

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO NO DESEMPENHO E NA
RESPOSTA IMUNE DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

MARIANA LEMOS DE MORAES
Médica Veterinária/UFRGS

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

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2011

CIP - CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL NA PUBLICAÇÃO
Biblioteca Setorial da Faculdade de Agronomia da UFRGS

M827e Moraes, Mariana Lemos de
Efeito do ácido linoléico conjugado no desempenho e na
resposta imune de leitões recém-desmamados / Mariana
Lemos de Moraes — Porto Alegre : M. L. de Moraes, 2011.

viii, 170 f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

1. Suíno. 2. Ácido linoléico. 3. Imunidade. I. Título.

CDD: 636.4

MARIANA LEMOS DE MORAES
Medica veterinária

DISSERTAÇÃO

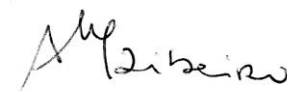
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

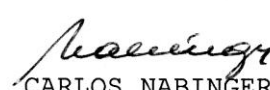
MESTRE EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil


Aprovado em: 25.02.2011
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 17.05.2011
Por



ANDRÉA MACHADO LEAL RIBEIRO
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientadora


CARLOS NABINGER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia


ALEXANDRE DE MELLO KESSLER
PPG Zootecnia/UFRGS


CLAUDIO WAGECK CANAL
VETERINARIA/UFRGS


JOSÉ ARTUR BOGO CHIES
BIOTECNOLOGIA/UFRGS


PEDRO ALBERT SELBACH
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro para a realização do projeto e pela bolsa de estudos concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS, pela estrutura e qualidade de ensino.

À minha orientadora, professora Andréa Machado Leal Ribeiro, pelos ensinamentos, incentivos, amizade e todo suporte que me foi dado, sempre com muito carinho, desde o período de Iniciação Científica.

Ao professor Alexandre de Mello Kessler, pelo aprendizado, amizade, disposição e prontidão para me auxiliar sempre que preciso.

Ao professor Antônio Mário Penz Jr., por ter me motivado a escolher a Nutrição Animal como área de atuação profissional e ser um exemplo de paixão e entusiasmo dentro da profissão.

À secretária do PPG, Ione Borcelli pelo auxílio.

Aos amigos do LEZO; Luciane Bockor, João Dionísio Henn, Maitê Vieira, Luciano Trevisan, Dóris Halfen, Felipe Peixoto, Mariane Della, Gabriel Luz, Pedro Henrique Machado, Camila Marcolla, Júlio Dadalt, Fábio Ritter, William Wesensonck, Márcia Vieira, Fernanda Butzen, Rita Silva, Marco Antônio Kunrath, Isabel Silva, Teresa Viola, Rodrigo Krás, Juliana Grandi, Raquel Labres, Thomas Gonçalves, Cátia Pinheiro, Maria Cortés e Mário Gianfelici; pelo conhecimento compartilhado, espírito de equipe e alto astral que são essenciais para realização de um trabalho alta qualidade. Em especial ao Vicente Ledur e à Manuela Fischer pela parceria nos projetos de pesquisa, amizade e cumplicidade incondicionais

Ao professor Itabajara Vaz e aos colegas Daniele Gava e Samuel Cibulski, que foram verdadeiros anjos ao me auxiliar.

Ao Eugênio Kodama, pelo amor, companheirismo e por ser a minha inspiração.

Aos meus irmãos; Patrícia Oliveira de Moraes Hock, André Luiz Oliveira de Moraes e Gabriel Lemos de Moraes; pela amizade e incentivo.

Aos meus pais, Uraci Terezinha Lemos de Moraes e José Luiz de Moraes, por me darem diariamente o maior presente que um filho pode receber de um pai: o seu exemplo.

À todos aqueles que de uma forma ou de outra, me deram estímulo durante a jornada do mestrado.

À Deus, por iluminar minha vida permitindo que eu a aproveite e a valorize ao máximo.

EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO NO DESEMPENHO E NA RESPOSTA IMUNE DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS¹

Autor: Mariana Lemos de Moraes

Orientadora: Prof. Andréa Machado Leal Ribeiro

RESUMO

Nos últimos tempos, cresceu consideravelmente o número de pesquisadores que se dedicam a estudar e desvendar lacunas ainda não esclarecidas no que se refere à interação entre a nutrição e a imunologia. Um dos grandes motivos para essa demanda é a crescente restrição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento ao mesmo tempo em que a intensificação dos sistemas de produção torna-se imperativa para aumentar a produção de alimentos no mundo. O ácido linoléico conjugado (CLA) se refere aos isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (*cis*-9, *cis*-12 18:2) com a diferença que no primeiro, as duplas ligações estão separadas apenas por uma ligação simples entre 2 carbonos. Os isômeros que recebem maior atenção são o *cis*-9, *trans*-11 e o *trans*-10, *cis*-12 CLA. Estudos têm demonstrado que estes isômeros possuem atividade nutracêutica uma vez que são capazes de melhorar os parâmetros imunológicos de diferentes espécies animais, em diversos modelos experimentais. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do CLA na resposta imune e no desempenho de leitões recém-desmamados. Para isso, foram testados 3 níveis de inclusão de CLA (0, 1 e 2%) na presença ou ausência de desafio imunológico com LPS. O nível de 1% de CLA promoveu uma maior produção de imunoglobulinas G pelos leitões, mostrando sua influência na resposta imune humoral. Entretanto, o CLA não afetou nem o desempenho e nem os outros parâmetros imunológicos testados (proliferação de linfócitos, porcentagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, proteínas plasmáticas, eritrograma, leucograma, frequência respiratória e temperatura retal após o desafio com LPS). O LPS causou estresse imunológico nos leitões desafiados, evidenciada pelo pior desempenho zootécnico, aumento da temperatura retal e frequência respiratória além de ser responsável por alterações nos valores de proteínas plasmáticas, eritrograma e leucograma. Apesar de o CLA ter se mostrado um potente estimulador do sistema imune humoral, não foi eficiente na reversão ou amenização do quadro de depressão instaurado pelo desafio imunológico com LPS.

¹Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (170p.). Fevereiro, 2011.

EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID ON PERFORMANCE AND IMMUNE RESPONSE OF WEANLING PIGLETS²

Author: Mariana Lemos de Moraes

Adviser: Prof. Andréa Machado Leal Ribeiro

ABSTRACT

In recent years, the number of researchers dedicated to study and reveal gaps that remain unclear with regard to the interaction between nutrition and immunology, increased considerably. One of the major reasons for this demand is the increasing antibiotic growth promoters restriction while the intensification of animal production systems becomes imperative to increase food production in the world. The conjugated linoleic acid (CLA) refers to the positional and geometric linoleic acid (*cis*-9, *cis*-12 18:2) isomers with the difference that in the first, the double bonds are separated only by a single bond between two carbons. The isomers that receive most attention are the *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 CLA. Trials have shown that these isomers have nutraceutical activity once they are able to improve the immunological parameters of different animal species in various experimental models. The objective of this trial was to evaluate the effect of CLA on immune response and performance of weanling piglets. For that, it were tested three CLA inclusion levels (0, 1 and 2%) in the presence or absence of LPS immunological challenge. The 1% CLA level caused a greater production of immunoglobulin G by piglets, showing its influence on humoral immune response. However, CLA did not affect neither the performance nor the other tested immune parameters (lymphocyte proliferation, the percentage of CD4⁺ and CD8⁺ cells, plasma proteins, red and white blood cells count, respiratory rate and rectal temperature after LPS challenge). LPS caused immune depression in challenged piglets, as evidenced by the worst performance, increased rectal temperature and respiratory rate besides being responsible for changes in serum proteins and red and white blood cells count. Although the CLA has proven to be a powerful humoral immune system stimulator, it was not effective in reversing or softening the depression established by the LPS immunological challenge.

²Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (170p.). February, 2011.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. O sistema imune.....	5
2.2.1.Resposta imune contra lipopolissacarídeos bacterianos (LPS).....	10
2.2. Imunologia e nutrição.....	11
2.2.3. Imunologia e ácidos graxos poliinsaturados.....	11
2.3. O ácido linoléico conjugado (CLA).....	13
2.3.1. O CLA e o sistema imune.....	16
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	20
CAPÍTULO II	
Efeito do ácido linoléico conjugado no desempenho e na resposta imune de leitões recém-desmamados	
Resumo.....	22
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos.....	25
Resultados e Discussão.....	32
Conclusões.....	45
Literatura Citada.....	44
CAPÍTULO III	
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
APÊNDICES.....	62
VITA.....	169

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo II	
Tabela 1. Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas pré-inicial e inicial do experimento com leitões recebendo diferentes níveis de inclusão de CLA (0, 1 ou 2%), desafiados ou não com LPS.....	26
Tabela 2. Efeitos do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) e da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) no desempenho de leitões recém-desmamados.....	34
Tabela 3. Efeitos da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) em leitões recém-desmamados na frequência respiratória (FR), na produção de IgG anti-BSA, na linfoproliferação (Linfop.) e na porcentagem das subpopulações linfocitárias CD4 ⁺ e CD8 ⁺	38
Tabela 4. Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) na contagem das proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina e fibrinogênio séricos aos 32 dias pós-desmame de leitões.....	42
Tabela 5. Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) no eritrograma de leitões aos 32 dias pós-desmame.....	42
Tabela 6. Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) no leucograma de leitões aos 32 dias pós-desmame.....	43

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo II	
Figura 1. Efeito do desafio com lipopolissacarídeo de <i>E. coli</i> (LPS) no consumo de ração e ganho de peso diários de leitões recém-desmamados.....	35
Figura 2. Efeito do desafio com lipopolissacarídeos de <i>E. coli</i> (LPS) na temperatura retal (TR) dos leitões ao longo dos 270 minutos pós-inoculação.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag	Antígeno
APC	célula apresentadora de antígeno
BASO	basófilos séricos
BAST	neutrófilos em bastão
BSA	albumina de soro bovino
CA	conversão alimentar
CHGM	concentração de hemoglobina globular média
CLA	ácido linoléico conjugado
COX	ciclooxigenase
CR	consumo de ração
EOS	eosinófilo
EPA	ácido eicosapentanóico
GP	ganho de peso
HB	hemoglobina
HEM	hemácia
HT	hematócrito
IG	imunoglobulina
IL	interleucina
IP	índice de proliferação
kg	quilograma
INF	interferon
LEUC	leucócitos
LINF	linfócitos
LOX	lipoxigenase
LPS	lipopolissacarídeo
LT	leucotrieno
mL	mililitro
μL	microlitro
MHC	complexo de histocompatibilidade principal
MON	monócitos
NEUT	neutrófilos
NK	natural killers
OPD	orto-fenilenodiamina
PBS	solução tampão fosfato salino
PC	peso corporal
PG	prostaglandina
PPT	proteínas plasmáticas totais
PUFA	ácido graxo poliinsaturado
Tc	linfócito T citotóxico
TCR	receptor de célula T
Th	linfócito T auxiliar
TLR	receptor tipo “toll”
TNF	fator de necrose tumoral
TR	temperatura retal
VGM	volume globular médio

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira merece um papel de destaque pela sua considerável importância econômica e por ser um mercado em franca ascensão. Os dados da ABIPECS (2010) mostram o Brasil como o 4º maior produtor mundial, apresentando um aumento de 21,0% na quantidade de carne produzida de 2002 a 2010 (dados preliminares). O país também ocupa o 4º lugar em exportações, com a previsão de participação em 12,5% do total mundial para 2010. Cerca de 50% das exportações têm a Rússia como destino. Esta é uma situação de risco, já que se este país, por qualquer motivo, cessar sua importação, o mercado brasileiro sofrerá grandes consequências. Por outro lado, as restrições sanitárias e os subsídios governamentais praticados em alguns países são alguns dos empecilhos para o aumento nas exportações brasileiras.

