0.11764636	1.54	0.2092
Error	93	7.10078655	0.07635254		
Corrected Total	96	7.45372564			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBARBELA Mean
0.047351	45.47545	0.276320	0.607624

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.35293908	0.11764636	1.54	0.2092

peso das barbelas x trat 83

TRAT	PBARBELA LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	0.70492917	0.05640351	<.0001	1
2	0.60848800	0.05526393	<.0001	2
3	0.57291667	0.05640351	<.0001	3
4	0.54412500	0.05640351	<.0001	4

Least Squares Means for effect TRAT
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

peso das barbelas x trat 84

Dependent Variable: PBARBELA

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.14378632	0.14378632	1.88	0.1733

NOTE: Due to missing values, only 92 observations can be used in this analysis.

Number of observations 93

Dependent Variable: DIFPESO_

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.10696732	0.03565577	0.55	0.6521
Error	88	5.74695914	0.06530635		
Corrected Total	91	5.85392646			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DIFPESO_ Mean
0.018273	72.47709	0.255551	0.352596

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.10696732	0.03565577	0.55	0.6521

TRAT	DIFPESO_ LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	0.39265417	0.05216415	<.0001	1
2	0.37485652	0.05328608	<.0001	2
3	0.33416364	0.05448367	<.0001	3
4	0.30616522	0.05328608	<.0001	4

Dependent Variable: DIFPESO_

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.05021317	0.05021317	0.77	0.3829
peso das barbelas x trat			81		

Apêndice nº 8 - Escores de depleção de bolsas das aves do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Trat (tratamentos): 1= 0,3 mg/kg SI; 2= 0,3 mg/kg SI + 0,2 mg/SO; 3= 0,5 mg/kg SI e 4= 0,3mg/g SO

Trat	Rep	Bolsa/Ave	Esc	Trat	Rep	Bolsa/Ave	Esc
1	1	1	2	3	1	1	3
1	1	2	2	3	1	2	3
1	1	3	2	3	1	3	5
1	2	1	2	3	2	1	3
1	2	2	2	3	2	2	3
1	2	3	3	3	2	3	3
1	3	1	2	3	3	1	2
1	3	2	2	3	3	2	2
1	3	3	3	3	3	3	3
1	4	1	2	3	4	1	2
1	4	2	2	3	4	2	2
1	4	3	3	3	4	3	3
1	5	1	3	3	5	1	3
1	5	2	3	3	5	2	3
1	5	3	4	3	5	3	3
1	6	1	3	3	6	1	2
1	6	2	3	3	6	2	2
1	6	3	3	3	6	3	4
1	7	1	3	3	7	1	3
1	7	2	3	3	7	2	3
1	7	3	3	3	7	3	5
1	8	1	4	3	8	1	3
1	8	2	4	3	8	2	4
1	8	3	4	3	8	3	5
1	9	1	2	3	9	1	3
1	9	2	3	3	9	2	3
1	9	3	3	3	9	3	3
2	1	1	2	4	1	1	2
2	1	2	3	4	1	2	2
2	1	3	3	4	1	3	3
2	2	1	2	4	2	1	2
2	2	2	2	4	2	2	2
2	2	3	3	4	2	3	3
2	3	1	2	4	3	1	3
2	3	2	2	4	3	2	3
2	3	3	3	4	3	3	3
2	4	1	3	4	4	1	2
2	4	2	3	4	4	2	2
2	4	3	5	4	4	3	3
2	5	1	3	4	5	1	3
2	5	2	3	4	5	2	3
2	5	3	3	4	5	3	3
2	6	1	3	4	6	1	2
2	6	2	3	4	6	2	3
2	6	3	3	4	6	3	3
2	7	1	2	4	7	1	2
2	7	2	2	4	7	2	2
2	7	3	2	4	7	3	2
2	8	1	2	4	8	1	2
2	8	2	2	4	8	2	2
2	8	3	3	4	8	3	2
2	9	1	2	4	9	1	2
2	9	2	3	4	9	2	3
2	9	3	4	4	9	3	3

(Esc) Escores = 2, depleção e necrose linfóide de 30 a 50%; 3, depleção e necrose linfóide de 50% a 70%; 4, depleção e necrose linfóide de 70 a 80% e 5, depleção e necrose linfóide > de 90%.

Apêndice nº 9 - Teste de Qui-Quadrado (χ^2) para depleção de bolsas das aves do experimento "Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico

Summary Statistics for TRAT by ESC

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.6726	0.4121
2	Row Mean Scores Differ	3	8.9910	0.0294
3	General Association	9	14.4883	0.1060

Total Sample Size = 108

Statistics for Table of TRAT by ESC

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	9	14.6237	0.1018
Likelihood Ratio Chi-Square	9	16.4027	0.0589
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	0.6726	0.4121
Phi Coefficient		0.3680	
Contingency Coefficient		0.3453	
Cramer's V		0.2124	

Sample Size = 81

orgânico x inorgânico T4 x T1+T34

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable ESC
Classified by Variable TRAT

TRAT	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	27	1517.50	1471.50	126.506658	56.203704
2	27	1411.50	1471.50	126.506658	52.277778
3	27	1759.50	1471.50	126.506658	65.166667
4	27	1197.50	1471.50	126.506658	44.351852

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	7.6732
DF	3
Pr > Chi-Square	0.0533

orgânico x inorgânico T4 x T1+T3(t5)

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable ESC
Classified by Variable Ntrat

Ntrat	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
5	54	2434.50	2214.0	89.802909	45.083333
4	27	886.50	1107.0	89.802909	32.833333

Average scores were used for ties.

Wilcoxon Two-Sample Test

Statistic	886.5000
-----------	----------

Normal Approximation

Z	-2.4498
---	---------

One-Sided Pr < Z	0.0071
------------------	--------

Two-Sided Pr > Z	0.0143
-------------------	--------

t Approximation

One-Sided Pr < Z	0.0082
------------------	--------

Two-Sided Pr > Z	0.0165
-------------------	--------

Z includes a continuity correction of 0.5.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	6.0289
------------	--------

DF	1
----	---

Pr > Chi-Square	0.0141
-----------------	--------

Apêndice nº 10 - Resultados de análise de perfil hematológico das aves aos 42 dias de idade no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

TRATAMENTOS	REPET	AVE	HEMAT	LEUTOT	HET	EOSIN	BASOF	LINFO	MONO	HL
0,3 SI	1	1	30,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SI	1	2	28,00	5400,00	2754,00	162,00	162,00	1674,00	594,00	1,65
0,3 SI	1	3	24,00	5200,00	1976,00	156,00	208,00	2600,00	260,00	0,76
0,3 SI	2	1	34,00	12000,00	5880,00	120,00	480,00	5040,00	480,00	1,17
0,3 SI	2	2	29,00	8800,00	2992,00	352,00	88,00	5192,00	176,00	0,58
0,3 SI	2	3	30,00	9600,00	5472,00	0,00	288,00	1920,00	1920,00	2,85
0,3 SI	3	1	35,00	8800,00	3696,00	968,00	352,00	3344,00	440,00	1,11
0,3 SI	3	2	29,00	5200,00	1820,00	104,00	156,00	3016,00	104,00	0,60
0,3 SI	3	3	29,00	9600,00	3456,00	960,00	192,00	4608,00	384,00	0,75
0,3 SI	4	1	30,00	9000,00	4050,00	90,00	0,00	4230,00	630,00	0,96
0,3 SI	4	2	27,00	5600,00	1624,00	280,00	168,00	3192,00	336,00	0,51
0,3 SI	4	3	27,00	5200,00	1352,00	52,00	208,00	3328,00	260,00	0,41
0,3 SI	5	1	26,00	9200,00	4416,00	0,00	552,00	3496,00	736,00	1,26
0,3 SI	5	2	27,00	9200,00	1932,00	92,00	184,00	6716,00	276,00	0,29
0,3 SI	5	3	26,00	7600,00	2584,00	0,00	380,00	3496,00	1140,00	0,74
0,3 SI	6	1	28,00	6600,00	3102,00	132,00	66,00	2838,00	462,00	1,09
0,3 SI	6	2	23,00	7200,00	3024,00	72,00	0,00	4032,00	72,00	0,75
0,3 SI	6	3	28,00	9200,00	4416,00	276,00	92,00	3680,00	736,00	1,20
0,3 SI	7	1	34,00	8600,00	3526,00	172,00	86,00	3698,00	1118,00	0,95
0,3 SI	7	2	31,00	5400,00	1782,00	162,00	108,00	3078,00	270,00	0,58
0,3 SI	7	3	32,00	10000,00	5600,00	200,00	800,00	2100,00	1300,00	2,67
0,3 SI	8	1	30,00	6400,00	2624,00	64,00	512,00	2880,00	320,00	0,91
0,3 SI	8	2	27,00	6000,00	1800,00	60,00	60,00	3180,00	900,00	0,57
0,3 SI	8	3	30,00	6400,00	1728,00	192,00	128,00	3712,00	640,00	0,47
0,3 SI	9	1	28,00	8600,00	3096,00	0,00	258,00	4816,00	430,00	0,64
0,3 SI	9	2	32,00	8600,00	2924,00	0,00	258,00	4472,00	946,00	0,65
0,3 SI	9	3	34,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SI + 0,2 SO	1	1	28,00	6200,00	1240,00	310,00	186,00	3844,00	620,00	0,32
0,3 SI + 0,2 SO	1	2	27,00	13200,00	5808,00	396,00	792,00	4752,00	1452,00	1,22
0,3 SI + 0,2 SO	1	3	28,00	6000,00	1800,00	360,00	60,00	3540,00	240,00	0,51
0,3 SI + 0,2 SO	2	1	24,00	6600,00	1518,00	528,00	330,00	3498,00	726,00	0,43
0,3 SI + 0,2 SO	2	2	28,00	6600,00	3630,00	0,00	66,00	2046,00	858,00	1,77
0,3 SI + 0,2 SO	2	3	25,00	4600,00	966,00	92,00	0,00	2668,00	874,00	0,36
0,3 SI + 0,2 SO	3	1	29,00	7600,00	1748,00	76,00	152,00	5396,00	228,00	0,32
0,3 SI + 0,2 SO	3	2	29,00	7600,00	2964,00	76,00	228,00	4104,00	228,00	0,72
0,3 SI + 0,2 SO	3	3	29,00	8000,00	2240,00	320,00	160,00	4800,00	480,00	0,47
0,3 SI + 0,2 SO	4	1	34,00	7000,00	3010,00	140,00	350,00	3220,00	280,00	0,93
0,3 SI + 0,2 SO	4	2	31,00	9600,00	3936,00	192,00	96,00	4992,00	384,00	0,79
0,3 SI + 0,2 SO	4	3	32,00	9000,00	3960,00	450,00	720,00	3510,00	360,00	1,13
0,3 SI + 0,2 SO	5	1	30,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SI + 0,2 SO	5	2	28,00	8400,00	2772,00	84,00	252,00	4620,00	672,00	0,60
0,3 SI + 0,2 SO	5	3	24,00	7200,00	1584,00	72,00	72,00	5400,00	72,00	0,29
0,3 SI + 0,2 SO	6	1	25,00	7600,00	3876,00	76,00	304,00	2280,00	1064,00	1,70
0,3 SI + 0,2 SO	6	2	26,00	11600,00	6032,00	348,00	0,00	3248,00	1972,00	1,86
0,3 SI + 0,2 SO	6	3	28,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SI + 0,2 SO	7	1	29,00	10400,00	4160,00	104,00	416,00	4680,00	1040,00	0,89
0,3 SI + 0,2 SO	7	2	26,00	10600,00	4664,00	212,00	424,00	4240,00	1060,00	1,10
0,3 SI + 0,2 SO	7	3	28,00	8800,00	3520,00	176,00	440,00	3344,00	1320,00	1,05
0,3 SI + 0,2 SO	8	1	26,00	6400,00	1216,00	192,00	192,00	4480,00	320,00	0,27
0,3 SI + 0,2 SO	8	2	28,00	12400,00	6200,00	124,00	372,00	4464,00	1240,00	1,39
0,3 SI + 0,2 SO	8	3	26,00	6400,00	1344,00	128,00	192,00	3968,00	768,00	0,34
0,3 SI + 0,2 SO	9	1	31,00	7000,00	2310,00	350,00	560,00	3640,00	140,00	0,63
0,3 SI + 0,2 SO	9	2	30,00	9600,00	3744,00	192,00	96,00	4992,00	576,00	0,75
0,3 SI + 0,2 SO	9	3	30,00	6400,00	1664,00	256,00	64,00	4096,00	320,00	0,41

Hemat=hematócrito ; LeuTot= leucócitos totais; Het= heterófilos; Eosin= eosinófilos ; Basof= basófilos; Monoc=monócitos ; Linfoc= linfócitos; H/L=relação heterófilo/linfócito.

Apêndice nº 10 - Resultados de análise de perfil hematológico das aves aos 42 dias de idade no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico” (continuação...)

TRAT	REPET	AVE	HEMAT	LEUTOT	HET	EOSIN	BASOF	LINFO	MONO	HL
0,5 SI	1	1	27,00	8600,00	4128,00	344,00	430,00	2064,00	1634,00	2,00
0,5 SI	1	2	31,00	10800,00	5292,00	216,00	324,00	3564,00	1404,00	1,48
0,5 SI	1	3	28,00	12000,00	3960,00	480,00	120,00	5160,00	2280,00	0,77
0,5 SI	2	1	28,00	6800,00	1904,00	340,00	340,00	3808,00	408,00	0,50
0,5 SI	2	2	24,00	7400,00	3404,00	148,00	74,00	3182,00	592,00	1,07
0,5 SI	2	3	34,00	8000,00	2400,00	240,00	160,00	4720,00	480,00	0,51
0,5 SI	3	1	29,00	9600,00	2784,00	480,00	288,00	4224,00	1824,00	0,66
0,5 SI	3	2	29,00	11200,00	5824,00	224,00	672,00	3696,00	784,00	1,58
0,5 SI	3	3	29,00	7600,00	1824,00	0,00	456,00	4104,00	1216,00	0,44
0,5 SI	4	1	32,00	10600,00	3604,00	318,00	424,00	5088,00	1166,00	0,71
0,5 SI	4	2	30,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5 SI	4	3	31,00	7200,00	2952,00	432,00	144,00	3240,00	432,00	0,91
0,5 SI	5	1	28,00	7600,00	2432,00	304,00	228,00	4332,00	304,00	0,56
0,5 SI	5	2	24,00	10000,00	3700,00	300,00	100,00	4600,00	1300,00	0,80
0,5 SI	5	3	28,00	6800,00	2108,00	544,00	68,00	3264,00	816,00	0,65
0,5 SI	6	1	28,00	8000,00	3600,00	320,00	80,00	3600,00	400,00	1,00
0,5 SI	6	2	31,00	8000,00	3360,00	720,00	320,00	2480,00	1120,00	1,35
0,5 SI	6	3	23,00	5200,00	572,00	0,00	0,00	4472,00	156,00	0,13
0,5 SI	7	1	27,00	8400,00	3444,00	168,00	588,00	3444,00	756,00	1,00
0,5 SI	7	2	28,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5 SI	7	3	26,00	7600,00	2128,00	380,00	380,00	3268,00	1444,00	0,65
0,5 SI	8	1	27,00	7200,00	1872,00	504,00	144,00	4392,00	288,00	0,43
0,5 SI	8	2	26,00	9200,00	2392,00	460,00	276,00	4416,00	1656,00	0,54
0,5 SI	8	3	28,00	8400,00	3108,00	0,00	168,00	4788,00	336,00	0,65
0,5 SI	9	1	26,00	8200,00	3198,00	82,00	410,00	3854,00	656,00	0,83
0,5 SI	9	2	27,00	7200,00	2304,00	288,00	72,00	4176,00	360,00	0,55
0,5 SI	9	3	28,00	8400,00	1680,00	336,00	336,00	5376,00	672,00	0,31
0,3 SO	1	1	29,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SO	1	2	27,00	5600,00	2240,00	392,00	0,00	2912,00	56,00	0,77
0,3 SO	1	3	28,00	8000,00	2800,00	320,00	160,00	4320,00	400,00	0,65
0,3 SO	2	1	29,00	8000,00	4240,00	400,00	80,00	2720,00	560,00	1,56
0,3 SO	2	2	27,00	7600,00	2128,00	228,00	304,00	4332,00	608,00	0,49
0,3 SO	2	3	27,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SO	3	1	26,00	8800,00	2288,00	0,00	264,00	5808,00	440,00	0,39
0,3 SO	3	2	30,00	8000,00	1600,00	400,00	320,00	4960,00	720,00	0,32
0,3 SO	3	3	29,00	7400,00	3404,00	148,00	148,00	3552,00	148,00	0,96
0,3 SO	4	1	30,00	8000,00	2960,00	160,00	240,00	3760,00	880,00	0,79
0,3 SO	4	2	28,00	7600,00	2812,00	228,00	228,00	3496,00	836,00	0,80
0,3 SO	4	3	27,00	8400,00	2940,00	84,00	252,00	3444,00	1680,00	0,85
0,3 SO	5	1	28,00	6600,00	2310,00	330,00	132,00	3762,00	66,00	0,61
0,3 SO	5	2	29,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SO	5	3	26,00	8400,00	3528,00	84,00	252,00	3780,00	756,00	0,93
0,3 SO	6	1	24,00	6400,00	2304,00	64,00	128,00	3584,00	320,00	0,64
0,3 SO	6	2	29,00	5200,00	1872,00	260,00	156,00	2600,00	312,00	0,72
0,3 SO	6	3	29,00	7600,00	4180,00	76,00	152,00	3116,00	76,00	1,34
0,3 SO	7	1	32,00	6000,00	2520,00	0,00	60,00	3060,00	360,00	0,82
0,3 SO	7	2	32,00	8600,00	2322,00	0,00	258,00	5074,00	946,00	0,46
0,3 SO	7	3	27,00	6800,00	1700,00	340,00	68,00	4216,00	476,00	0,40
0,3 SO	8	1	26,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3 SO	8	2	29,00	9000,00	2250,00	270,00	360,00	5850,00	270,00	0,38
0,3 SO	8	3	26,00	7600,00	1976,00	228,00	152,00	4788,00	456,00	0,41
0,3 SO	9	1	28,00	8400,00	1764,00	420,00	252,00	3444,00	2520,00	0,51
0,3 SO	9	2	28,00	7000,00	3570,00	420,00	70,00	2590,00	350,00	1,38
0,3 SO	9	3	25,00	6600,00	2310,00	0,00	264,00	3564,00	462,00	0,65

