

## **AVALIAÇÃO DE CÉLULAS LEUCOCITÁRIAS DE GALOS PESADOS ALIMENTADOS COM COPRODUTO INDUSTRIAL**

**JÚLIA NOBRE PARADA CASTRO<sup>1</sup>; CAROLINA OREQUES DE OLIVEIRA<sup>2</sup>;  
FERNANDA MEDEIROS GONÇALVES<sup>3</sup>; DENISE CALISTO BONGALHARDO<sup>4</sup>  
DÉBORA CRISTINA NICHELLE LOPES<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda em Zootecnia, UFPel – [julia.nobrecastro@gmail.com](mailto:julia.nobrecastro@gmail.com)

<sup>2</sup>Doutoranda em Produção Animal, PPGZ/UFPel – [carolina\\_Oliveira2004@hotmail.com](mailto:carolina_Oliveira2004@hotmail.com)

<sup>3</sup>Méd. Vet., Profª Assistente Tecnólogo em Gestão Ambiental, UFPel – [fmgvet@gmail.com](mailto:fmgvet@gmail.com)

<sup>4</sup>Profª. Assistente, Dep. de Fisiologia e Farmacologia, UFPel – [denisebonga@hotmail.com](mailto:denisebonga@hotmail.com)

<sup>5</sup> Profª. Adjunta A, Dep. De Zootecnia, UFPel – [dcn\\_lopes@yahoo.com.br](mailto:dcn_lopes@yahoo.com.br)

### **1. INTRODUÇÃO**

Dentro da cadeia produtiva do frango de corte os galos possuem papel importante, pois são os responsáveis pela fertilidade do plantel de matrizes, visto que o objetivo dos mesmos é fertilizar os ovos das matrizes e assim transferir sua carga genética para os futuros frangos de corte (BRANDALIZE, 2005).

Assim como a nutrição influencia a reprodução, a mesma pode desempenhar papel importante no sistema imune das aves. Dessa forma, ao fornecer mecanismos, através da nutrição, para que o sistema imunológico esteja apto a enfrentar microrganismos patogênicos, como bactérias, vírus e fungos, essas aves serão capazes de atender as exigências produtivas esperadas (CARDOSO; TESSARI, 2015). Ainda de acordo com CARDOSO; TESSARI (2015) os resíduos provenientes das agroindústrias vêm sendo estudados com o objetivo de averiguar seu potencial uso na dieta de animais.

A indústria de processamento de azeitonas, para extração do azeite, gera toneladas de resíduos líquidos e sólidos todos os anos. De acordo com MOLINA-ALCAIDE et al. (2010), de 100 kg de azeitonas se obtém somente 20 kg de azeite de oliva, gerando, em média, 80 kg de resíduos descartados devido à ausência de valor comercial para o mesmo. O óleo residual (OR) é um resíduo que está ligado a qualidade dentro da indústria. Esse resíduo é uma pequena porcentagem do azeite de oliva que por possuir pequenas partículas de polpa e caroço de azeitona não pode ser comercializado, ficando nos tanques de decantação e armazenamento do azeite de oliva sendo, posteriormente, descartado.

Segundo GONÇALVES et al. (2013), o fruto da oliveira possui em sua composição importantes nutrientes como ácidos graxos, vitaminas e compostos fenólicos que possuem ação antioxidante e antimicrobiana. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as células leucocitárias de galos pesados alimentados com óleo residual da extração de azeite de oliva.

### **2. METODOLOGIA**

O experimento foi realizado em um aviário experimental modelo *Dark House* localizado no município de Pelotas, em parceria com a Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados 20 galos domésticos de uma linhagem comercial, com 64 semanas de idade, alojados individualmente em boxes de PVC equipados com um comedouro do tipo tubular semiautomático e dois bebedouros tipo *nipple*.

Foram fornecidas duas dietas experimentais: dieta controle constituída de milho, farelo de soja e óleo de soja e a dieta teste (OR) onde o óleo de soja foi

totalmente substituído pelo óleo residual do processamento do azeite de oliva. O resíduo foi coletado em uma indústria extratora localizada no interior do Rio Grande do Sul, durante o mês de fevereiro de 2017, período correspondente a safra da cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 animais por tratamento, onde cada box contendo uma ave representou uma unidade experimental.

A coleta de sangue foi realizada as 64 semanas de idade dos animais, através a veia Ulnar, localizada ventralmente a asa das aves. Utilizando-se uma seringa de 5mL com agulha descartável (25mm x 7mm), coletou-se 2mL de sangue de cada animal e as amostras armazenadas em um tubo coletor com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético).