Os sistemas de produção de proteína animal para consumo humano tiveram um enorme avanço nas últimas décadas em decorrência do desenvolvimento das áreas de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo. Com o conhecimento nessas áreas, passou-se a adotar o sistema intensivo de produção, no qual o número de animais por unidade de área é muito maior. Essa proximidade entre os animais facilita a disseminação de patógenos no lote, podendo gerar grandes perdas econômicas. Com o intuito

de prevenir essa situação, passou-se a adicionar antimicrobianos em doses sub-terapêuticas nas rações dos animais, diminuindo consideravelmente as perdas decorrentes de desafios sanitários. Entretanto, esse costume vem sendo questionado e a restrição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento é um desafio que já vem sendo enfrentado. A resistência de bactérias causadoras de infecções em humanos a esses antimicrobianos é citada como um dos motivos para esta restrição.

Este fato gera uma situação delicada especialmente quando se trata do período pós-desmame de leitões. O desmame é considerado um dos momentos mais críticos da vida de um suíno em decorrência dos estresses ambientais e alimentares que interferem no desenvolvimento e adaptação do trato gastrointestinal (Lallès et al., 2007). Eventos ligados ao desmame incluem a mistura de animais de diferentes leitegadas, a adaptação ao novo ambiente, a ausência da mãe e principalmente o fato do desmame ser um período de condicionamento do trato digestório à troca da alimentação com o leite materno para uma ração sólida (Hou et al., 2010). Com o início da ingestão de alimento sólido, a arquitetura das vilosidades intestinais é danificada e inicia-se um processo inflamatório. Quando o alimento não é bem absorvido no trato gastrointestinal, acaba servindo como substrato para a multiplicação de bactérias patogênicas causadoras de diarreia. Além disso, o trato gastrointestinal é uma importante linha de defesa contra patógenos e quando os eventos associados ao desmame causam injúria da mucosa, podem ocorrer diarreia, mortes e conseqüentes perdas econômicas (Blikslager et al., 2007; Liu et al., 2008; Bergen & Wu, 2009).

Se fazem necessárias pesquisas que relacionem a nutrição à

função imunomoduladora na busca de alimentos que proporcionem proteção aos leitões e evitem quedas de desempenho decorrentes do maior desafio sanitário. É diante deste cenário que o trabalho foi desenhado, objetivando avaliar a ação do ácido linoléico conjugado (CLA) adicionado à ração de leitões recém-desmamados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O sistema imune

O sistema imune é o responsável pela proteção dos animais contra a invasão microbiana. A primeira linha de defesa é constituída pela imunidade inata, que gera uma resposta imediata conferindo a proteção inicial. A segunda linha é a imunidade adquirida, responsável por uma defesa efetiva mais prolongada (Humphrey & Klasing, 2004; Tizard, 2009).

O sistema imune inato é o nome dado ao conjunto de formas de imunidade que nasce com o indivíduo. O primeiro componente é a pele, que constitui uma barreira física contra a penetração de microorganismos. Quando esta barreira é superada, mecanismos celulares e químicos de resposta rápida são acionados e a defesa do organismo é centralizada no local da infecção microbiana, estabelecendo uma resposta inflamatória (Tizard, 2009). As células envolvidas nesse processo são os macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células natural killer. A presença dos invasores também ativa enzimas do sistema complemento e citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12), que juntas às células defensoras, evitam que os patógenos se desloquem para áreas não infectadas. Se o sistema imune inato não for capaz de prevenir o acesso ou destruir o microorganismo invasor, a imunidade adquirida é desencadeada. Apesar de ser um sistema de resposta imediata a uma invasão,

o sistema imune inato não apresenta qualquer tipo de mecanismo de memória e mesmo que ocorra uma segunda infecção pelo mesmo patógeno ela será tratada conforme a primeira. Por este motivo, é também chamado de “sistema imune não específico” (Korver, 2006).

Enquanto no sistema imune inato os receptores para identificação de invasores são preexistentes e capazes de se ligar a moléculas comumente encontradas nos diferentes microorganismos, os receptores do sistema adquirido são produzidos de forma aleatória e são estruturalmente únicos e capazes de se ligar a uma enorme gama de moléculas (Tizard, 2009). O sistema imune adquirido está dividido em dois tipos de resposta e é dependente do microorganismo invasor. O primeiro tipo constitui a resposta imune celular e este é mediado por linfócitos T, ocorrendo quando o patógeno invasor é intracelular. O segundo tipo é a resposta imune humoral, que é mediada por linfócitos B e é desencadeada a partir de microorganismos que não invadem as células hospedeiras, mas permanecem nos fluidos corporais (Davison, 1996; Qureshi et al., 1998; Abbas et al., 2000; Erf, 2004; Tizard, 2009).