Apêndice nº 11 - Análise da variância e de contrastes de médias para perfil hematológico das aves aos 42 dias no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4

Number of observations 108

Dependent Variable: HMTOCR (Hematócrito)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	26.9907407	8.9969136	1.46	0.2297
Error	104	640.6666667	6.1602564		
Corrected Total	107	667.6574074			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HMTOCR Mean
0.040426	8.762816	2.481986	28.32407

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	26.99074074	8.99691358	1.46	0.2297

TRAT	HMTOCR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	29.1851852	0.4776585	<.0001	1
2	28.1111111	0.4776585	<.0001	2
3	28.0370370	0.4776585	<.0001	3
4	27.9629630	0.4776585	<.0001	4

Dependent Variable: HMTOCR

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	7.56172840	7.56172840	1.23	0.2704
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	20.16666667	20.16666667	3.27	0.0733

Number of observations 98

Dependent Variable: LEUCTOT (Leucócitos Totais)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	13169217.4	4389739.1	1.48	0.2262
Error	94	279650782.6	2975008.3		
Corrected Total	97	292820000.0			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LEUCTOT Mean
0.044974	21.67639	1724.821	7957.143

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	13169217.39	4389739.13	1.48	0.2262

TRAT	LEUCTOT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	7736.00000	344.96425	<.0001	1
2	8192.00000	344.96425	<.0001	2
3	8400.00000	344.96425	<.0001	3
4	7460.86957	359.65009	<.0001	4

Dependent Variable: LEUCTOT

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	5806828.350	5806828.350	1.95	0.1657
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	906784.058	906784.058	0.30	0.5822

Dependent Variable: HETER (Heterófilos)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	3430497.1	1143499.0	0.75	0.5229
Error	94	142624614.2	1517283.1		
Corrected Total	97	146055111.3			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HETER Mean
0.023488	41.98414	1231.780	2933.918

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	3430497.128	1143499.043	0.75	0.5229

TRAT	HETER LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	3105.04000	246.35609	<.0001	1
2	3036.24000	246.35609	<.0001	2
3	2958.96000	246.35609	<.0001	3
4	2609.47826	256.84398	<.0001	4

Dependent Variable: HETER

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	2812374.151	2812374.151	1.85	0.1766
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	2941860.968	2941860.968	1.94	0.1671

Number of observations 98

Dependent Variable: EOSIN (Eosinófilos)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	206059.283	68686.428	1.99	0.1214
Error	94	3251244.717	34587.710		
Corrected Total	97	3457304.000			

R-Square Coeff Var Root MSE EOSIN Mean
0.059601 81.36525 185.9777 228.5714

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	206059.2835	68686.4278	1.99	0.1214

Dependent Variable: EOSIN

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	19213.65389	19213.65389	0.56	0.4579
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	7083.20014	7083.20014	0.20	0.6519

Number of observations 98

Dependent Variable: BASOF (Basófilos)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	91056.083	30352.028	0.99	0.4003
Error	94	2877023.917	30606.637		
Corrected Total	97	2968080.000			

R-Square Coeff Var Root MSE BASOF Mean
0.030678 73.86204 174.9475 236.8571

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	91056.08348	30352.02783	0.99	0.4003

TRAT	BASOF LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	231.440000	34.989506	<.0001	1
2	260.960000	34.989506	<.0001	2
3	264.080000	34.989506	<.0001	3
4	186.956522	36.479081	<.0001	4

Dependent Variable: BASOF

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	58241.40293	58241.40293	1.90	0.1710
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	23704.13348	23704.13348	0.77	0.3811

Number of observations 98

Dependent Variable: MONO (Monócitos)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	1509971.99	503324.00	1.94	0.1290
Error	94	24429679.97	259890.21		
Corrected Total	97	25939651.96			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MONO Mean
0.058211	73.03430	509.7943	698.0204

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	1509971.987	503323.996	1.94	0.1290

TRAT	MONO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	597.200000	101.958857	<.0001	1
2	691.760000	101.958857	<.0001	2
3	899.360000	101.958857	<.0001	3
4	595.565217	106.299457	<.0001	4

Dependent Variable: MONO

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	367398.2952	367398.2952	1.41	0.2374
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	32.0145	32.0145	0.00	0.9912

Number of observations 98

Dependent Variable: LINFO (Linfócitos)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	2276572.12	758857.37	0.84	0.4742
Error	94	84707360.95	901142.14		
Corrected Total	97	86983933.06			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LINFO Mean
0.026172	24.59782	949.2851	3859.224

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	2276572.115	758857.372	0.84	0.4742

TRAT	LINFO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	3613.52000	189.85701	<.0001	1

2	3992.88000	189.85701	<.0001	2
3	3972.48000	189.85701	<.0001	3
4	3857.91304	197.93962	<.0001	4

Dependent Variable: LINFO

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr >
inorg x organico	1	66380.2561	66380.2561	0.07	0.7867
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	715491.1839	715491.1839	0.79	0.3752

Number of observations 98

Dependent Variable: HETLINFO (Relação Heterófilo /Linfócito)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.70426483	0.23475494	1.01	0.3915
Error	94	21.82789843	0.23221169		
Corrected Total	97	22.53216327			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HETLINFO Mean
0.031256	58.10111	0.481883	0.829388

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	0.70426483	0.23475494	1.01	0.3915

TRAT	HETLINFO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	0.96480000	0.09637670	<.0001	1
2	0.81000000	0.09637670	<.0001	2
3	0.80320000	0.09637670	<.0001	3
4	0.73173913	0.10047965	<.0001	4

Dependent Variable: HETLINFO

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	0.36521751	0.36521751	1.57	0.2129
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	0.65067682	0.65067682	2.80	0.0975

Apêndice nº 12 – Títulos de anticorpos contra Doença Infecciosa da Bolsa no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Coleta 1: pré-vacina, aos 19 dias de idade; coleta 2: 10 dias pós-vacina; coleta 3: 14 dias pós-vacina e coleta 4: 23 dias pós vacina

Tratamentos	Repet	Ave	Coleta1	Coleta2	Coleta3	Coleta4	Tratamentos	Repet	Ave	Coleta1	Coleta2	Coleta3	Coleta4
0,3 SI	1	1	0,000	627,0000	0,0000	5804,0000	0,5 SI	1	1	0,0000	8279,0000	3518,0000	2114,0000
0,3 SI	1	2	0,0000	874,9840	7164,0000	2282,0000	0,5 SI	1	2	0,0000	2772,0000	4564,0000	3571,0000
0,3 SI	1	3	0,0000	1395,0000	3352,0000	4482,0000	0,5 SI	1	3	0,0000	5162,0000	5286,0000	1238,0000
0,3 SI	2	1	0,0000	3484,0000	2335,0000	4499,0000	0,5 SI	2	1	0,0000	0,0000	2804,0000	0,0000
0,3 SI	2	2	0,0000	2559,0000	2431,0000	5038,0000	0,5 SI	2	2	0,0000	0,0000	2931,0000	0,0000
0,3 SI	2	3	0,0000	4395,0000	0,0000	2677,0000	0,5 SI	2	3	0,0000	5049,0000	1426,0000	1603,0000
0,3 SI	3	1	0,0000	3243,0000	5631,0000	3568,0000	0,5 SI	3	1	0,0000	3564,0000	4640,0000	3085,0000
0,3 SI	3	2	0,0000	2510,0000	2057,0000	5133,0000	0,5 SI	3	2	0,0000	6383,0000	2771,0000	2571,0000
0,3 SI	3	3	0,0000	721,1070	5612,0000	3205,0000	0,5 SI	3	3	0,0000	0,0000	2246,0000	3874,0000
0,3 SI	4	1	0,0000	421,6960	3803,0000	1422,0000	0,5 SI	4	1	0,0000	0,0000	1914,0000	4233,0000
0,3 SI	4	2	0,0000	0,0000	4810,0000	3908,0000	0,5 SI	4	2	0,0000	0,0000	1913,0000	2944,0000
0,3 SI	4	3	0,0000	587,0000	4357,0000	3686,0000	0,5 SI	4	3	0,0000	1465,0000	3715,0000	4998,0000
0,3 SI	5	1	0,0000	0,0000	5019,0000	2913,0000	0,5 SI	5	1	0,0000	0,0000	3278,0000	1938,0000
0,3 SI	5	2	0,0000	2244,0000	5191,0000	3359,0000	0,5 SI	5	2	0,0000	3266,0000	6132,0000	1814,0000
0,3 SI	5	3	0,0000	2438,0000	4346,0000	3462,0000	0,5 SI	5	3	0,0000	0,0000	2689,0000	2443,0000
0,3 SI	6	1	0,0000	2193,0000	6404,0000	0,0000	0,5 SI	6	1	0,0000	0,0000	1928,0000	3787,0000
0,3 SI	6	2	0,0000	2004,0000	2689,0000	4640,0000	0,5 SI	6	2	0,0000	0,0000	3201,0000	2751,0000
0,3 SI	6	3	0,0000	1686,0000	2677,0000	3573,0000	0,5 SI	6	3	0,0000	1133,0000	2713,0000	2686,0000
0,3 SI	7	1	0,0000	1465,0000	1629,0000	4773,0000	0,5 SI	7	1	0,0000	5082,0000	4808,0000	2342,0000
0,3 SI	7	2	0,0000	2477,0000	2985,0000	2443,0000	0,5 SI	7	2	0,0000	4295,0000	4057,0000	2545,0000
0,3 SI	7	3	0,0000	2009,0000	3814,0000	0,0000	0,5 SI	7	3	0,0000	5808,0000	1770,0000	2106,0000
0,3 SI	8	1	0,0000	2299,0000	3407,0000	1936,0000	0,5 SI	8	1	0,0000	3189,0000	3242,0000	1202,0000
0,3 SI	8	2	0,0000	830,0000	3964,0000	2407,0000	0,5 SI	8	2	0,0000	1603,0000	4132,0000	3321,0000
0,3 SI	8	3	0,0000	1466,0000	1946,0000	3132,0000	0,5 SI	8	3	0,0000	1143,0000	3035,0000	1727,0000
0,3 SI	9	1	0,0000	2438,0000	2264,0000	2250,0000	0,5 SI	9	1	0,0000	1841,0000	2767,0000	3191,0000
0,3 SI	9	2	0,0000	2173,0000	2154,0000	3278,0000	0,5 SI	9	2	0,0000	2804,0000	3184,0000	2025,0000
0,3 SI	9	3	0,0000	3451,0000	2211,0000	6307,0000	0,5 SI	9	3	0,0000	4831,0000	2949,0000	3914,0000
0,3 SI + 0,2 SO	1	1	0,0000	1888,0000	4791,0000	4867,0000	0,3 SO	1	1	0,0000	0,0000	2411,0000	1962,0000
0,3 SI + 0,2 SO	1	2	0,0000	1012,0000	4282,0000	3759,0000	0,3 SO	1	2	0,0000	1698,0000	2659,0000	2405,0000
0,3 SI + 0,2 SO	1	3	0,0000	1932,0000	4094,0000	3019,0000	0,3 SO	1	3	0,0000	774,0000	5210,0000	1274,0000
0,3 SI + 0,2 SO	2	1	0,0000	0,0000	5881,0000	1616,0000	0,3 SO	2	1	0,0000	4518,0000	4244,0000	2253,0000
0,3 SI + 0,2 SO	2	2	0,0000	1236,0000	3518,0000	3468,0000	0,3 SO	2	2	0,0000	0,0000	3908,0000	1348,0000
0,3 SI + 0,2 SO	2	3	0,0000	3501,0000	2739,0000	4219,0000	0,3 SO	2	3	0,0000	3715,0000	2657,0000	2329,0000
0,3 SI + 0,2 SO	3	1	0,0000	2483,0000	4413,0000	3361,0000	0,3 SO	3	1	0,0000	3140,0000	1963,0000	3971,0000
0,3 SI + 0,2 SO	3	2	0,0000	1519,0000	4057,0000	2051,0000	0,3 SO	3	2	0,0000	1815,0000	1194,0000	3074,0000
0,3 SI + 0,2 SO	3	3	0,0000	2265,0000	6891,0000	2260,0000	0,3 SO	3	3	0,0000	1042,0000	5229,0000	1801,0000
0,3 SI + 0,2 SO	4	1	0,0000	1673,0000	2669,0000	5025,0000	0,3 SO	4	1	0,0000	2944,0000	1270,0000	2303,0000
0,3 SI + 0,2 SO	4	2	0,0000	3214,0000	968,0000	4487,0000	0,3 SO	4	2	0,0000	1676,0000	2494,0000	2674,0000
0,3 SI + 0,2 SO	4	3	0,0000	2315,0000	5958,0000	4688,0000	0,3 SO	4	3	0,0000	0,0000	4697,0000	2643,0000
0,3 SI + 0,2 SO	5	1	0,0000	0,0000	3518,0000	3452,0000	0,3 SO	5	1	0,0000	0,0000	2689,0000	1468,0000
0,3 SI + 0,2 SO	5	2	0,0000	590,2010	3629,0000	2771,0000	0,3 SO	5	2	0,0000	1419,0000	5000,0000	2727,0000
0,3 SI + 0,2 SO	5	3	0,0000	0,0000	4040,0000	2064,0000	0,3 SO	5	3	0,0000	0,0000	1334,0000	2520,0000
0,3 SI + 0,2 SO	6	1	0,0000	4592,0000	1475,0000	3602,0000	0,3 SO	6	1	0,0000	1766,0000	3048,0000	2097,0000
0,3 SI + 0,2 SO	6	2	0,0000	2944,0000	2953,0000	2905,0000	0,3 SO	6	2	0,0000	0,0000	1962,0000	3322,0000
0,3 SI + 0,2 SO	6	3	0,0000	714,0000	5076,0000	2751,0000	0,3 SO	6	3	0,0000	4497,0000	2858,0000	2440,0000
0,3 SI + 0,2 SO	7	1	0,0000	3151,0000	2106,0000	3085,0000	0,3 SO	7	1	0,0000	0,0000	2804,0000	2776,0000
0,3 SI + 0,2 SO	7	2	0,0000	4018,0000	5920,0000	4661,0000	0,3 SO	7	2	0,0000	0,0000	2089,0000	4540,0000
0,3 SI + 0,2 SO	7	3	0,0000	1489,0000	2713,0000	0,0000	0,3 SO	7	3	0,0000	0,0000	5401,0000	2373,0000
0,3 SI + 0,2 SO	8	1	0,0000	568,8520	5133,0000	2303,0000	0,3 SO	8	1	0,0000	2630,0000	3908,0000	2354,0000
0,3 SI + 0,2 SO	8	2	0,0000	4592,0000	4301,0000	2953,0000	0,3 SO	8	2	0,0000	2410,0000	6681,0000	3099,0000
0,3 SI + 0,2 SO	8	3	0,0000	2854,0000	4159,0000	4299,0000	0,3 SO	8	3	0,0000	2477,0000	2820,0000	4863,0000
0,3 SI + 0,2 SO	9	1	0,0000	1910,0000	2894,0000	2575,0000	0,3 SO	9	1	0,0000	0,0000	1152,0000	2164,0000
0,3 SI + 0,2 SO	9	2	0,0000	2986,0000	4142,0000	2597,0000	0,3 SO	9	2	0,0000	0,0000	3689,0000	3334,0000
0,3 SI + 0,2 SO	9	3	0,0000	0,0000	4602,0000	1395,0000	0,3 SO	9	3	0,0000	4875,0000	2211,0000	2880,0000