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Biotécnicas da Reprodução das Aves (LABRA), localizado na Universidade Federal de Pelotas, para confecção das lâminas histológicas através da técnica de esfregaço sanguíneo. Após o procedimento de coloração do esfregaço sanguíneo, definiu-se a área de contagem dos leucócitos e em objetiva de 100x realizou-se a contagem do número de células leucocitárias presentes no campo de observação (linfócitos, eosinófilos e heterófilos). Com auxílio de um contador manual de células sanguíneas, foi realizada a contagem do número de células de cada grupo até chegar à 100 células (THRALL et al., 2015). Foram obtidos os valores relativos (em %) de cada grupo sanguíneo e a relação heterófilo/linfócito foi obtida pela divisão do número heterófilos pelo número de linfócitos.

Para análise estatística, os dados foram rodados no software estatístico Statistix 8.0®. Os dados foram testados quanto a sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e aqueles que não apresentaram distribuição normal foram transformados por LOG(X). Constatando a normalidade dos mesmos, foi realizada análise de variância e suas médias foram comparadas pelo teste t de Student em nível de 5% de significância.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentadas as médias dos valores relativos (%) de linfócitos, eosinófilos, heterófilos e a relação heterófilos/linfócitos (H/L) de galos pesados alimentados com dietas contendo óleo de soja (controle) ou óleo residual do azeite de oliva (OR).

Tabela 1 – Valores relativos (em %) de células leucocitárias e a relação heterófilo/linfócitos de galos pesados alimentados com dietas controle ou contendo óleo residual (OR) da extração do azeite de oliva.

Dieta	n	Linfócitos	Eosinófilos	Heterófilos	H/L <sup>2</sup>
Controle	10	20,9 ± 1,60 <sup>a</sup>	47,4 ± 1,46 <sup>a</sup>	31,9 ± 1,75 <sup>a</sup>	1,63 ± 0,16 <sup>a</sup>
OR <sup>1</sup>	10	25,5 ± 2,68 <sup>a</sup>	50,3 ± 2,56 <sup>a</sup>	24,3 ± 2,12 <sup>b</sup>	1,06 ± 0,15 <sup>b</sup>
Valor de P		0,1417	0,3384	0,0127	0,02
CV (%) <sup>*</sup>		8,53	13,50	21,86	37,09

<sup>1</sup>Óleo Residual; <sup>2</sup>H/L = relação heterófilo/linfócito; <sup>\*</sup>CV: Coeficiente de variação

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste t de Student (p>0,05).

Conforme apresentado na tabela 1, não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis linfócitos e eosinófilos. Os valores de linfócitos estão abaixo do descrito por LUCAS; JAMROZ (1961) onde os autores descrevem que para aves saudáveis e adultas o normal seria cerca de 76%. De acordo com REECE

(2017) a concentração de linfócitos pode variar de 55 a 60%. Os valores obtidos nesse trabalho indicam que os animais poderiam estar respondendo a algum tipo de estresse. Segundo MACARI; LUQUETTI (2002), animais submetidos a estresse desencadeiam a liberação de hormônio adenocorticotrófico (ACTH), causando a redução de linfócitos circulantes no sangue.

Os valores de eosinófilos encontrados nesse trabalho ficaram acima dos valores descritos por MACARI; LATARO (2017) que citam concentração normal de eosinófilos em aves saudáveis de 1,7%. Entretanto, assim como no presente trabalho, COLÓN et al. (2015) também observaram um valor alto de eosinófilos circulantes (35,5%) em frangos de corte machos com 42 dias de idade. OLIVEIRA (2012) ao avaliar substâncias antioxidantes e antimicrobianas, observou um aumento de eosinófilos em frangos de corte com 16 e 29 dias de idade ao incluir óleo essencial de tomilho em comparação aos demais tratamentos. OLIVEIRA (2009) avaliando suplementação com vitamina E para frangos de corte aos 21 dias de idade, não obteve diferença significativa entre o tratamento teste e controle, concordando com o presente trabalho.

Para a variável heterófilos, houve diferença significativa entre os tratamentos onde a média do tratamento controle foi superior à média do tratamento OR. O valor encontrado no tratamento controle foi aproximado do valor observado por CARDOSO et al. (2003), ao avaliar parâmetros hematológicos de aves saudáveis e inoculadas com *Salmonella gallinarum*, onde o valor encontrado no grupo controle foi de 35%. No entanto, o percentual de heterófilos encontrados no tratamento OR foi similar ao descrito por LUCAS; JAMROZ (1961), onde os autores citam que para machos adultos da raça White Leghorns o parâmetro de heterófilos seria 25,8%.