As células T expressam receptores específicos (TCR) capazes de reconhecer uma quantidade imensurável de antígenos diferentes. São diferenciadas por sua função e seus marcadores de membrana, mas todas apresentam o complexo CD3⁺ junto aos TCR, independentemente da especificidade antigênica do mesmo. As células T auxiliares (Th, CD4⁺) desempenham um papel regulatório na resposta imune adaptativa, podendo induzir a uma resposta predominantemente humoral ou celular (Arstila et al., 1994). O Th1 direciona para a resposta imune celular e o Th2, para a humoral

(Abbas, 2000). Este direcionamento acontece pelos metabólitos produzidos por cada tipo celular quando estimulado pelo antígeno. As células Th1 produzem citocinas tais quais; interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina (IL-2) que ativam a resposta imune celular, enquanto o Th2 produz IL-4, IL-5 e IL-10 que são importantes estimuladores da resposta imune humoral (Abbas et al., 2000; Jankovic et al., 2001).

Originalmente, as células CD4⁺ eram divididas apenas nesses dois grupos de Th, mas nas últimas décadas, identificou-se tipos adicionais de Th: o Th17 e o Th9. O Th9 é uma subpopulação do Th2 que produz uma grande quantidade de IL-9. Pouco se conhece sobre o seu mecanismo de ação, mas se sabe que ele atua nos processos alérgicos (Xing et al., 2011) e inflamatórios (Dardalhon et al., 2008; Veldhoen et al., 2008). O Th17 atua no combate de infecções intestinais e complementa as atividades do Th1 e Th2 nas respostas contra patógenos intracelulares e helmintos, respectivamente. Entretanto, o Th17 também está associado com a resposta inflamatória exacerbada, podendo trazer prejuízos para o hospedeiro (Cook, 2006).

Para que o Th reconheça o antígeno, seu TCR deve se ligar ao antígeno peptídico processado, ligado a proteínas codificadas pelo complexo de histocompatibilidade principal (MHC) de classe II, expresso na superfície de uma célula apresentadora de antígeno (APC). As células que desempenham este papel por possuírem o MHC II são os macrófagos, células dendríticas e linfócitos B (Erf, 2004; Vainio et al., 1988).

A resposta imune celular conta com a ativação de linfócitos T citotóxicos (Tc, CD8), células natural killer (NK) e macrófagos. Os linfócitos Tc agem liberando produtos citolíticos na área de contato com a célula infectada

induzindo-a à apoptose (Erf, 2004). Eles são capazes de reconhecer os antígenos processados expressos nos MHC de classe I, que estão presentes na superfície de todas as células nucleadas do organismo (Vainio et al., 1987; Janeway et al., 2001).

As células NK se diferem das Tc por não possuírem um receptor específico para o reconhecimento antigênico e por isso são consideradas parte do sistema imune inato. Elas agem nas células do organismo que têm a expressão de MHC classe I diminuída. Alguns patógenos intracelulares induzem à essa redução para evitar a ação do linfócito Tc (Erf, 2004). Os linfócitos NK são bastante ativos contra células tumorais e células infectadas por vírus (Gobel et al., 2001, Merlino et al., 2002).

Os macrófagos, apesar de fazerem parte do sistema imune inato, por serem responsáveis pela fagocitose de antígenos invasores, também têm um papel importante na resposta imune celular. Eles têm a sua ação potencializada quando são estimulados pelo IFN- γ secretado pelo Th1 e aumentam a expressão de MHC classe II a fim de ativar células Th e produzir citocinas estimulatórias para a diferenciação de células Th1 efetivas (Erf, 2004).