Apêndice nº 13 – Análise da variância para títulos de anticorpos contra Doença Infecciosa da Bolsa no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4
REP	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9
COLETA	4	1 2 3 4

Number of observations 298

Dependent Variable: TITULO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	15	291186950.9	19412463.4	12.67	<.0001
Error	282	431935332.7	1531685.6		
Corrected Total	297	723122283.6			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	TITULO Mean
0.402680	43.10154	1237.613	2871.389

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	3733455.5	1244485.2	0.81	0.4878
COLETA	3	227748208.2	75916069.4	49.56	<.0001
TRAT*COLETA	9	48181350.3	5353483.4	3.50	0.0004

TRAT	TITULO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	2347.47236	176.96166	<.0001	1
2	2398.09000	159.37982	<.0001	2
3	2424.82086	180.28865	<.0001	3
4	2072.16030	182.92431	<.0001	4

COLETA	TITULO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	-0.00000	266.67203	1.0000	1
2	2667.05804	142.50066	<.0001	2
3	3516.19593	120.27435	<.0001	3
4	3059.28955	129.60064	<.0001	4

Dependent Variable: TITULO

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	7295960.870	7295960.870	4.46	0.0357
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	4383558.645	4383558.645	2.68	0.1029

Apêndice nº 14 –Títulos de anticorpos contra eritrócitos de carneiro (SRBC) aos 42 dias de idade das aves no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Tratamentos	Repet	Ave	títulos para EC	Tratamentos	Repet	Ave	títulos para EC
0,3 SI	1	1	2,0000	0,5 SI	1	1	8,0000
0,3 SI	1	2	16,0000	0,5 SI	1	2	0,0000
0,3 SI	1	3	16,0000	0,5 SI	1	3	4,0000
0,3 SI	2	1	2,0000	0,5 SI	2	1	-
0,3 SI	2	2	16,0000	0,5 SI	2	2	-
0,3 SI	2	3	16,0000	0,5 SI	2	3	0,0000
0,3 SI	3	1	64,0000	0,5 SI	3	1	8,0000
0,3 SI	3	2	16,0000	0,5 SI	3	2	8,0000
0,3 SI	3	3	16,0000	0,5 SI	3	3	4,0000
0,3 SI	4	1	32,0000	0,5 SI	4	1	16,0000
0,3 SI	4	2	8,0000	0,5 SI	4	2	16,0000
0,3 SI	4	3	8,0000	0,5 SI	4	3	8,0000
0,3 SI	5	1	32,0000	0,5 SI	5	1	16,0000
0,3 SI	5	2	16,0000	0,5 SI	5	2	8,0000
0,3 SI	5	3	16,0000	0,5 SI	5	3	0,0000
0,3 SI	6	1	32,0000	0,5 SI	6	1	8,0000
0,3 SI	6	2	0,0000	0,5 SI	6	2	0,0000
0,3 SI	6	3	16,0000	0,5 SI	6	3	4,0000
0,3 SI	7	1	-	0,5 SI	7	1	8,0000
0,3 SI	7	2	8,0000	0,5 SI	7	2	8,0000
0,3 SI	7	3	-	0,5 SI	7	3	8,0000
0,3 SI	8	1	-	0,5 SI	8	1	8,0000
0,3 SI	8	2	8,0000	0,5 SI	8	2	64,0000
0,3 SI	8	3	64,0000	0,5 SI	8	3	2,0000
0,3 SI	9	1	0,0000	0,5 SI	9	1	8,0000
0,3 SI	9	2	0,0000	0,5 SI	9	2	4,0000
0,3 SI	9	3	32,0000	0,5 SI	9	3	2,0000
0,3 SI + 02 SO	1	1	16,0000	0,3 SO	1	1	4,0000
0,3 SI + 02 SO	1	2	16,0000	0,3 SO	1	2	32,0000
0,3 SI + 02 SO	1	3	16,0000	0,3 SO	1	3	2,0000
0,3 SI + 02 SO	2	1	-	0,3 SO	2	1	8,0000
0,3 SI + 02 SO	2	2	8,0000	0,3 SO	2	2	16,0000
0,3 SI + 02 SO	2	3	8,0000	0,3 SO	2	3	8,0000
0,3 SI + 02 SO	3	1	16,0000	0,3 SO	3	1	4,0000
0,3 SI + 02 SO	3	2	4,0000	0,3 SO	3	2	16,0000
0,3 SI + 02 SO	3	3	-	0,3 SO	3	3	4,0000
0,3 SI + 02 SO	4	1	8,0000	0,3 SO	4	1	4,0000
0,3 SI + 02 SO	4	2	4,0000	0,3 SO	4	2	4,0000
0,3 SI + 02 SO	4	3	8,0000	0,3 SO	4	3	32,0000
0,3 SI + 02 SO	5	1	0,0000	0,3 SO	5	1	4,0000
0,3 SI + 02 SO	5	2	4,0000	0,3 SO	5	2	-
0,3 SI + 02 SO	5	3	8,0000	0,3 SO	5	3	32,0000
0,3 SI + 02 SO	6	1	16,0000	0,3 SO	6	1	4,0000
0,3 SI + 02 SO	6	2	4,0000	0,3 SO	6	2	0,0000
0,3 SI + 02 SO	6	3	16,0000	0,3 SO	6	3	16,0000
0,3 SI + 02 SO	7	1	-	0,3 SO	7	1	0,0000
0,3 SI + 02 SO	7	2	0,0000	0,3 SO	7	2	4,0000
0,3 SI + 02 SO	7	3	-	0,3 SO	7	3	16,0000
0,3 SI + 02 SO	8	1	8,0000	0,3 SO	8	1	2,0000
0,3 SI + 02 SO	8	2	0,0000	0,3 SO	8	2	16,0000
0,3 SI + 02 SO	8	3	32,0000	0,3 SO	8	3	8,0000
0,3 SI + 02 SO	9	1	0,0000	0,3 SO	9	1	8,0000
0,3 SI + 02 SO	9	2	0,0000	0,3 SO	9	2	0,0000
0,3 SI + 02 SO	9	3	16,0000	0,3 SO	9	3	8,0000

Apêndice nº 15 – Análise da variância e contrastes de médias para títulos de anticorpos contra eritrócitos de carneiro (SRBC) aos 42 dias de idade das aves no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	4	1 2 3 4
REP_	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9

Number of observations 98

Dependent Variable: HA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	1471.43699	490.47900	3.20	0.0267
Error	94	14387.82832	153.06200		
Corrected Total	97	15859.26531			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HA Mean
0.092781	108.6415	12.37182	11.38776

Source	DF	Type II SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	3	1471.436990	490.478997	3.20	0.0267

TRAT	HA LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
1	18.1666667	2.5253878	<.0001	1
2	9.0434783	2.5797034	0.0007	2
3	8.8000000	2.4743646	0.0006	3
4	9.6923077	2.4263141	0.0001	4

Dependent Variable: HA

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
inorg x organico	1	244.0949988	244.0949988	1.59	0.2098
0,3 inorg x 0,3 selplex	1	896.2482051	896.2482051	5.86	0.0175

Apêndice nº 16 - Resultado de Análises de Proteína Bruta e Umidade das rações do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de rangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Faculdade de Agronomia

Laboratório de Nutrição Animal

Laudo de análises das Rações

Experimento Isabel

Data da Entrada: 14/12/2006

Data da Saída: 8/1/2007

Amostra	Descrição	Base	MS (%)	Umidade (%)	PB (%)
3168 P	Milho Moído	100% Seco	100	11,85	9,29
		Seco Ar	88,15		8,19
3169 P	Farelo de Soja	100% Seco	100	11,30	49,41
		Seco Ar	88,70		43,83
3170 P	Ração Inicial Frango T1	100% Seco	100	10,99	23,35
		Seco Ar	89,01		20,78
3171 P	Ração Inicial Frango T2	100% Seco	100	10,34	23,81
		Seco Ar	89,66		21,35
3172 P	Ração Inicial Frango T3	100% Seco	100	11,04	23,58
		Seco Ar	88,96		20,98
3173 P	Ração Inicial Frango T4	100% Seco	100	12,68	24,89
		Seco Ar	87,32		21,73
3174 P	Ração Crescimento Frango T1	100% Seco	100	11,74	20,45
		Seco Ar	88,26		18,05
3175 P	Ração Crescimento Frango T2	100% Seco	100	12,85	20,15
		Seco Ar	87,15		17,56
3176 P	Ração Crescimento Frango T3	100% Seco	100	10,96	19,95
		Seco Ar	89,04		17,76
3177 P	Ração Crescimento Frango T4	100% Seco	100	11,15	20,40
		Seco Ar	88,85		18,13

Apêndice nº 17 – Resultado de análises de Selênio nas rações do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

INTERESSADO:

DATA: 20 / 12 / 06

NOME: ISABEL CRISTINA SILVA

ENDEREÇO: <u>RUA BENTO GONÇALVES B. AGRONOMIA FAZ AGRON.</u>		Nº <u>7712</u>
CIDADE : <u>PORTO ALEGRE-RS</u>	CEP: <u>91540-000</u>	

RESULTADOS DE ANÁLISES : MICRO MINERAIS EXPRESSOS EM mg/kg, E MACRO MINERAIS EXPRESSOS EM PORCENTAGEM

Amostra	Fe	Zn	Mn	Se	Na %	Mg %	K %	Ca %	P %	Nº Am.
<i>Milho Moído</i>	**	**	**	0,036	**	**	**	**	**	01
<i>Farelo Soja</i>	**	**	**	0,070	**	**	**	**	**	02
<i>Ração Frango Inicial T1</i>	**	**	**	0,353	**	**	**	**	**	03
<i>Ração Frango Inicial T2</i>	**	**	**	0,529	**	**	**	**	**	04
<i>Ração Frango Inicial T3</i>	**	**	**	0,495	**	**	**	**	**	05
<i>Ração Frango Inicial T4</i>	**	**	**	0,379	**	**	**	**	**	06
<i>Ração Frango Cresc. T1</i>	**	**	**	0,312	**	**	**	**	**	07
<i>Ração Frango Cresc. T2</i>	**	**	**	0,512	**	**	**	**	**	08
<i>Ração Frango Cresc. T3</i>	**	**	**	0,528	**	**	**	**	**	09
<i>Ração Frango Cresc. T4</i>	**	**	**	0,288	**	**	**	**	**	10

OBSERVAÇÕES: Resultados expressos na matéria original

Resp. Prof. Dr. MARCUS ANTONIO ZANETTI

	<p>USP UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO</p> <p>FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENG^a. ALIMENTOS</p> <p>Depto. de Zootecnia - Laboratório de Minerais</p> <p>Rua Duque de Caxias Norte, 225 Pirassununga-SP</p> <p>Fone: (019) 3565.4183</p>	
		Nº M-108-181206

Apendice 18 - Temperaturas máximas e mínimas do experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

Idade aves, dias	T Máxima I	T Mínima	Idade aves, dias	T Máxima	T Mínima
1	31	29	25	33	23
2	34	30	26	32	23
3	35	27	27	32	28
4	31	28	28	32	28
5	31	26	29	33	23
6	30	26	30	31	28
7	30	26	31	30	22
8	29	25	32	30	21
9	28	24	33	29	22
10	25	24	34	29	27
11	23	25	35	33	23
12	24	24	36	32	22
13	26	23	37	30	22
14	24	23	38	32	22
15	25	23	39	31	23
16	24	21	40	32	25
17	24	22	41	30	22
18	24	22	42	31	22
19	25	22	43	29	23
20	25	23	44	27	23
21	28	24	45	29	21
22	26	22	46	31	21
23	33	29	47	31	21
24	29	28	48	30	21

Apêndice nº 19 - Acompanhamento das variações de temperatura diárias no período de 22/11 a 05/12/06 através do dispositivo Hobo no experimento “Influência da fonte orgânica ou inorgânica de selênio na imunidade de frangos de corte submetidos a estímulo imunológico”

		8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00	21:00	22:00	23:00
Data	22/11/06																
Temp, °C		22.86	22.48	23.24	27.12	29.1	30.31	30.31	30.71	30.71	28.7	27.52	26.34	25.95	25.56	25.17	25.56
Data	23/11/06																
Temp, °C		24.79	24.79	24.79	25.56	27.12	28.31	29.9	29.9	29.9	29.1	28.31	26.73	25.17	24.01	23.24	22.86
Data	24/11/06																
Temp, °C		22.48	23.63	24.4	27.52	29.5	30.71	28.31	31.12	30.31	29.5	27.91	28.7	28.31	25.56	24.79	24.01
Data	25/11/06																
Temp, °C		24.01	25.95	25.56	25.95	25.56	28.7	29.5	29.9	30.71	27.52	29.5	28.31	26.34	26.73	27.91	24.4
Data	26/11/06																
Temp, °C		24.79	24.4	24.79	24.79	27.52	28.31	29.1	29.9	29.9	29.1	29.1	27.91	25.95	25.56	25.17	25.17
Data	27/11/06																
Temp, °C		24.4	24.79	24.4	25.17	27.12	28.31	27.91	29.1	28.31	29.1	28.31	26.73	25.95	26.34	25.56	25.56
Data	28/11/06																
Temp, °C		22.09	21.71	23.63	26.73	28.7	29.1	29.9	30.71	29.9	29.9	28.7	27.52	24.4	23.63	23.63	26.34
Data	29/11/06																
Temp, °C		22.48	23.24	24.01	26.34	28.31	28.31	28.7	29.1	28.31	29.5	28.31	27.12	24.79	24.4	25.17	24.79
Data	30/11/06																
Temp, °C		25.17	23.63	24.01	23.63	23.63	24.01	24.01	24.01	25.56	25.95	24.01	23.63	24.01	24.4	24.4	24.01
Data	01/12/06																
Temp, °C		22.86	22.48	22.48	23.24	25.17	27.52	28.7	29.5	30.31	30.71	30.71	28.7	25.56	24.01	22.48	23.24
Data	02/12/06																
Temp, °C		22.09	23.24	25.95	27.12	28.31	29.5	30.31	31.52	31.93	31.52	29.5	28.7	26.34	24.79	23.63	24.01
Data	03/12/06																
Temp, °C		23.63	24.4	25.17	26.34	28.7	30.31	31.12	31.52	28.31	31.93	29.9	28.7	26.73	26.34	25.56	24.79
Data	04/12/06																
Temp, °C		24.4	25.17	25.56	25.95	29.1	30.31	31.12	30.31	30.31	30.31	30.31	28.7	25.95	25.17	23.24	23.24
Data	05/12/06																
Temp, °C		22.48	23.24	25.95	27.91	28.31	29.1	29.5	28.7	28.7	28.31	26.73	25.17				