Foi observado diferença significativa na relação heterófilo/linfócito (H/L) entre os dois tratamentos, onde o tratamento teste apresentou valor inferior ao tratamento controle. BEZERRA (2018) ao testar diferentes níveis de vitamina C e E, em frangos de corte fêmeas com 45 dias de idade, obteve diferença significativa na relação H/L, onde conforme a suplementação de ambas as vitaminas aumentou a relação H/L diminuiu, corroborando com o resultado do presente trabalho, onde se obteve o menor valor de H/L no tratamento com OR.

A relação H/L vem sendo utilizada como indicador de estresse crônico em frangos de corte (BORGES et al., 2003). Qualquer alteração que ocorra nas variáveis heterófilos e linfócitos afeta diretamente essa relação, como ocorreu no presente trabalho devido à diminuição de linfócitos no sangue dos animais estudados. Os resultados obtidos nessa variável confirmam que os animais estavam sofrendo algum tipo de estresse, em vista que os valores encontrados ficaram acima do encontrado na literatura para aves saudáveis, como descrito por MACARI; LUQUETTI (2002), que citam que a proporção normal dessa variável em aves domésticas é de 0,5 H/L.

#### 4. CONCLUSÕES

A utilização do óleo residual do processamento de azeite de oliva na dieta de galos, de matrizes pesadas, com 64 semanas de idade não alterou a contagem de linfócitos e eosinófilos, contudo reduziu a contagem de heterófilos e a relação heterófilo/linfócito.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEZERRA, M. B. **Adição de vitamina C e E na alimentação de frango de corte de linhagem caipira em ambiente de desafio permanente na Amazônia ocidental**. 2018. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco-AC, 2018.
- BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural** da Universidade Federal de Santa Maria, v.33, n.5, p.975-981, set./out. 2003.
- BRANDALIZE, V. H. Programa de alimentação de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. **Manejo de Matrizes de Corte**. Campinas-SP: FACTA, 2002.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N.; CASTRO, A. G. M. Estudo hematológico em aves inoculadas com *Salmonella Gallinarum*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.1, p.35-42, jan./mar., 2003.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Interação entre imunidade e nutrição das aves: Revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária** da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral de Graça, ano XXIV, n. 24, jan. 2015.
- CASTRO, J. N. P.; OLIVEIRA, C. O.; TAVARES, A. T.; ÁVILA, S. L. C.; GONÇALVES, F. M.; BONGALHARDO, D. C. Parâmetros seminais de galos pesados as 35 semanas de idade alimentados com resíduo da extração do azeite de oliva. In: **CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 16., Pelotas-RS, 2017. Anais eletrônicos... Pelotas: UFPel, 2017.
- COLÓN, B. L. A.; PINTO, C. C. R.; RUIZ, L. J. BENAVIDES, Y. M. H. Parâmetros hematológicos em pollos de engorde criados em uma granja de producción cerrada em el trópico bajo. **Rev. Med. Vet**, Bogotá (Colombia), n.29, p.33-39, enero/jun. 2015.
- LUCAS, A. M.; JAMROZ, C. **Atlas of Avian Hematology**. Washington-D.C.: USDA. Monograph, 1961.
- MACARI, M.; LATARO, R. Fisiologia cardiovascular. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2017.
- MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Fisiologia cardiovascular. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 2ed.
- MOLINA-ALCAIDE, E.; MARTÍON-GARCÍA, A. I.; YÁÑEZ-RUIZ, D. R. Los subproductos del olivar em la alimentación de rumiantes. **Informe Veterinario, Portal Veterinaria Albeitar**, n.140, p.32-34, 2010.
- OLIVEIRA, C. O. **Parâmetros reprodutivos de galos pesados alimentados com óleo residual da extração do azeite de oliva**. 2018, 54f. Dissertação (Mestre em Produção Animal – Reprodução de Aves) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.
- OLIVEIRA, J. P. O. **Avaliação de óleos essenciais, extratos vegetais e óleos funcionais em dietas de frangos de corte**. 2012, 65f. Dissertação (Mestre em Fisiologia) – Universidade Federal do Paraná.
- OLIVEIRA, M. C.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; CARDOSO, M. G. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesq. Agropec. bras.**, v.47, n.1, p.30-35, jan. 2012.
- REECE, W. O. Líquidos corporais e homeostasia. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. **Dukes/Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 2017, p.97-149, 13.ed.
- STATISTIX 8.0. Analytical Software. Tallahassee, FL, USA, 2003.
- THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T.W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2015. 2ed.