Na resposta imune humoral, os linfócitos B após entrarem em contato com os antígenos, se proliferam e se diferenciam em plasmócitos secretores de imunoglobulinas (Montassier, 2000). Dependendo do antígeno, este processo pode ser dependente de linfócitos T, sendo necessário o reconhecimento pelo Th2 do antígeno processado e combinado com o MHC de classe II na superfície da APC (Larsson & Carlander, 2002). As imunoglobulinas inativam os antígenos por diversos mecanismos que incluem

opsonização, fixação do sistema complemento, neutralização, aglutinação e precipitação (Janeway et al., 2001; Erf, 2004). Existem cinco classes de imunoglobulinas (Ig), cada uma com características específicas: IgM, IgG, IgA, IgE e IgD. A IgM é a principal Ig da resposta primária a antígenos, é a primeira classe a se elevar na fase aguda e é bastante ativa contra bactérias. A IgG é a principal Ig da resposta secundária aos às bactéria e vírus e é ela que permanece no soro em certo nível após uma resposta imune. A IgA é ativa contra vírus, está mais concentrada nas secreções exócrinas conferindo a imunidade local. A IgE é ativa contra infecções parasitárias e participa de fenômenos alérgicos. A IgD é uma Ig de membrana, encontrando-se em baixa concentração no soro e está relacionada com a maturação dos linfócitos B (Abbas, 2000).

O sistema imune adquirido é capaz de reconhecer um microorganismo invasor, destruí-lo e desenvolver uma memória de forma que num segundo contato a resposta seja mais rápida e efetiva. A ativação de linfócitos resulta na sua diferenciação em células efectoras e células de memória contra aquele antígeno específico. Desta maneira, caso uma substância induza uma resposta humoral, anticorpos específicos serão produzidos e se ligarão a ela. Quando ocorre uma segunda exposição ao mesmo antígeno, o período de latência até o aparecimento dos anticorpos no soro é menor e a produção é muito mais elevada, atingindo o pico mais rapidamente além da involução ser consideravelmente mais lenta quando comparada à primeira exposição. Este sistema de memória adquirida oferece uma defesa mais eficiente para o organismo e é este o princípio da vacinação com mais de uma dose de administração (Tizard, 2009).

2. 1. 1 Resposta imune contra lipopolissacarídeos bacterianos (LPS)

A fim de verificar a influência de certos fatores no processo inflamatório, trabalhos utilizam a administração de lipopolissacarídeos bacterianos (LPS) por estas serem potentes moléculas indutoras da imunidade inata. Quando inoculados, os LPS são transferidos por uma proteína ligante de LPS a outra proteína (CD14) presente na superfície dos macrófagos, que gera um sinal e se liga ao receptor glicoprotéico tipo toll (TLR)-4, também presente na superfície celular e responsável pela ligação aos LPS encontrados na superfície de bactérias gram-negativas. Essa ligação ativa os macrófagos e estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α), fazendo com que os LPS se dissociem do CD14 e se liguem a lipoproteínas, perdendo a toxicidade (Tizard, 2009). O nível dessas citocinas na circulação sanguínea pode ser usado como biomarcador de processos inflamatórios (Bozza et al., 2007; Sherwin et al., 2008).

É importante ressaltar que o LPS pode induzir uma produção exacerbada dessas citocinas pró-inflamatórias com consequente dificuldade no controle da resposta imune. Esta situação gera dano nos próprios tecidos, com diminuição do tônus muscular e do débito cardíaco, resultando em hipotensão e má perfusão tecidual, e finalmente morte celular (Machado et al., 2004).

A inoculação de LPS induz sintomas de infecção bacteriana aguda nos animais com consequente depressão, anorexia e febre (Liu et al., 2008). Em um trabalho com leitões realizado por Ribeiro et al. (2010), a administração de 150 μ g de LPS/kg de peso vivo aumentou a temperatura corporal e a frequência respiratória, causou vômitos, diarreias, intensa prostração e até

mesmo a morte de 3 dos 15 animais inoculados. Em suínos (Van Heugten et al., 1994; Johnson, 1997; Liu et al. 2003, 2008), camundongos (Miller et al., 1994), ratos e frangos (Cook et al., 1993, Takahashi et al., 1998, 1999, 2002) foi observada a queda do desempenho zootécnico como consequência da redução do consumo alimentar e efeitos catabólicos causados pela estimulação do sistema imune com LPS.