Apêndice nº 20 - Dados originais de pesos médios (PM), consumo de ração (CR) e ganhos de peso de 1 a 21 , 22 a 36 e 1 a 36 dias (d) do experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

NVIT = nível de vitamina E; Vac = vacina contra coccidiose ; REPET = repetição

NVIT	Vac	REPET	PM	GP	CR	CA	PM	GP	CR	CA	GP	CR	CA
			21 d	1 a 21d	1 a 21 d	1 a 21 d	36 d	21 a 36 d	21 a 36 d	21 a 36 d	1 a 36 d	1 a 36 d	1 a 36 d
30	sim	1	1,034	0,990	1,316	1,33	2,276	1,227	2,181	1,78	2,217	3,497	1,58
30	sim	2	1,046	1,002	1,368	1,37	2,318	1,288	2,266	1,76	2,289	3,635	1,59
30	sim	3	1,097	1,052	1,406	1,34	2,427	1,287	2,326	1,81	2,339	3,732	1,60
30	sim	4	1,087	1,042	1,416	1,36	2,312	1,190	2,239	1,88	2,231	3,655	1,64
30	sim	5	1,018	0,974	1,306	1,34	2,301	1,281	2,275	1,78	2,255	3,581	1,59
30	sim	6	1,043	0,999	1,401	1,40	2,348	1,295	2,263	1,75	2,294	3,664	1,60
65	sim	1	1,073	1,029	1,385	1,35	2,425	1,348	2,367	1,76	2,377	3,752	1,58
65	sim	2	1,033	0,989	1,205	1,22	2,359	1,286	2,292	1,78	2,275	3,497	1,54
65	sim	3	1,043	1,000	1,366	1,37	2,316	1,278	2,323	1,82	2,278	3,688	1,62
65	sim	4	0,969	0,926	1,234	1,33	2,350	1,276	2,291	1,79	2,202	3,524	1,60
65	sim	5	1,050	1,005	1,445	1,44	2,477	1,400	2,466	1,76	2,406	3,910	1,63
65	sim	6	1,008	0,964	1,340	1,39	2,349	1,349	2,367	1,75	2,313	3,708	1,60
100	sim	1	1,001	0,969	1,461	1,51	2,237	1,238	2,246	1,81	2,206	3,707	1,68
100	sim	2	1,044	1,000	1,376	1,38	2,317	1,234	2,281	1,85	2,234	3,657	1,64
100	sim	3	1,008	0,965	1,346	1,40	2,260	1,251	2,297	1,84	2,216	3,643	1,64
100	sim	4	1,044	1,000	1,339	1,34	2,347	1,304	2,370	1,82	2,304	3,709	1,61
100	sim	5	1,011	0,967	1,327	1,37	2,250	1,198	2,211	1,85	2,165	3,538	1,63
100	sim	6	1,072	1,033	1,409	1,36	2,326	1,271	2,299	1,81	2,303	3,709	1,61
30	não	1	1,104	1,074	1,502	1,40	2,344	1,258	2,233	1,77	2,332	3,735	1,60
30	não	2	1,090	1,095	1,502	1,37	2,338	1,228	2,229	1,82	2,323	3,731	1,61
30	não	3	1,098	1,064	1,423	1,34	2,437	1,279	2,390	1,87	2,343	3,813	1,63
30	não	4	1,086	1,023	1,362	1,33	2,396	1,298	2,332	1,80	2,322	3,693	1,59

30	não	5	1,033	0,989	1,405	1,42	2,478	1,209	2,303	1,90	2,199	3,708	1,69
30	não	6	1,088	1,044	1,418	1,36	2,376	1,293	2,358	1,82	2,337	3,776	1,62
65	não	1	1,027	0,982	1,380	1,40	2,291	1,285	2,292	1,78	2,267	3,671	1,62
65	não	2	1,042	1,026	1,398	1,36	2,345	1,301	2,358	1,81	2,327	3,755	1,61
65	não	3	1,055	1,004	1,373	1,37	2,322	1,269	2,214	1,74	2,273	3,587	1,58
65	não	4	1,081	1,038	1,361	1,31	2,427	1,341	2,393	1,79	2,378	3,754	1,58
65	não	5	1,027	0,983	1,349	1,37	2,238	1,224	2,178	1,78	2,207	3,527	1,60
65	não	6	1,040	1,009	1,394	1,38	2,290	1,256	2,252	1,79	2,265	3,646	1,61
100	não	1	1,114	1,049	1,495	1,43	2,302	1,104	2,243	2,03	2,153	3,738	1,74
100	não	2	1,044	1,001	1,349	1,35	2,324	1,275	2,296	1,80	2,276	3,645	1,60
100	não	3	1,014	0,971	1,351	1,39	2,336	1,280	2,265	1,77	2,251	3,616	1,61
100	não	4	1,080	1,037	1,398	1,35	2,328	1,256	2,262	1,80	2,292	3,660	1,60
100	não	5	1,032	1,000	1,379	1,38	2,362	1,309	2,384	1,82	2,309	3,762	1,63
100	não	6	1,090	1,047	1,439	1,38	2,214	1,137	2,244	1,97	2,183	3,683	1,69

Apêndice nº 21 - Análise da variância para peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR e conversão alimentar (CA) para os períodos 1 a 21 dias, 22 a 36 dias e 1 a 36 dias das aves no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
NVIT	3	30 65 100
VACC	2	1 2

Dependent Variable: PM22D Number of observations 36

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.01269156	0.00253831	2.72	0.0382
Error	30	0.02795567	0.00093186		
Corrected Total	35	0.04064722			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PM22D Mean
0.312237	2.905269	0.030526	1.050722

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00626422	0.00313211	3.36	0.0482
VACC	1	0.00598044	0.00598044	6.42	0.0168
NVIT*VACC	2	0.00044689	0.00022344	0.24	0.7883

NVIT	PM22D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
30	1.06866667	0.00881219	<.0001	1
65	1.03733333	0.00881219	<.0001	2
100	1.04616667	0.00881219	<.0001	3

VACC	PM22D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	1.03783333	0.00719512	<.0001	0.0168
2	1.06361111	0.00719512	<.0001	

Dependent Variable: PM36D Number of observations 36

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.05065781	0.01013156	3.34	0.0162
Error	30	0.09094183	0.00303139		

Corrected Total 35 0.14159964

R-Square Coeff Var Root MSE PM36D Mean

0.357754 2.355623 0.055058 2.337306

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.02580956	0.01290478	4.26	0.0236
VACC	1	0.00065025	0.00065025	0.21	0.6466
NVIT*VACC	2	0.02419800	0.01209900	3.99	0.0290

	NVIT	PM36D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	2.36258333	0.01589390	<.0001	1
	65	2.34908333	0.01589390	<.0001	2
	100	2.30025000	0.01589390	<.0001	3

	VACC	PM36D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
	1	2.33305556	0.01297732	<.0001	0.6466
	2	2.34155556	0.01297732	<.0001	

Dependent Variable: GP122D Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.01537033	0.00307407	3.12	0.0221
Error	30	0.02958667	0.00098622		
Corrected Total	35	0.04495700			

R-Square Coeff Var Root MSE GP122D Mean

0.341890 3.110864 0.031404 1.009500

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00713850	0.00356925	3.62	0.0391
VACC	1	0.00780278	0.00780278	7.91	0.0086
NVIT*VACC	2	0.00042906	0.00021453	0.22	0.8058

	NVIT	GP122D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	1.02900000	0.00906560	<.0001	1
	65	0.99625000	0.00906560	<.0001	2
	100	1.00325000	0.00906560	<.0001	3

	VACC	GP122D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
	1	0.99477778	0.00740204	<.0001	0.0086
	2	1.02422222	0.00740204	<.0001	

Dependent Variable: CR122D

Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.03477302	0.00695460	2.27	0.0753
Error	28	0.08593792	0.00306921		
Corrected Total	33	0.12071094			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR122D Mean
0.288069	4.025680	0.055400	1.376176

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.01488990	0.00744495	2.43	0.1068
VACC	1	0.01038801	0.01038801	3.38	0.0764
NVIT*VACC	2	0.00753880	0.00376940	1.23	0.3081

	CR122D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
NVIT				
30	1.40208333	0.01599274	<.0001	1
65	1.35250000	0.01599274	<.0001	2
100	1.37279167	0.01788042	<.0001	3
VACC				
1	1.35811111	0.01305801	<.0001	0.0764
2	1.39347222	0.01410427	<.0001	

Dependent Variable: CA122D

Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.00661422	0.00132284	0.61	0.6942
Error	28	0.06089167	0.00217470		
Corrected Total	33	0.06750588			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA122D Mean
0.097980	3.411243	0.046634	1.367059

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00294702	0.00147351	0.68	0.5160
VACC	1	0.00000577	0.00000577	0.00	0.9593
NVIT*VACC	2	0.00274702	0.00137351	0.63	0.5392

	CA122D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
NVIT				

30	1.36333333	0.01346199	<.0001	1
65	1.35750000	0.01346199	<.0001	2
100	1.38041667	0.01505096	<.0001	3

VACC	CA122D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	1.36666667	0.01099167	<.0001	0.9593
2	1.36750000	0.01187236	<.0001	

Dependent Variable: GP2236D Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.02021410	0.00404282	2.55	0.0507
Error	28	0.04442767	0.00158670		
Corrected Total	33	0.06464176			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	GP2236D Mean
0.312710	3.123326	0.039833	1.275353

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.01144805	0.00572402	3.61	0.0404
VACC	1	0.00016410	0.00016410	0.10	0.7501
NVIT*VACC	2	0.00752855	0.00376427	2.37	0.1117

NVIT	GP2236D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
30	1.26108333	0.01149892	<.0001	1
65	1.30108333	0.01149892	<.0001	2
100	1.26466667	0.01285619	<.0001	3

VACC	GP2236D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	1.27783333	0.00938883	<.0001	0.7501
2	1.27338889	0.01014110	<.0001	

Dependent Variable: CR2236D Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.02973655	0.00594731	1.47	0.2316
Error	28	0.11341642	0.00405059		
Corrected Total	33	0.14315297			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR2236D Mean
0.207726	2.770718	0.063644	2.297029

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00690113	0.00345057	0.85	0.4374
VACC	1	0.00000785	0.00000785	0.00	0.9652
NVIT*VACC	2	0.02259351	0.01129676	2.79	0.0786

	NVIT	CR2236D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	2.28291667	0.01837250	<.0001	1
	65	2.31608333	0.01837250	<.0001	2
	100	2.29287500	0.02054108	<.0001	3

	VACC	CR2236D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	2.29777778	0.01500109	<.0001	0.9652
	2	2.29680556	0.01620302	<.0001	

Dependent Variable: CA2236D Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.01626912	0.00325382	2.90	0.0312
Error	28	0.03142500	0.00112232		
Corrected Total	33	0.04769412			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA2236D Mean
0.341114	1.859347	0.033501	1.801765

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00864226	0.00432113	3.85	0.0333
VACC	1	0.00007756	0.00007756	0.07	0.7946
NVIT*VACC	2	0.00638036	0.00319018	2.84	0.0752

	NVIT	CA2236D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	1.81166667	0.00967092	<.0001	1
	65	1.77916667	0.00967092	<.0001	2
	100	1.81375000	0.01081242	<.0001	3

	VACC	CA2236D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	1.80000000	0.00789628	<.0001	0.7946
	2	1.80305556	0.00852895	<.0001	

Dependent Variable: GP136D

Number of observations 36

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.02859181	0.00571836	1.63	0.1822
Error	30	0.10519050	0.00350635		
Corrected Total	35	0.13378231			

R-Square Coeff Var Root MSE GP136D Mean
0.213719 2.601530 0.059214 2.276139

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.02254072	0.01127036	3.21	0.0543
VACC	1	0.00049136	0.00049136	0.14	0.7108
NVIT*VACC	2	0.00555972	0.00277986	0.79	0.4618

	GP136D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
NVIT				
30	2.29008333	0.01709374	<.0001	1
65	2.29733333	0.01709374	<.0001	2
100	2.24100000	0.01709374	<.0001	3
VACC				
1	2.27244444	0.01395698	<.0001	H0:LSMean1=LSMean2 0.7108
2	2.27983333	0.01395698	<.0001	

Number of observations 34

Dependent Variable: CR136D

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.01349709	0.00449903	0.51	0.6793
Error	30	0.26533365	0.00884445		
Corrected Total	33	0.27883074			

R-Square Coeff Var Root MSE CR136D Mean
0.048406 2.560379 0.094045 3.673088

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00218207	0.00109103	0.12	0.8844
VACC	1	0.01079300	0.01079300	1.22	0.2781

CR136D Standard LSMEAN

NVIT	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
30	3.68500000	0.02714844	<.0001	1
65	3.66825000	0.02714844	<.0001	2
100	3.66818452	0.02991613	<.0001	3

VACC	CR136D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	3.65588889	0.02216661	<.0001	0.2781
2	3.69173413	0.02369710	<.0001	

Dependent Variable: CA136D

Number of observations 34

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.00735490	0.00147098	2.16	0.0869
Error	28	0.01903333	0.00067976		
Corrected Total	33	0.02638824			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA136D Mean
0.278719	1.618803	0.026072	1.610588

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.00340536	0.00170268	2.50	0.0998
VACC	1	0.00001026	0.00001026	0.02	0.9031
NVIT*VACC	2	0.00313393	0.00156696	2.31	0.1184

NVIT	CA136D LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
30	1.61166667	0.00752641	<.0001	1
65	1.59750000	0.00752641	<.0001	2
100	1.62250000	0.00841478	<.0001	3

VACC	CA136D LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	1.61000000	0.00614529	<.0001	0.9031
2	1.61111111	0.00663767	<.0001	

Apêndice nº 22 - Pesos absolutos e relativos de baços e bolsas e diâmetro de bolsas em mm das aves no experimento "Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta".