Além disso, a administração de LPS resulta em uma variedade de alterações morfológicas diretas no trato digestivo, além do efeito indireto em consequência da redução no consumo alimentar. Em leitões, excluindo-se a influência de consumos alimentares distintos, já foi observado que o LPS, mesmo quando administrado pela via intraperitoneal, diminui a altura dos vilos intestinais e aumenta a profundidade de criptas (Liu et al., 2008; Hou et al., 2010), além de aumentar os níveis das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6 (Liu et al., 2008).

2. 2 Imunologia e Nutrição

A interdisciplinaridade entre a nutrição e a imunologia é uma área que ultimamente tem recebido importantes contribuições de pesquisas científicas. Um dos grandes motivos para essa demanda é a restrição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento ao mesmo tempo em que a intensificação dos sistemas de produção torna-se imperativa para aumentar a produção de alimentos no mundo.

2. 2. 3 Imunologia e ácidos graxos poliinsaturados

Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) são aqueles cuja cadeia

de carbono possui duas ou mais ligações duplas por molécula. A principal forma pela qual os PUFAS atuam no sistema imune é como precursores na síntese de eicosanóides, que compreendem as prostaglandinas (PG) e os leucotrienos (LTB). A produção destes é iniciada por um estímulo como a presença de citocinas, endotoxinas e complexos de antígeno-anticorpo.

O ácido linoléico (C18:2 n-6) e o ácido linolênico (18:3 n-3), competem quanto à produção de eicosanóides. Ambas rotas metabólicas para formar estas substâncias caracterizam-se pela competição por sítios de ligação das enzimas desaturases e elongases. Ainda, no último estágio da rota, antes da formação dos eicosanóides, o ácido araquidônico (n-6) e o eicosapentaenóico (EPA, n-3) competem pelas enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX) (Kinsella et al., 1990). Desta forma, a alimentação rica em ácidos graxos n-3, por exemplo, resulta numa diminuição no nível de ácido araquidônico nos fosfolipídios das membranas celulares e consequente diminuição nos eicosanóides derivados de n-6 (PGE₂ e o LTB₄) e aumento nos derivados de n-3 (PGE₃ e o LTB₅).

As PUFAS n-6 dão origem a mediadores que podem ter efeitos opostos uns aos outros de forma que o efeito fisiológico final será determinado pela natureza das células produtoras de eicosanóides, pelas concentrações dos mediadores, pelo momento de sua produção e pela sensibilidade das células alvo. A PGE₂ tem muitos efeitos pró-inflamatórios como a indução de febre, aumento da permeabilidade vascular, aumento da dor e edema. Entretanto, a PGE₂ também diminui a proliferação de linfócitos e a atividade das células NK, além de inibir a produção de TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 e INF- γ (Hasler et al., 1983; Betz & Fox, 1991), portanto, a PGE₂ também possui efeitos

anti-inflamatórios. Já o LTB₄ pode aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, a permeabilidade vascular, o fluxo sanguíneo local e a atividade das células NK (Yaqoob & Calder; 2006).

Pouco se sabe sobre o mecanismo pelo qual os PUFAS n-3 atuam na resposta imune, apesar de os efeitos anti-inflamatórios terem sido observados. Os PUFAS n-3 podem diminuir a produção de TNF- α e IL-1 (Kover & Klasing, 1997). Em humanos, já foi observado que o tratamento com altos níveis de óleo de peixe (rico em n-3) melhora os sintomas de doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatóide (Yaqoob & Calder; 2006).

Pelo que foi citado acima, o CLA pode afetar o sistema imune mudando o padrão de produção de eicosanóides. Da mesma forma que outros PUFAS, isômeros e metabólitos do CLA podem ser incorporados nos fosfolipídios das membranas celulares. O CLA parece ser capaz indiretamente de diminuir as concentrações de PUFAS n-6 ao aumentar os PUFAS n-3, reduzindo dessa forma a produção de PGE₂ (Li & Watkins, 1998; He et al., 2007). Sendo assim, uma das formas pela qual o CLA pode modular o sistema imune é diminuindo o acúmulo de ácido araquidônico nos fosfolipídios das membranas celulares e os seus eicosanóides derivados (Belury, 2002).