Nível vit E	Vacina	repetição	AVE	Peso ave	Peso bolsa	P rel Bolsa	P baço	P Rel baço	medida bolsa, mm
30	sim	1	1	2,345	3,2	0,0140	2,7	0,0120	16
30	sim	1	2	2,229	7,1	0,0320	2,2	0,0100	19
30	sim	1	3	2,172	4,4	0,0200	2,6	0,0120	16
30	sim	2	1	2,149	4,2	0,0200	3,1	0,0140	19
30	sim	2	2	2,502	5,6	0,0220	2,6	0,0100	19
30	sim	2	3	2,356	4,9	0,0210	2,2	0,0090	16
30	sim	3	1	2,529	5,2	0,0210	2,8	0,0110	19
30	sim	3	2	2,493	4,1	0,0160	4,1	0,0160	16
30	sim	3	3	2,473	7,4	0,0300	3,5	0,0140	19
30	sim	4	1	2,441	9,4	0,0390	3,2	0,0130	22
30	sim	4	2	2,286	4,7	0,0210	3,8	0,0170	19
30	sim	4	3	2,230	4,3	0,0190	1,9	0,0090	19
30	sim	5	1	2,288	5,6	0,0240	3,1	0,0140	19
30	sim	5	2	2,339	7,3	0,0310	3,3	0,0140	22
30	sim	5	3	2,390	5,6	0,0230	3,1	0,0130	19
30	sim	6	1	2,356	4,9	0,0210	3,3	0,0140	16
30	sim	6	2	2,480	5,2	0,0210	3,0	0,0120	19
30	sim	6	3	2,383	6,9	0,0290	3,5	0,0150	19
65	sim	1	1	2,325	4,6	0,0200	1,8	0,0080	16
65	sim	1	2	2,420	3,8	0,0160	2,2	0,0090	16
65	sim	1	3	2,309	3,6	0,0160	1,9	0,0080	16
65	sim	2	1	2,322	4,7	0,0200	2,9	0,0120	19
65	sim	2	2	2,502	5,6	0,0220	2,5	0,0100	19
65	sim	2	3	2,440	5,0	0,0200	2,1	0,0090	19
65	sim	3	1	2,534	5,6	0,0220	2,5	0,0100	19
65	sim	3	2	2,321	4,3	0,0190	3,4	0,0150	19
65	sim	3	3	2,133	3,9	0,0180	2,7	0,0130	16
65	sim	4	1	2,247	7,1	0,0320	2,1	0,0090	22
65	sim	4	2	2,697	5,2	0,0190	2,7	0,0100	19
65	sim	4	3	1,776	3,8	0,0210	4,0	0,0230	16
65	sim	5	1	2,410	7,1	0,0290	2,6	0,0110	22
65	sim	5	2	2,602	3,2	0,0120	2,2	0,0080	16
65	sim	5	3	2,272	5,3	0,0230	2,4	0,0110	16
65	sim	6	1	2,398	4,3	0,0180	2,7	0,0110	19
65	sim	6	2	2,242	5,5	0,0250	2,5	0,0110	16
65	sim	6	3	2,186	4,2	0,0190	3,1	0,0140	16
100	sim	1	1	2,277	5,5	0,0240	2,1	0,0090	19
100	sim	1	2	2,185	3,0	0,0140	4,7	0,0220	16
100	sim	1	3	2,245	4,9	0,0220	2,6	0,0120	19
100	sim	2	1	2,182	5,5	0,0250	2,3	0,0110	19
100	sim	2	2	2,250	5,4	0,0240	2,8	0,0120	19
100	sim	2	3	2,458	4,3	0,0170	3,0	0,0120	19
100	sim	3	1	2,359	3,7	0,0160	2,6	0,0110	16
100	sim	3	2	2,245	5,5	0,0240	3,6	0,0160	19
100	sim	3	3	2,220	5,4	0,0240	4,2	0,0190	19
100	sim	4	1	2,191	5,7	0,0260	2,2	0,0100	19
100	sim	4	2	2,300	5,1	0,0220	2,7	0,0120	19
100	sim	4	3	2,468	6,9	0,0280	2,5	0,0100	19
100	sim	5	1	2,251	5,0	0,0220	1,6	0,0070	16
100	sim	5	2	2,413	6,1	0,0250	2,5	0,0100	19
100	sim	5	3	1,920	5,4	0,0280	3,6	0,0190	19
100	sim	6	1	2,320	4,9	0,0210	3,3	0,0140	16
100	sim	6	2	2,431	5,2	0,0210	2,5	0,0100	16
100	sim	6	3	2,366	6,6	0,0280	2,4	0,0100	16
30	não	1	1	2,161	5,4	0,0250	4,1	0,0190	19
30	não	1	2	2,288	5,1	0,0220	2,4	0,0100	22
30	não	1	3	2,177	5,7	0,0260	2,5	0,0110	19
30	não	2	1	2,241	7,0	0,0310	2,6	0,0120	22
30	não	2	2	2,467	6,0	0,0240	3,0	0,0120	22
30	não	2	3	2,357	5,3	0,0220	2,6	0,0110	19
30	não	3	1	2,645	5,2	0,0200	2,9	0,0110	19
30	não	3	2	2,519	7,7	0,0310	2,2	0,0090	22
30	não	3	3	2,297	5,4	0,0240	3,0	0,0130	19
30	não	4	1	2,292	4,0	0,0170	3,6	0,0160	19

Apêndice nº 23 - Análise da variância para pesos absolutos e relativos de baços e bolsas no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
NVIT	3	30 65 100
VACC	2	1 2

Number of observations 106

Dependent Variable: PBUR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr >
Model	5	9.8326834	1.9665367	1.59	0.1692
Error	100	123.5322222	1.2353222		
Corrected Total	105	133.3649057			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBUR Mean
0.073728	20.77844	1.111451	5.349057

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr >
NVIT	2	1.70194606	0.85097303	0.69	0.5045
VACC	1	5.38574661	5.38574661	4.36	0.0393
NVIT*VACC	2	2.66261550	1.33130775	1.08	0.3443

		Standard		LSMEAN		
	NVIT	PBUR	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
	30	5.53137255	0.18794615	<.0001		1
	65	5.25228758	0.18794615	<.0001		2
	100	5.27222222	0.18524175	<.0001		3
H0:LSMean1=						
		Standard		H0:LSMEAN=0		LSMEAN2
	VACC	PBUR	LSMEAN	Error	Pr > t	Pr > t
	1	5.12647059	0.15272489	<.0001		0.0393
	2	5.57745098	0.15272489	<.0001		

Dependent Variable: PRBUR

Number of observations 106

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr >
Model	5	0.00016987	0.00003397	1.53	0.1874
Error	100	0.00222112	0.00002221		
Corrected Total	105	0.00239099			

R-Square Coeff Var Root MSE PRBUR Mean
 0.071047 20.49916 0.004713 0.022991

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr >
NVIT	2	0.00001401	0.00000700	0.32	0.7303
VACC	1	0.00009978	0.00009978	4.49	0.0365
NVIT*VACC	2	0.00005502	0.00002751	1.24	0.2942

		Standard			LSMEAN
NVIT	PRBUR	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
30	0.02343464		0.00079695	<.0001	1
65	0.02254085		0.00079695	<.0001	2
100	0.02302778		0.00078548	<.0001	3
H0:LSMean1=					
		Standard			H0:LSMEAN=0
VACC	PRBUR	LSMEAN	Error	Pr > t	LSMean2
1	0.02203050		0.00064760	<.0001	0.0365
2	0.02397168		0.00064760	<.0001	

Dependent Variable: PBACO

Number of observations 106

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr >
Model	5	2.55793748	0.51158750	0.80	0.5509
Error	100	63.79715686	0.63797157		
Corrected Total	105	66.35509434			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PBACO Mean
0.038549	28.24066	0.798731	2.828302

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr >
NVIT	2	0.24940532	0.12470266	0.20	0.8228
VACC	1	0.09609383	0.09609383	0.15	0.6988
NVIT*VACC	2	2.21723642	1.10861821	1.74	0.1812

		Standard	LSMEAN		
NVIT	PBACO	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
30	2.89967320	0.13506536	<.0001	1	
65	2.80669935	0.13506536	<.0001	2	
100	2.78888889	0.13312187	<.0001	3	

		Standard	H0:LSMEAN=0	LSMean2	
VACC	PBACO	LSMEAN	Error	Pr > t	Pr > t
1	2.80163399	0.10975400	<.0001	0.6988	
2	2.86187364	0.10975400	<.0001		

Dependent Variable: PRBACO Number of observations 106

		Sum of			
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.00003563	0.00000713	0.54	0.7443
Error	100	0.00131580	0.00001316		
Corrected Total	105	0.00135143			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PRBACO Mean
0.026365	29.71441	0.003627	0.012208

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr >
NVIT	2	0.00000129	0.00000064	0.05	0.9523
VACC	1	0.00000035	0.00000035	0.03	0.8702
NVIT*VACC	2	0.00003388	0.00001694	1.29	0.2805

PRBACO		Standard	LSMEAN	
NVIT	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
30	0.01235294	0.00061339	<.0001	1
65	0.01208170	0.00061339	<.0001	2
100	0.01222222	0.00060457	<.0001	3
H0:LSMean1=				
PRBACO		Standard	H0:LSMEAN=0	LSMean2
VACC	LSMEAN	Error	Pr > t	Pr > t
1	0.01216122	0.00049844	<.0001	0.8702
2	0.01227669	0.00049844	<.0001	

Teste de Qui-Quadrado para Diâmetro de bolsas, em mm

Total Sample Size = 106

Summary Statistics for NVIT by diâmetro em MM

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.5235	0.4693
2	Row Mean Scores Differ	2	1.2431	0.5371
3	General Association	4	1.2579	0.8685

Statistics for Table of NVIT by diâmetro em MM

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	4	1.2699	0.8665
Likelihood Ratio Chi-Square	4	1.2664	0.8670
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	0.5235	0.4693
Phi Coefficient		0.1095	
Contingency Coefficient		0.1088	
Cramer's V		0.0774	

Summary Statistics for VACC by diâmetro em MM

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	23.9767	<.0001
2	Row Mean Scores Differ	1	23.9767	<.0001
3	General Association	2	23.9895	<.0001

Statistics for Table of VACC by diâmetro em MM

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	2	24.2180	<.0001
Likelihood Ratio Chi-Square	2	27.0624	<.0001
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	23.9767	<.0001
Phi Coefficient		0.4780	
Contingency Coefficient		0.4313	
Cramer's V		0.4780	

Apêndice nº 24 Escores de depleção de bolsas no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Nível de vit E	Vacina	Repet	Ave	escore	Vacina	Repet	Ave	escore
30	sim	1	1	1,00	não	1	1	2,00
30	sim	1	2	1,00	não	1	2	1,00
30	sim	1	3	1,00	não	1	3	1,00
30	sim	2	1	1,00	não	2	1	1,00
30	sim	2	2	1,00	não	2	2	1,00
30	sim	2	3	1,00	não	2	3	2,00
30	sim	3	1	1,00	não	3	1	2,00
30	sim	3	2	1,00	não	3	2	1,00
30	sim	3	3	1,00	não	3	3	1,00
30	sim	4	1	1,00	não	4	1	2,00
30	sim	4	2	1,00	não	4	2	2,00
30	sim	4	3	1,00	não	4	3	1,00
30	sim	5	1	1,00	não	5	1	1,00
30	sim	5	2	1,00	não	5	2	2,00
30	sim	5	3	1,00	não	5	3	2,00
30	sim	6	1	1,00	não	6	1	2,00
30	sim	6	2	1,00	não	6	2	2,00
30	sim	6	3	1,00	não	6	3	1,00
65	sim	1	1	2,00	não	1	1	1,00
65	sim	1	2	2,00	não	1	2	1,00
65	sim	1	3	2,00	não	1	3	1,00
65	sim	2	1	1,00	não	2	1	1,00
65	sim	2	2	1,00	não	2	2	1,00
65	sim	2	3	1,00	não	2	3	1,00
65	sim	3	1	1,00	não	3	1	1,00
65	sim	3	2	1,00	não	3	2	1,00
65	sim	3	3	1,00	não	3	3	1,00
65	sim	4	1	1,00	não	4	1	2,00
65	sim	4	2	2,00	não	4	2	2,00
65	sim	4	3	1,00	não	4	3	2,00
65	sim	5	1	1,00	não	5	1	3,00
65	sim	5	2	2,00	não	5	2	1,00
65	sim	5	3	2,00	não	5	3	1,00
65	sim	6	1	1,00	não	6	1	1,00
65	sim	6	2	1,00	não	6	2	3,00
65	sim	6	3	1,00	não	6	3	3,00
100	sim	1	1	1,00	não	1	1	1,00
100	sim	1	2	1,00	não	1	2	1,00
100	sim	1	3	1,00	não	1	3	1,00
100	sim	2	1	1,00	não	2	1	1,00
100	sim	2	2	1,00	não	2	2	1,00
100	sim	2	3	1,00	não	2	3	1,00
100	sim	3	1	1,00	não	3	1	1,00
100	sim	3	2	1,00	não	3	2	1,00
100	sim	3	3	1,00	não	3	3	1,00
100	sim	4	1	1,00	não	4	1	1,00
100	sim	4	2	1,00	não	4	2	1,00
100	sim	4	3	1,00	não	4	3	1,00
100	sim	5	1	1,00	não	5	1	1,00
100	sim	5	2	1,00	não	5	2	2,00
100	sim	5	3	2,00	não	5	3	2,00
100	sim	6	1	1,00	não	6	1	2,00
100	sim	6	2	2,00	não	6	2	2,00
100	sim	6	3	1,00	não	6	3	2,00

Escores: 1 < 30% de depleção linfocitária; 2, 31 a 50% e 3, 51 a 69% (Muskett, 1979)

Apêndice nº 25 Teste de χ^2 para os escores de depleção de bolsas no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Total Sample Size = 108

Summary Statistics for NVIT by ESCORE

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.2115	0.6456
2	Row Mean Scores Differ	2	3.6666	0.1599
3	General Association	4	6.7321	0.1507

Summary Statistics for VACC by ESCORE

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	7.9325	0.0049
2	Row Mean Scores Differ	1	7.9325	0.0049
3	General Association	2	7.9656	0.0186

Statistics for Table of NVIT by ESCORE

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	4	6.7950	0.1471
Likelihood Ratio Chi-Square	4	7.4000	0.1162
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	0.2115	0.6456
Phi Coefficient		0.2508	
Contingency Coefficient		0.2433	
Cramer's V		0.1774	

Statistics for Table of VACC by ESCORE

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	2	8.0400	0.0180
Likelihood Ratio Chi-Square	2	9.2796	0.0097
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	7.9325	0.0049
Phi Coefficient		0.2728	
Contingency Coefficient		0.2632	
Cramer's V		0.2728	

Apêndice nº 26 - Resultados de análise de perfil hematológico das aves aos 34 dias de idade no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Aves vacinadas contra coccidiose

Níveis de vit E	VAC	REPET	AVE	HEMAT	HB	LEUTOT	HET	EOSIN	BASOF	MONOC	LINFOC	HL
				%	g/dL	/µL sangue						
30	sim	1	1	39	5,7	10.900	4.796	218	327	1.962	3.597	1,33
30	sim	1	2	26	6,5	14.900	7.152	149	298	2.086	5.215	1,37
30	sim	1	3	31	6,3	15.800	4.740	316	158	1.264	9.322	0,51
30	sim	2	1	33	6,7	10.000	2.800	1.200	500	700	4.800	0,58
30	sim	2	2	29	6,0	14.400	2.880	288	1.296	1.008	8.928	0,32
30	sim	2	3	32	7,3	10.000	2.400	100	1.000	600	5.900	0,41
30	sim	3	1	26	5,5	13.100	3.144	786	393	786	7.991	0,39
30	sim	3	2	29	6,1	17.500	7.875	350	875	1.925	6.475	1,22
30	sim	3	3	31	6,6	19.000	7.030	380	1.520	3.610	6.460	1,09
30	sim	4	1	33	7,3	17.000	6.800	170	680	1.020	8.330	0,82
30	sim	4	2	30	6,8	16.100	3.864	966	322	1.127	9.821	0,39
30	sim	4	3	31	6,3	21.000	6.930	420	210	1.470	11.970	0,58
30	sim	5	1	31	6,7	16.100	3.059	322	322	1.610	10.787	0,28
30	sim	5	2	32	7,0	14.700	4.557	441	1.029	1.176	7.497	0,61
30	sim	5	3	38	8,6	16.800	6.048	336	504	4.368	5.544	1,09
30	sim	6	1	31	6,8	18.200	4.186	728	910	1.456	10.920	0,38
30	sim	6	2	32	7,2	15.400	4.312	1.078	1.078	924	8.008	0,54
30	sim	6	3	30	6,9	18.900	3.780	378	2.457	2.079	10.206	0,37
65	sim	1	1	32	6,8	11.600	2.204	812	464	812	7.308	0,30
65	sim	1	2	31	5,8	21.400	4.280	642	856	2.568	13.054	0,33
65	sim	1	3	30	6,5	16.800	5.712	168	504	1.344	9.072	0,63
65	sim	2	1	28	7,1	14.700	2.352	588	882	1.617	9.261	0,25
65	sim	2	2	32	7,3	15.800	3.634	474	948	2.212	8.532	0,43
65	sim	2	3	35	7,8	16.500	5.115	165	990	2.310	7.920	0,65
65	sim	3	1	33	7,3	16.500	4.290	825	660	1.485	9.240	0,46
65	sim	3	2	37	6,7	15.800	6.004	316	790	2.370	6.320	0,95
65	sim	3	3	32	6,7	11.200	2.240	224	224	896	7.616	0,29
65	sim	4	1	30	5,9	15.100	1.963	302	906	1.812	10.117	0,19
65	sim	4	2	32	5,6	16.800	3.864	1.176	168	1.848	9.744	0,40
65	sim	4	3	30	5,3	15.800	4.582	948	948	1.106	8.216	0,56
65	sim	5	1	33	7,3	14.900	3.278	447	447	1.341	9.387	0,35
65	sim	5	2	33	7,0	13.100	2.358	917	655	1.572	7.598	0,31
65	sim	5	3	31	6,9	13.500	3.375	270	270	1.620	7.965	0,42
65	sim	6	1	32	6,9	13.100	2.358	131	262	1.441	8.908	0,26
65	sim	6	2	32	5,6	13.500	2.700	270	1.350	1.350	7.830	0,34
65	sim	6	3	32	6,7	15.800	2.370	158	474	1.106	11.692	0,20
100	sim	1	1	33	6,0	15.300	5.661	765	765	1.989	6.120	0,93
100	sim	1	2	33	6,1	12.500	4.125	375	625	1.000	6.375	0,65
100	sim	1	3	30	5,6	16.500	5.280	330	495	1.815	8.580	0,62
100	sim	2	1	34	7,6	12.000	3.120	240	360	1.200	7.080	0,44
100	sim	2	2	31	7,3	9.500	1.805	95	570	475	6.555	0,28
100	sim	2	3	29	6,3	18.500	9.990	370	185	2.960	4.995	2,00
100	sim	3	1	33	6,9	21.600	5.616	0	0	3.888	12.096	0,46
100	sim	3	2	36	8,2	14.000	2.800	280	700	1.680	8.540	0,33
100	sim	3	3	31	6,8	14.600	3.942	0	438	1.752	8.468	0,47
100	sim	4	1	33	6,8	15.500	3.410	775	1.395	1.240	8.680	0,39
100	sim	4	2	31	6,1	23.100	7.854	924	693	3.927	9.702	0,81
100	sim	4	3	32	7,3	14.400	3.456	288	432	1.440	8.784	0,39
100	sim	5	1	34	6,9	15.100	2.718	453	302	1.812	9.815	0,28
100	sim	5	2	30	6,8	13.400	3.082	670	134	1.072	8.442	0,37
100	sim	5	3	32	6,8	12.600	2.520	378	630	882	8.190	0,31
100	sim	6	1	34	7,5	16.900	4.732	507	676	1.690	9.295	0,51
100	sim	6	2	33	7,6	19.300	4.246	193	1.351	1.158	12.352	0,34
100	sim	6	3	32	7,2	16.100	3.703	483	322	1.610	9.982	0,37

Hemat=hematócrito; Hb= hemoglobina; LeuTot= leucócitos totais; Het= heterófilos; Eosin= eosinófilos; basof= basófilos; Monoc=monócitos; Linfoc= linfócitos e H/L=relação heterófilo/linfócito

Apêndice nº 27 - Resultados de análise de perfil hematológico das aves aos 34 dias de idade no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta” (continuação....)

Aves não vacinadas contra coccidiose

Níveis de vit E	VAC	REPET	AVE	HEMAT	HB	LEUTOT	HET	EOSIN	BASOF	MONOC	LINFOC	HL
				%	g/dL	/µL sangue						
30	não	1	1	32	7,2	15.800	3.950	632	632	474	10.112	0,39
30	não	1	2	35	7,4	12.700	4.318	127	254	2.540	5.461	0,79
30	não	1	3	34	7,5	17.900	5.012	0	716	1.253	10.919	0,46
30	não	2	1	33	7,2	15.800	5.846	474	316	1.106	8.058	0,73
30	não	2	2	32	7,0	14.900	5.066	1.639	298	1.341	6.556	0,77
30	não	2	3	33	7,0	13.500	3.645	540	1.215	810	7.290	0,50
30	não	3	1	32	6,5	14.500	3.480	1.015	725	1.450	7.830	0,44
30	não	3	2	33	7,2	17.500	5.250	175	700	2.625	8.750	0,60
30	não	3	3	32	7,3	14.000	2.800	420	560	840	9.380	0,30
30	não	4	1	36	8,1	14.600	4.818	292	730	2.190	6.570	0,73
30	não	4	2	33	7,2	14.900	5.811	596	596	1.788	6.109	0,95
30	não	4	3	37	8,0	16.200	4.374	810	486	1.458	9.072	0,48
30	não	5	1	29	6,2	15.300	4.590	459	1.071	1.683	7.497	0,61
30	não	5	2	35	7,5	9.600	2.304	384	288	768	5.856	0,39
30	não	5	3	34	7,5	16.600	7.470	0	498	2.158	6.474	1,15
30	não	6	1	35	7,7	10.500	2.730	105	420	840	6.405	0,43
30	não	6	2	33	7,3	13.100	2.751	262	655	1.048	8.384	0,33
30	não	6	3	36	7,8	14.900	2.682	745	596	1.341	9.536	0,28
65	não	1	1	35	7,6	18.400	4.416	736	920	3.864	8.464	0,52
65	não	1	2	33	7,3	17.000	5.270	340	680	1.020	9.690	0,54
65	não	1	3	30	6,4	12.700	3.556	0	254	1.651	7.239	0,49
65	não	2	1	31	6,6	14.900	3.427	1.043	894	745	8.791	0,39
65	não	2	2	32	7,0	13.500	5.670	135	675	2.430	4.590	1,24
65	não	2	3	35	7,3	13.100	4.192	524	524	1.703	6.157	0,68
65	não	3	1	32	6,7	15.100	3.775	906	755	3.020	6.644	0,57
65	não	3	2	32	7,3	9.900	2.277	495	198	1.386	5.544	0,41
65	não	3	3	33	7,0	16.000	4.960	0	800	2.240	8.000	0,62
65	não	4	1	39	8,3	14.500	5.655	145	435	2.175	6.090	0,93
65	não	4	2	29	6,3	13.500	4.050	1.080	540	675	7.155	0,57
65	não	4	3	34	7,7	11.400	3.078	228	798	912	6.384	0,48
65	não	5	1	30	6,5	15.300	4.284	306	612	1.071	9.027	0,47
65	não	5	2	32	6,3	12.700	4.572	1.778	254	1.016	5.080	0,90
65	não	5	3	32	6,9	11.800	3.658	590	354	472	6.726	0,54
65	não	6	1	32	7,4	14.900	3.129	149	745	1.341	9.536	0,33
65	não	6	2	36	7,8	14.400	4.320	432	288	1.872	7.488	0,58
65	não	6	3	34	7,5	16.600	5.146	0	332	2.158	8.964	0,57
100	não	1	1	35	7,6	17.000	7.310	680	680	2.380	5.950	1,23
100	não	1	2	34	6,9	12.300	3.690	615	984	1.968	5.043	0,73
100	não	1	3	38	7,6	13.500	3.645	540	405	675	8.235	0,44
100	não	2	1	30	6,5	16.600	5.478	332	830	1.328	8.632	0,63
100	não	2	2	27	6,0	11.500	4.140	230	230	575	6.325	0,65
100	não	2	3	34	7,1	14.600	3.212	584	1.606	1.606	7.592	0,42
100	não	3	1	34	7,3	9.500	2.660	475	190	1.045	5.130	0,52
100	não	3	2	33	7,3	13.400	2.010	134	0	1.340	9.916	0,20
100	não	3	3	31	6,6	16.600	5.644	498	664	1.992	7.802	0,72
100	não	4	1	32	6,5	12.700	4.191	889	381	1.143	6.096	0,69
100	não	4	2	37	7,3	20.000	5.000	200	1.200	2.600	11.000	0,45
100	não	4	3	34	8,0	9.200	920	552	828	1.472	5.428	0,17
100	não	5	1	34	7,4	13.600	4.352	408	544	1.088	7.208	0,60
100	não	5	2	34	7,2	15.300	4.284	612	306	2.295	7.803	0,55
100	não	5	3	35	7,5	10.900	2.725	436	654	981	6.104	0,45
100	não	6	1	35	7,6	14.900	5.811	298	745	1.490	6.556	0,89
100	não	6	3	34	7,0	7.900	1.659	158	316	1.185	4.582	0,36

Apêndice nº 28 - Análise da variância de perfil hematológico das aves aos 34 dias de idade no experimento “Níveis “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
NVIT	3	30 65 100
VACC	2	1 2

Number of observations 106
The SAS System

Dependent Variable: HEMATOCR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	62.1777358	20.7259119	3.68	0.0145
Error	102	573.8600000	5.6260784		
Corrected Total	105	636.0377358			

R-Square 0.097758
Coeff Var 7.283464
Root MSE 2.371936
HEMATOCR Mean 32.56604

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	6.03173789	3.01586895	0.54	0.5867
VACC	1	57.11385621	57.11385621	10.15	0.0019

	NVIT	HEMATOCR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	32.4444444	0.3953226	<.0001	1
	65	32.3888889	0.3953226	<.0001	2
	100	32.9255556	0.4070095	<.0001	3

	VACC	HEMATOCR LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	31.8518519	0.3227795	<.0001	0.0019
	2	33.3207407	0.3291718	<.0001	

Dependent Variable: HB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	5.60790818	1.86930273	5.05	0.0027
Error	102	37.77473333	0.37034052		
Corrected Total	105	43.38264151			

R-Square
Coeff Var
Root MSE
HB Mean

	0.129266	8.762150	0.608556	6.945283		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
NVIT	2	0.40033077	0.20016538	0.54	0.5841	
VACC	1	5.23922092	5.23922092	14.15	0.0003	

	NVIT	HB LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	6.99722222	0.10142602	<.0001	1
	65	6.86388889	0.10142602	<.0001	2
	100	6.98955556	0.10442447	<.0001	3

	VACC	HB LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	6.72777778	0.08281400	<.0001	0.0003
	2	7.17266667	0.08445404	<.0001	

Dependent Variable: LEUTOT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	42908857.3	14302952.4	1.95	0.1258
Error	102	746919538.9	7322740.6		
Corrected Total	105	789828396.2			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LEUTOT Mean
0.054327	18.25972	2706.056	14819.81

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	3451750.28	1725875.14	0.24	0.7905
VACC	1	39679202.94	39679202.94	5.42	0.0219

	NVIT	LEUTOT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	15058.3333	451.0094	<.0001	1
	65	14655.5556	451.0094	<.0001	2
	100	14705.1667	464.3426	<.0001	3

	VACC	LEUTOT LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	LSMean2 Pr > t
	1	15418.5185	368.2476	<.0001	0.0219
	2	14194.1852	375.5404	<.0001	

Dependent Variable: HETER

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	8826119.5	2942039.8	1.27	0.2891
Error	102	236508140.0	2318707.3		
Corrected Total	105	245334259.4			

R-Square Coeff Var Root MSE HETER Mean
 0.035976 36.25263 1522.730 4200.330

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	8823281.882	4411640.941	1.90	0.1544
VACC	1	2230.740	2230.740	0.00	0.9753

	NVIT	HETER LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	4534.72222	253.78837	<.0001	1
	65	3836.50000	253.78837	<.0001	2
	100	4231.23000	261.29112	<.0001	3

	VACC	HETER LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	4205.40741	207.21733	<.0001	0.9753
	2	4196.22741	211.32105	<.0001	

Dependent Variable: EOSIN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	117903.83	39301.28	0.33	0.8006
Error	102	11995324.66	117601.22		
Corrected Total	105	12113228.49			

R-Square Coeff Var Root MSE EOSIN Mean
 0.009733 73.82935 342.9303 464.4906

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	108560.9975	54280.4987	0.46	0.6316
VACC	1	7687.0447	7687.0447	0.07	0.7987

	NVIT	EOSIN LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	480.583333	57.155058	<.0001	1
	65	492.222222	57.155058	<.0001	2
	100	418.589444	58.844733	<.0001	3

	VACC	EOSIN LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	LSMean2 Pr > t
	1	455.277778	46.666909	<.0001	0.7987
	2	472.318889	47.591096	<.0001	

Dependent Variable: BASOF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	353102.82	117700.94	0.82	0.4848
Error	102	14610023.53	143235.52		
Corrected Total	105	14963126.35			

R-Square Coeff Var Root MSE BASOF Mean
0.023598 60.50960 378.4647 625.4623

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	205851.3750	102925.6875	0.72	0.4899
VACC	1	153829.8981	153829.8981	1.07	0.3025

	NVIT	BASOF LSMEAN	Standard Error	LSMEAN Pr > t	Number
	30	684.305556	63.077449	<.0001	1
	65	607.111111	63.077449	<.0001	2
	100	580.346111	64.942209	<.0001	3

	VACC	BASOF LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
	1	662.037037	51.502521	<.0001	0.3025
	2	585.804815	52.522472	<.0001	

Dependent Variable: MONOC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	730922.48	243640.83	0.40	0.7539
Error	102	62270097.14	610491.15		
Corrected Total	105	63001019.62			

R-Square Coeff Var Root MSE MONOC Mean
0.011602 49.08667 781.3393 1591.755

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	237266.3636	118633.1818	0.19	0.8237
VACC	1	484740.1203	484740.1203	0.79	0.3750

	NVIT	MONOC LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	1524.55556	130.22322	<.0001	1
	65	1626.69444	130.22322	<.0001	2
	100	1621.93167	134.07301	<.0001	3

VACC	MONOC LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	1658.72222	106.32682	<.0001	0.3750
2	1523.39889	108.43250	<.0001	

Dependent Variable: LINFOC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	28930364.7	9643454.9	2.87	0.0403
Error	102	343285783.9	3365546.9		
Corrected Total	105	372216148.6			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LINFOC Mean
0.077725	23.11155	1834.543	7937.774

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	1488080.03	744040.02	0.22	0.8020
VACC	1	27574510.80	27574510.80	8.19	0.0051

	NVIT	LINFOC LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	7834.16667	305.75712	<.0001	1
	65	8093.02778	305.75712	<.0001	2
	100	7853.06944	314.79622	<.0001	3

VACC	LINFOC LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
1	8437.07407	249.64964	<.0001	0.0051
2	7416.43519	254.59368	<.0001	

Dependent Variable: HL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.74075059	0.14815012	1.77	0.1257
Error	100	8.36554375	0.08365544		
Corrected Total	105	9.10629434			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HL Mean
0.081345	50.89416	0.289232	0.568302

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	0.27778025	0.13889012	1.66	0.1953
VACC	1	0.04929457	0.04929457	0.59	0.4445
NVIT*VACC	2	0.41405136	0.20702568	2.47	0.0893

	NVIT	HL LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
	30	0.62805556	0.04820542	<.0001	1
	65	0.50416667	0.04820542	<.0001	2
	100	0.57420139	0.04968901	<.0001	3

	VACC	HL LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
	1	0.54722222	0.03935956	<.0001	0.4445
	2	0.59039352	0.04017118	<.0001	

Apêndice nº29 - Títulos de anticorpos contra Doença de New Castle no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Níveis de vit E	Vacina	REPET	AVE	COLETA	TITULO	Níveis de vit E	Vacina	REPET	AVE	COLETA	TITULO
30	sim	1	1	1	16,00	30	não	1	1	1	32,00
30	sim	1	1	2	128,00	30	não	1	1	2	128,00
30	sim	1	1	3	64,00	30	não	1	1	3	32,00
30	sim	1	2	1	64,00	30	não	1	2	1	32,00
30	sim	1	2	2	256,00	30	não	1	2	2	32,00
30	sim	1	2	3	64,00	30	não	1	2	3	32,00
30	sim	1	3	1	8,00	30	não	1	3	1	32,00
30	sim	1	3	2	2048,00	30	não	1	3	2	512,00
30	sim	1	3	3	128,00	30	não	1	3	3	128,00
30	sim	2	1	1	64,00	30	não	2	1	1	16,00
30	sim	2	1	2	32,00	30	não	2	1	2	32,00
30	sim	2	1	3	128,00	30	não	2	1	3	64,00
30	sim	2	2	1	32,00	30	não	2	2	1	128,00
30	sim	2	2	2	128,00	30	não	2	2	2	1024,00
30	sim	2	2	3	32,00	30	não	2	2	3	64,00
30	sim	2	3	1	128,00	30	não	2	3	1	32,00
30	sim	2	3	2	256,00	30	não	2	3	2	1024,00
30	sim	2	3	3	64,00	30	não	2	3	3	64,00
30	sim	3	1	1	128,00	30	não	3	1	1	128,00
30	sim	3	1	2	64,00	30	não	3	1	2	1024,00
30	sim	3	1	3	32,00	30	não	3	1	3	256,00
30	sim	3	2	1	64,00	30	não	3	2	1	64,00
30	sim	3	2	2	256,00	30	não	3	2	2	1024,00
30	sim	3	2	3	128,00	30	não	3	2	3	128,00
30	sim	3	3	1	16,00	30	não	3	3	1	16,00
30	sim	3	3	2	64,00	30	não	3	3	2	128,00
30	sim	3	3	3	64,00	30	não	3	3	3	32,00
30	sim	4	1	1	16,00	30	não	4	1	1	128,00
30	sim	4	1	2	16,00	30	não	4	1	2	256,00
30	sim	4	1	3	64,00	30	não	4	1	3	128,00
30	sim	4	2	1	32,00	30	não	4	2	1	32,00
30	sim	4	2	2	128,00	30	não	4	2	2	256,00
30	sim	4	2	3	64,00	30	não	4	2	3	64,00
30	sim	4	3	1	128,00	30	não	4	3	1	32,00
30	sim	4	3	2	4096,00	30	não	4	3	2	1024,00
30	sim	4	3	3	256,00	30	não	4	3	3	128,00
30	sim	5	1	1	128,00	30	não	5	1	1	8,00
30	sim	5	1	2	256,00	30	não	5	1	2	128,00
30	sim	5	1	3	256,00	30	não	5	1	3	32,00
30	sim	5	2	1	8,00	30	não	5	2	1	16,00
30	sim	5	2	2	128,00	30	não	5	2	2	1024,00
30	sim	5	2	3	64,00	30	não	5	2	3	256,00
30	sim	5	3	1	128,00	30	não	5	3	1	128,00
30	sim	5	3	2	32,00	30	não	5	3	2	1024,00
30	sim	5	3	3	64,00	30	não	5	3	3	128,00
30	sim	6	1	1	256,00	30	não	6	1	1	32,00
30	sim	6	1	2	256,00	30	não	6	1	2	512,00
30	sim	6	1	3	128,00	30	não	6	1	3	128,00
30	sim	6	2	1	32,00	30	não	6	2	1	16,00
30	sim	6	2	2	128,00	30	não	6	2	2	512,00
30	sim	6	2	3	128,00	30	não	6	2	3	256,00
30	sim	6	3	1	32,00	30	não	6	3	1	16,00
30	sim	6	3	2	1024,00	30	não	6	3	2	256,00
30	sim	6	3	3	128,00	30	não	6	3	3	128,00
65	sim	1	1	1	32,00	65	não	1	1	1	64,00
65	sim	1	1	2	512,00	65	não	1	1	2	128,00
65	sim	1	1	3	64,00	65	não	1	1	3	64,00
65	sim	1	2	1	64,00	65	não	1	2	1	
65	sim	1	2	2	512,00	65	não	1	2	2	128,00
65	sim	1	2	3	128,00	65	não	1	2	3	128,00
65	sim	1	3	1	32,00	65	não	1	3	1	32,00
65	sim	1	3	2	64,00	65	não	1	3	2	128,00
65	sim	1	3	3	32,00	65	não	1	3	3	64,00

Apêndice n° 30 - Títulos de anticorpos contra Doença de New Castle convertidos em \log^2 no experimento "Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta".

Coletas: 1= 8 dias após 1ª dose da vacina; coleta 2= 14 dias após 1ª dose e coleta 3= 22 dias após 1ª dose e 8 dias após 2ª dose ; "vacina" na tabela se refere à vacina contra coccidiose

Níveis de vit E	Vacina	REPET	AVE	COLETA	TITULO, log2	Níveis de vit E	Vacina	REPET	AVE	COLETA	TITULO, log2
30	sim	1	1	1	4,00	30	não	1	1	1	5,00
30	sim	1	1	2	7,00	30	não	1	1	2	7,00
30	sim	1	1	3	6,00	30	não	1	1	3	5,00
30	sim	1	2	1	6,00	30	não	1	2	1	5,00
30	sim	1	2	2	8,00	30	não	1	2	2	5,00
30	sim	1	2	3	6,00	30	não	1	2	3	5,00
30	sim	1	3	1	3,00	30	não	1	3	1	5,00
30	sim	1	3	2	11,00	30	não	1	3	2	9,00
30	sim	1	3	3	7,00	30	não	1	3	3	7,00
30	sim	2	1	1	6,00	30	não	2	1	1	4,00
30	sim	2	1	2	5,00	30	não	2	1	2	5,00
30	sim	2	1	3	7,00	30	não	2	1	3	6,00
30	sim	2	2	1	5,00	30	não	2	2	1	7,00
30	sim	2	2	2	7,00	30	não	2	2	2	10,00
30	sim	2	2	3	5,00	30	não	2	2	3	6,00
30	sim	2	3	1	7,00	30	não	2	3	1	5,00
30	sim	2	3	2	8,00	30	não	2	3	2	10,00
30	sim	2	3	3	6,00	30	não	2	3	3	6,00
30	sim	3	1	1	7,00	30	não	3	1	1	7,00
30	sim	3	1	2	6,00	30	não	3	1	2	10,00
30	sim	3	1	3	5,00	30	não	3	1	3	8,00
30	sim	3	2	1	6,00	30	não	3	2	1	6,00
30	sim	3	2	2	8,00	30	não	3	2	2	10,00
30	sim	3	2	3	7,00	30	não	3	2	3	7,00
30	sim	3	3	1	4,00	30	não	3	3	1	4,00
30	sim	3	3	2	6,00	30	não	3	3	2	7,00
30	sim	3	3	3	6,00	30	não	3	3	3	5,00
30	sim	4	1	1	4,00	30	não	4	1	1	7,00
30	sim	4	1	2	4,00	30	não	4	1	2	8,00
30	sim	4	1	3	6,00	30	não	4	1	3	7,00
30	sim	4	2	1	5,00	30	não	4	2	1	5,00
30	sim	4	2	2	7,00	30	não	4	2	2	8,00
30	sim	4	2	3	6,00	30	não	4	2	3	6,00
30	sim	4	3	1	7,00	30	não	4	3	1	5,00
30	sim	4	3	2	12,00	30	não	4	3	2	10,00
30	sim	4	3	3	8,00	30	não	4	3	3	7,00
30	sim	5	1	1	7,00	30	não	5	1	1	3,00
30	sim	5	1	2	8,00	30	não	5	1	2	7,00
30	sim	5	1	3	8,00	30	não	5	1	3	5,00
30	sim	5	2	1	3,00	30	não	5	2	1	4,00
30	sim	5	2	2	7,00	30	não	5	2	2	10,00
30	sim	5	2	3	6,00	30	não	5	2	3	8,00
30	sim	5	3	1	7,00	30	não	5	3	1	7,00
30	sim	5	3	2	5,00	30	não	5	3	2	10,00
30	sim	5	3	3	6,00	30	não	5	3	3	7,00
30	sim	6	1	1	8,00	30	não	6	1	1	5,00
30	sim	6	1	2	8,00	30	não	6	1	2	9,00
30	sim	6	1	3	7,00	30	não	6	1	3	7,00
30	sim	6	2	1	5,00	30	não	6	2	1	4,00
30	sim	6	2	2	7,00	30	não	6	2	2	9,00
30	sim	6	2	3	7,00	30	não	6	2	3	8,00
30	sim	6	3	1	5,00	30	não	6	3	1	4,00
30	sim	6	3	2	10,00	30	não	6	3	2	8,00
30	sim	6	3	3	7,00	30	não	6	3	3	7,00
65	sim	1	1	1	5,00	65	não	1	1	1	6,00
65	sim	1	1	2	9,00	65	não	1	1	2	7,00
65	sim	1	1	3	6,00	65	não	1	1	3	6,00
65	sim	1	2	1	6,00	65	não	1	2	1	-
65	sim	1	2	2	9,00	65	não	1	2	2	7,00
65	sim	1	2	3	7,00	65	não	1	2	3	7,00
65	sim	1	3	1	5,00	65	não	1	3	1	5,00
65	sim	1	3	2	6,00	65	não	1	3	2	7,00
65	sim	1	3	3	5,00	65	não	1	3	3	6,00

Apêndice nº31 - Análise da variância para títulos de anticorpos contra Doença de New Castle (em \log^2) no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Number of observations 319

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: TITULO2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	17	309.5432507	18.2084265	9.57	<.0001
Error	301	572.8329248	1.9030994		
Corrected Total	318	882.3761755			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	TITULO2 Mean
0.350806	20.73844	1.379529	6.652038

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NVIT	2	4.6647695	2.3323848	1.23	0.2951
VACC	1	0.3512791	0.3512791	0.18	0.6678
NVIT*VACC	2	8.3811672	4.1905836	2.20	0.1124
COLETA	2	267.6418735	133.8209367	70.32	<.0001
NVIT*COLETA	4	1.7326060	0.4331515	0.23	0.9228
VACC*COLETA	2	3.1719701	1.5859850	0.83	0.4356
NVIT*VACC*COLETA	4	19.9276740	4.9819185	2.62	0.0353

NVIT	TITULO2 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
30	6.48958333	0.13412085	<.0001	1
65	6.76579521	0.13468320	<.0001	2
100	6.72222222	0.13274521	<.0001	3

VACC	TITULO2 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
1	6.69240196	0.10948730	<.0001	0.6678
2	6.62599855	0.10909212	<.0001	

COLETA	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
1	5.58169935	0.13339434	<.0001	1
2	7.83108660	0.13540279	<.0001	2
3	6.56481481	0.13274521	<.0001	3

Apêndice nº 32 - Controle de temperatura e umidade relativa do ar no experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

OBS: Sala 1: vacinados contra coccidiose; Sala 2: Não vacinados

Termohigrômetros instalados a partir dos 25 dias de idade das aves

SALA 1				SALA 2		SALA 1				SALA 2			
Termômetro de máxima/mínima em						Termohigrômetro T °C e UR em							
Idade aves, dias	Hora	Tmáx	Tmín	Tmáx	Tmín	Tmáx	Tmín	URMáx	UMmín	Tmáx	Tmín	URMáx	UMmín
1	08:45	28	24	32	24	-	-	-	-	-	-	-	-
2	09:40	31	28	32	29	-	-	-	-	-	-	-	-
3	08:00	32	28	31	29	-	-	-	-	-	-	-	-
4	09:45	33	30	32	30	-	-	-	-	-	-	-	-
5	09:45	32	29	32	28	-	-	-	-	-	-	-	-
6	09:40	31	29	31	29	-	-	-	-	-	-	-	-
7	10:30	31	29	31	29	-	-	-	-	-	-	-	-
8	10:22	30	29	32	29	-	-	-	-	-	-	-	-
9	11:00	30	28	31	28	-	-	-	-	-	-	-	-
10	09:20	29	28	31	29	-	-	-	-	-	-	-	-
11	10:00	29	25	31	28	-	-	-	-	-	-	-	-
12	10:00	28	25	25	22	-	-	-	-	-	-	-	-
13	09:10	27	24	24	23	-	-	-	-	-	-	-	-
14	08:30	26	24	24	24	-	-	-	-	-	-	-	-
15	10:05	26	25	26	24	-	-	-	-	-	-	-	-
16	10:10	26	24	25	24	-	-	-	-	-	-	-	-
17	08:30	28	24	26	24	-	-	-	-	-	-	-	-
18	09:30	27	24	26	24	-	-	-	-	-	-	-	-
19	11:30	25	24	25	23	-	-	-	-	-	-	-	-
20	09:31	24	23	24	22	-	-	-	-	-	-	-	-
21	11:00	24	23	25	23	-	-	-	-	-	-	-	-
22	08:45	24	22	25	23	-	-	-	-	-	-	-	-
23	09:00	25	23	24	23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	10:20	24	23	24	23	-	-	-	-	-	-	-	-
25	09:15	24	23	24	22	24	23	64	44	23	22	79	43
26	09:50	24	23	24	23	24	23	64	47	24	21	82	48
27	09:40	24	23	25	22	24	23	64	46	24	21	91	46
28	09:15	24	23	24	22	24,8	23,8	68	60	24,5	22,6	90	66
29	09:10	25	24	25	22	27,5	24,7	70	66	23,9	22,7	87	57
30	08:40	26	21	26	24	28,1	20	77	53	25,8	22,5	83	55
31	09:00	23	21	25	20	24,6	20,8	80	57	25,2	19,6	83	55
32	09:35	24	19	24	20	23,4	19,6	81	63	22,7	19,3	81	44
33	09:10	23	19	24	21	22,8	19,3	78	63	23	19	76	45
34	08:00	24	20	24	20	23,7	19,7	81	63	22,3	19,1	65	37
35	07:45	24	20	24	20	24,9	19,8	88	55	23,3	18,9	73	36
36	08:00	24	20	26	21	24,9	20,1	90	62	25,5	19,5	78	38
37	07:00	22	20			24,9	20,1	90	61				

Apêndice nº 33- Análises de teor de Vitamina E, MS e Proteína Bruta nas rações do experimento “Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta”.

Resultados das análises de teor de Vitamina E nas rações experimentais

Teor de Vitamina E em mg/kg (= UI/kg)			
Ração Inicial			
Níveis adicionados	analisados	Mínimo*	Máximo*
30	24,28	24	36
65	50,18	52	78
100	74,25	80	120
Ração Crescimento			
Níveis adicionados			
30	24,73	24	36
65	57,22	52	78
100	106,46	80	120

**análises realizadas por CBO – Assessoria e Análises, Campinas São Paulo

* segundo informação técnica da CBO, a variação aceitável para Vitamina E em rações está em torno de 20%; daí as faixas anotadas na tabela

Resultados das análises de Matéria Seca e Proteína Bruta nas rações experimentais*

	Matéria Seca (%)	Proteína Bruta (%)
Inicial		
30 mg/kg	88,12	24,00
65 mg/kg	87,77	24,63
100 mg/kg	87,80	24,70
Crescimento		
30 mg/kg	88,37	22,97
65 mg/kg	88,38	22,76
100 mg/kg	88,17	21,39

* análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFRGS conforme AOAC 1993.

Apêndice nº 35 - Metodologia de Análise Utilizada pela empresa CBO para análise de Vit E e para as rações do experimento: "Resposta de frangos de corte a estímulo imunológico mediado por diferentes níveis de vitamina E na dieta".



Determinação de vitamina E

APLICAÇÃO

Matéria - prima e produto acabado.

2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Balança analítica (exatidão 0,00001g)
- Balão âmbar de 10ml, 50ml e 100ml
- Agitador magnético
- Funil com haste
- Filtro millex
- Sistema HPLC
- Erlenmeyer 250ml

3. REAGENTES E SOLUÇÕES

- Metanol
- Padrão de Vitamina E

4. PROCEDIMENTOS

- 4.1 - Pesar aproximadamente 10mg a 35g, conforme teor suposto na amostra.
- 4.2 - Adicionar de 30 a 50ml de metanol.
- 4.3 - Deixar em banho ultra-som por 15 minutos.
- 4.4 - Filtrar em papel faixa azul quantitativo.
- 4.5 - Filtrar em millex.
- 4.6 - Cromatografar.
- 4.7 - Para padrão pesar aproximadamente 50mg em balão volumétrico âmbar 100ml e dissolver completamente.
- 4.8 - Condições cromatográficas.
 - Fase móvel : Metanol 100%
 - Comprimento de onda : 280nm
 - Coluna : RP 18 125 x 4mm (5µm)
 - Fluxo : 1ml

5. CÁLCULOS

$$\% \text{ Vitamina E} = \frac{\text{AA} \times \text{CP}}{\text{AP} \times \text{CA}} \times \text{PP}$$

Onde: AA = Área da amostra
AP = Área do padrão
CP = Concentração do padrão
CA = Concentração da amostra
PP = Pureza do padrão

6. REFERÊNCIAS NORMATIVAS

LAN, F.L.; HOLCOMB, I.J. & FUSARI, S.A. Liquid
**Chromatography Assay of Ascorbic Acid, Niacinamide, Piridoxine, Thiamine and
Riboflavin in Multivitamin – Mineral Preparation, J. Assoc. Anal. Chem. 67(5) : 1007-1**

Apêndice nº 36 - Principais especificações técnicas da Fitohemaglutinina (PHA-P® SIGMA-Aldrich) utilizada no experimento: “Efeito dos níveis de vitamina E na imunidade celular de frangos de corte vacinados contra coccidiose”



3050 Spruce Street
Saint Louis, Missouri 63103 USA
Telephone 800-325-6832 • (314) 771-6765
Fax (314) 286-7828
email: techserv@sial.com
sigmasaldrich.com

Product Information

Lectin
from *Phaseolus vulgaris*
Phytohemagglutinin PHA-P

Product Number **L 8754**
Storage Temperature 2-8 °C

Product Description
PHA-P is a mixture of PHA-E (MW = 128 kDa) and PHA-L (MW = 126 kDa).

Lectins are proteins or glycoproteins of non-immune origin that agglutinate cells and/or precipitate complex carbohydrates. Lectins are capable of binding glycoproteins even in presence of various detergents.¹ The agglutination activity of these highly specific carbohydrate-binding molecules is usually inhibited by a simple monosaccharide, but for some lectins, di, tri, and even polysaccharides are required.

Lectin PHA-P is not inhibited easily by monosaccharides, but may be inhibited by oligosaccharides.

Lectins are isolated from a wide variety of natural sources, including seeds, plant roots and bark, fungi, bacteria, seaweed and sponges, mollusks, fish eggs, body fluids of invertebrates and lower vertebrates, and from mammalian cell membranes. The precise physiological role of lectins in nature is still unknown, but they have proved to be very valuable in a wide variety of applications *in vitro*, including:

1. blood grouping and erythrocyte polyagglutination studies.
2. mitogenic stimulation of lymphocytes.
3. lymphocyte subpopulation studies.
4. fractionation of cells and other particles.
5. histochemical studies of normal and pathological conditions.

Sigma offers a range of lectins suitable for the above applications. Most Sigma lectins are highly purified by affinity chromatography, but some are offered as purified or partially purified lectins, suitable for specific applications.

References

1. Rueben, L., et al., Activities of lectins and their immobilized derivatives in detergent solutions. Implications on the use of lectin affinity chromatography for the purification of membrane glycoproteins. *Biochemistry*, **16**, 1787-1794 (1977).

Many of the lectins are available conjugated to (conjugation does not alter the specificity of the lectin):

1. fluorochromes (for detection by fluorimetry).
2. enzymes (for enzyme-linked assays).
3. insoluble matrices (for use as affinity media).

Please refer to the table for general information on the most common lectins.

Procedure

A general agglutination procedure using this lectin with 96 well plates is as follows:

1. Prepare a lectin solution of 1 mg/ml in PBS buffer, pH 6.8.
2. Pipette 50 µl of fresh PBS into each well and add 50 µl of the lectin solution into the first well.
3. Serial dilutions are made by pipetting 50 µl from each successive well into the next well.
4. Blood type A with a 2% hematocrit is used as the substrate.
5. Pipette 50 µl of blood into each well.
6. Visually determine agglutination.

Precautions and Disclaimer

For Laboratory Use Only. Not for drug, household or other uses.

Preparation Instructions

This lectin is soluble in phosphate buffered saline, pH 7.2 (1 mg/ml).

Storage/Stability

Aggregation is thought to occur in the presence of high concentrations of 2-mercaptoethanol.

IRB/MWM/JRC/NSB/SAG 11/02

Apêndice nº 37 – Valores de reação celular cutânea (CBH) e de espessuras (em mm) dos espaços interdigitais das aves avaliados no experimento “Efeito dos níveis de vitamina E na imunidade celular de frangos de corte vacinados contra coccidiose”

Níveis de vit E	Repet	Ave	*Reação Cutânea			Espessuras		
			CBH 6h	CBH 12h	CBH 24h	6h -0h	12h -0h	24h -0h
30	1	1	0,26	0,45	0,08	0,49	0,54	0,14
30	1	2	0,63	0,67	0,53	0,53	0,64	0,51
30	1	3	1,14	0,75	0,12	1,15	0,77	0,10
30	2	1	1,64	1,09	0,70	1,50	1,12	0,39
30	2	2	1,10	1,19	1,18	0,62	0,65	0,37
30	2	3	0,55	0,50	0,07	0,18	0,49	-0,42
30	3	1	0,71	0,51	0,53	0,84	0,60	0,73
30	3	2	0,17	0,52	0,21	0,25	0,51	-0,01
30	3	3	1,15	0,85	0,51	1,14	0,74	0,55
30	4	1	1,00	0,65	0,31	1,00	1,15	0,30
30	4	2	0,77	0,38	0,32	0,33	0,09	-0,06
30	4	3	0,80	0,76	0,38	1,07	0,79	0,25
30	5	1	1,08	1,31	0,46	0,80	0,93	-0,13
30	5	2	0,22	0,39	0,29	0,88	0,93	0,58
30	5	3	0,67	0,16	-0,07	1,08	0,90	0,48
30	6	1	0,67	0,86	0,54	0,64	1,11	0,82
30	6	2	0,43	0,36	-0,04	0,68	0,62	0,19
30	6	3	0,14	1,13	0,10	0,39	1,34	0,32
65	1	1	0,67	0,41	0,30	0,43	0,33	0,19
65	1	2	0,77	0,81	0,62	1,24	1,16	0,84
65	1	3	1,12	1,18	0,80	1,17	1,14	0,90
65	2	1	0,36	0,40	1,17	0,47	0,54	0,73
65	2	2	0,75	0,65	0,71	0,44	0,50	0,31
65	2	3	0,85	1,06	0,88	0,24	0,50	0,16
65	3	1	0,49	0,22	0,38	0,44	0,24	0,19
65	3	2	0,68	0,63	0,96	0,39	0,40	0,23
65	3	3	0,50	0,19	0,51	-0,02	-0,14	-0,04
65	4	1	0,09	0,34	0,15	0,86	0,80	0,38
65	4	2	0,39	0,12	-0,20	0,65	0,71	0,46
65	4	3	1,84	1,14	1,35	0,87	0,89	0,60
65	5	1	-0,32	-0,23	-0,29	0,66	0,87	0,09
65	5	2	0,51	0,72	0,48	0,46	0,55	0,41
65	5	3	0,14	0,18	0,02	0,03	0,45	0,12
65	6	1	-0,05	0,55	-0,29	0,23	1,01	0,06
65	6	2	1,32	1,18	0,71	0,85	0,88	0,22
65	6	3	-0,47	-0,21	-0,69	0,60	0,75	0,41
100	1	1	0,18	-0,31	-0,12	0,37	0,52	0,06
100	1	2	-0,05	0,57	-0,64	0,33	0,96	0,15
100	1	3	0,21	0,37	0,33	0,72	0,81	0,62
100	2	1	0,18	0,37	0,27	0,47	0,93	0,59
100	2	2	0,44	0,00	-0,01	0,64	0,24	0,32
100	2	3	0,57	0,46	0,53	0,46	0,50	0,49
100	3	1	0,16	0,20	0,27	0,66	0,39	0,40
100	3	2	1,17	1,49	0,98	0,98	1,14	0,57
100	3	3	0,05	0,00	-0,12	0,68	0,58	0,21
100	4	1	-0,43	0,00	-0,36	0,28	0,61	0,28
100	4	2	0,72	0,60	0,53	0,53	0,60	0,42
100	4	3	0,37	0,23	-0,20	0,71	0,76	0,06
100	5	1	-0,25	-0,37	-0,17	0,40	-0,05	-0,35
100	5	2	-0,43	0,14	-0,94	0,32	0,54	-0,76
100	5	3	0,47	0,37	0,22	0,86	1,00	0,65
100	6	1	1,13	0,97	0,69	0,91	0,70	0,59
100	6	2	1,12	0,39	0,24	0,77	0,29	0,28
100	6	3	1,08	1,20	0,37	0,98	1,09	0,05

Apêndice nº 38 – Normas para preparação de artigos na Revista Brasileira de Zootecnia

Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Revista Brasileira de Zootecnia

A fim de prestigiar a comunidade científica nacional, é importante que os autores citem mais artigos disponíveis na literatura brasileira.

Instruções gerais

A RBZ publica artigos científicos originais nas áreas de Aqüicultura, Forragicultura, Melhoramento, Genética e Reprodução, Monogástricos, Produção Animal, Ruminantes, e Sistemas de Produção e Agronegócio.

O envio dos manuscritos é feito exclusivamente pela *home page* da RBZ (<http://www.sbz.org.br>), link Revista, juntamente com a carta de encaminhamento, conforme instruções no link "Envie seu manuscrito".

O texto deve ser elaborado segundo as normas da RBZ e orientações disponíveis no link "Instruções aos autores".

O pagamento da taxa de tramitação (pré-requisito para emissão do número de protocolo), no valor de R\$ 30,00 (trinta reais), deverá ser realizado por meio de boleto bancário, disponível na *home page* da SBZ (<http://www.sbz.org.br>).

Uma vez aprovado o artigo, será cobrada uma taxa de publicação, que, no ano de **2008**, para associados da SBZ, será de R\$ 90,00 (noventa reais) para artigos em português e R\$ 180,00 (cento e oitenta reais) para artigos em inglês com até oito páginas no formato final. Serão cobrados ainda, por página excedente, R\$ 40,00 (quarenta reais) para artigos em português e R\$ 80,00 (oitenta reais) para artigos em inglês. Entretanto, se entre os autores (exceto co-autores que não militam na área zootécnica, desde que não sejam o primeiro autor) houver algum não associado, serão cobrados valores diferenciados (consultar link "Instruções aos autores").

No processo de publicação, os artigos técnico-científicos são avaliados por revisores *ad hoc* indicados pelo Conselho Científico, composto por especialistas com doutorado nas diferentes áreas de interesse e coordenados pela Comissão Editorial da RBZ. A política editorial da RBZ consiste em manter o alto padrão científico das publicações, por intermédio de colaboradores de renomada conduta ética e elevado nível técnico. O Editor Chefe e o Conselho Científico, em casos especiais, têm autonomia para decidir sobre a publicação do artigo.

Língua: português ou inglês

Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Resumo, Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

O manuscrito pode conter até 25 páginas, numeradas sequencialmente em algarismos arábicos.

As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: MENU ARQUIVO/ CONFIGURAR PÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../NUMERAR LINHAS), com paginação contínua e centralizada no rodapé.

Estrutura do artigo

O artigo deve ser dividido em seções com cabeçalho centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimento e Literatura Citada.

Não são aceitos cabeçalhos de terceira ordem.

Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

Título

Deve ser preciso e informativo. Quinze palavras são o ideal e 25, o máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos em crescimento. Deve apresentar a chamada "1" somente no caso de a pesquisa ter sido financiada. Não citar "parte da tese"

Autores

Deve-se listar até **seis autores**. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenuto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenuto).

Outras pessoas que auxiliaram na condução do experimento e/ou preparação/avaliação do manuscrito devem ser mencionadas em **Agradecimento**.

Digitar o nome dos autores separados por vírgula, centralizado e em negrito, com chamadas de rodapé numeradas e em sobrescrito, indicando apenas a instituição e/ou o endereço profissional dos autores. Não citar o vínculo empregatício, a profissão e a titulação dos autores. Informar o endereço eletrônico somente do responsável pelo artigo.

No **ato da publicação**, todos os autores devem estar em dia com a anuidade da SBZ do ano corrente. Se entre os autores houver algum não associado, exceto co-autores que não militam na área zootécnica, como estatísticos, químicos, entre outros (desde que não sejam o primeiro autor), serão cobrados valores diferenciados.

Resumo

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaço. As informações do resumo devem ser precisas e informativas. Resumos extensos serão devolvidos para adequação às normas.

Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução. Referências nunca devem ser citadas no resumo.

O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Abstract

Deve aparecer obrigatoriamente na segunda página e ser redigido em inglês científico, evitando-se traduções de aplicativos comerciais.

O texto deve ser justificado e digitado em espaço 1,5, começando por ABSTRACT, em parágrafo único, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Palavras-chave e Key Words

Apresentar até seis (6) palavras-chave e Key Words imediatamente após o RESUMO e ABSTRACT, respectivamente, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separado por vírgulas. Não devem conter ponto final.

Introdução

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaço. Deve-se evitar a citação de várias referências para o mesmo assunto.

Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas.

Material e Métodos

Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

Resultados e Discussão

Os resultados devem ser combinados com discussão. Dados suficientes, todos com algum índice de variação incluso, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. A discussão deve interpretar clara e concisamente os resultados e integrar resultados de literatura com os da pesquisa para proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas.

Evitar parágrafos soltos e citações pouco relacionadas ao assunto.

Conclusões

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço.

Não devem ser repetição de resultados. Devem ser dirigidas aos leitores que não são necessariamente profissionais ligados à ciência animal. Devem explicar claramente, sem abreviações, acrônimos ou citações, o que os resultados da pesquisa concluem para a ciência animal.

Agradecimento

Deve iniciar logo após as Conclusões.

Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na *home page* da RBZ, link "Instruções aos autores".

- Usar **36%**, e não 36 % (sem espaço entre o nº e %)
- Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o nº e kg, que deve vir em minúsculo)
- Usar **136,22**, e não 136.22 (usar vírgula, e não ponto)
- Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em L maiúsculo, conforme padronização internacional)
- Usar **25°C**, e não 25 °C (sem espaço entre o nº e °C)
- Usar **(P<0,05)**, e não (P < 0,05) (sem espaço antes e depois do <)
- Usar **521,79 ± 217,58**, e não 521,79±217,58 (com espaço antes e depois do ±)
- Usar **r² = 0,95**, e não r²=0,95 (com espaço antes e depois do =)
- Usar asterisco nas tabelas apenas para probabilidade de P: (*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

Deve-se evitar o uso de abreviações não consagradas e de acrônimos, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor.

Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as tabelas sejam digitadas segundo menu do Word "Inserir Tabela", em células distintas

(não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação.

Devem ser numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, devendo-se adotar as abreviaturas divulgadas oficialmente pela RBZ.

A legenda das Figuras (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

As figuras devem ser gravadas no programa Word, Excel ou Corel Draw (extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções.

Usar linhas com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras, usar diferentes efeitos de preenchimento (linhas horizontais, verticais, diagonais, pontinhos etc). Evite os padrões de cinza porque eles dificultam a visualização quando impressos.

As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas.

Não usar negrito nas figuras.

Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras devem conter vírgula, e não ponto.

Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Não fazem parte da lista de referências, sendo colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, o nome, estado e país da Instituição à qual o autor é vinculado.

Literatura Citada

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 6023).

Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções:

No menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... RECUO ESPECIAL, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros vêm seguidos de et al. As iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico.

Indica(m)-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado(s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ).

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva

A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente.

Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

Livros e capítulos de livro

Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação.

Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sine nomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.].

Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.I.: s.n.].

LINDHAL, I.L. Nutrición y alimentación de las cabras. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes**. 3.ed. Zaragoza: Acríbia, 1974. p.425-434.

NEWMANN, A.L.; SNAPP, R.R. **Beef cattle**. 7.ed. New York: John Wiley, 1997. 883p.

Teses e dissertações

Deve-se evitar a citação de teses, procurando referenciar sempre os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados. Entretanto, caso os artigos ainda não tenham sido publicados, devem-se citar os seguintes elementos: autor, título, local, universidade, ano, página e área de concentração.

CASTRO, F.B. **Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989. 123p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989.

Boletins e relatórios

BOWMAN, V.A. **Palatability of animal, vegetable and blended fats by equine**. (S.L.): Virgínia Polytechnic Institute and State University, 1979. p.133-141 (Research division report, 175).

Artigos

O nome do periódico deve ser escrito por extenso. Com vistas à padronização deste tipo de referência, não é necessário citar o local; somente volume, número, intervalo de páginas e ano.

RESTLE, J.; VAZ, R.Z.; ALVES FILHO, D.C. et al. Desempenho de vacas Charolês e Nelore destermeiradas aos três ou sete meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.499-507, 2001.

Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

CASACCIA, J.L.; PIRES, C.C.; RESTLE, J. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.468.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [1999] (CD-ROM).

Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

Na citação de material bibliográfico obtido via internet, o autor deve procurar sempre usar artigos assinados, sendo também sua função decidir quais fontes têm realmente credibilidade e confiabilidade.

Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão "Disponível em:" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Acesso em:".

NGUYEN, T.H.N.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, T.N. et al. [2003]. Effect of drenching with cooking oil on performance of local yellow cattle fed rice straw and cassava foliage. **Livestock Research for Rural Development**, v.15, n.7, 2003. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/7/nhan157.htm>> Acesso em: 28/07/2005.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral en rumiantes**. Disponível em: <http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf> Acesso em: 12/10/02.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/97.

Obtido na página da SBZ em 28/05/2008