2. 3 O ácido linoléico conjugado (CLA)

O termo ácido linoléico conjugado se refere a um conjunto de isômeros geométricos e posicionais do ácido linoléico (*cis*-9, *cis*-12 18:2) (Angel, 2004; Pariza et al., 2001; Park, 2009). A diferença estrutural entre o CLA e o ácido linoléico é que o primeiro possui duplas ligações conjugadas, ou seja, estão separadas apenas por uma ligação simples entre 2 carbonos,

enquanto o ácido linoléico possui 2 ligações simples entre as insaturações. As duplas ligações conjugadas podem variar dos carbonos 6, 8 até 12,14 e para cada isômero posicional são possíveis quatro pares geométricos (*cis-trans*, *trans-cis*, *cis-cis*, *trans-trans*). Apesar de existirem 28 isômeros posicionais e geométricos de CLA, a distinção entre eles é importante uma vez que os mesmos podem apresentar diferentes atividades *in vivo*. Os mais estudados são o *cis-9, trans-11* e o *trans-10, cis-12*, em função de possuírem atividade biológica (Pariza et al., 2001; Palmquist et al., 2005; Wallace et al., 2007; Kennedy et al., 2010). O *cis-9, trans-11* é o isômero predominante em fontes naturais (Chin et al., 1992; Parodi, 1997).

A maior fonte natural de CLA é a gordura de ruminantes, presente na carne ou no leite, embora alguns óleos derivados de plantas também contenham CLA em menor quantidade (Chin et al., 1992; Gnadig, 2003). Os alimentos derivados de ruminantes contêm maior concentração de CLA em consequência do processo de bioconversão que ocorre no rúmen, onde os ácidos graxos insaturados de cadeia longa provenientes da dieta (principalmente o linoléico e o linolênico) são metabolizados por bactérias ruminais até ácido esteárico. Num primeiro momento, o ácido linoléico (*cis-9, trans-12 18:2*) é isomerizado a CLA (*cis-9, trans-11 18:2*) por ação da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens*. Em seguida, a dupla ligação na posição $\Delta 9$ é hidrogenada formando o ácido vacênico (*trans-11 18:1*), que por sua vez, é hidrogenado à ácido esteárico (18:0). Entretanto, uma parte do CLA e do ácido vacênico escapa do processo de hidrogenação, sendo absorvida no intestino e incorporada nos tecidos (Gnadig et al., 2003). No tecido adiposo e na glândula mamária, o ácido vacênico ainda pode ser convertido a CLA (*cis-9, trans-11*

C18:2) pela ação da enzima $\Delta 9$ desaturase (Pollard, 1980; Griinari et al., 2000). Esta síntese endógena na glândula mamária é responsável por 60% do CLA presente no leite (Griinari et al., 1999; Santora et al., 2000; Gnadig, 2003).

A concentração de CLA no leite de vaca pode variar de 2,4 a 21,8 mg/g de gordura (Aydin, 2005) e é dependente da dieta, do rebanho e do indivíduo (Aydin, 2005; Rainer & Heiss, 2004). Ruminantes com alimentação baseada em pastagem *in natura* apresentam mais CLA nos seus produtos do que aqueles que recebem grãos e forragem seca ou ensilada (French et al., 2000; Corl et al., 2003). Já foi demonstrado que o nível de ácido linoléico dietético tem relação positiva com o nível de CLA no leite (Parodi et al., 1977).

Nos animais não ruminantes, algumas bactérias do intestino grosso têm a capacidade de converter o ácido linoléico e o linolênico, mas o CLA formado não é absorvido (Chin et al., 1994).

A quantidade de CLA natural contida nos óleos vegetais é muito pequena (0,1-0,5 mg/g de óleo) (Chin et al., 1992). As preparações comerciais de CLA são obtidas por isomerização alcalina de óleos ricos em ácido linoléico, como o de cártamo ou de girassol e tendem a conter uma mistura de isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 (Nagao & Yanagita, 2008), não havendo diferença estrutural entre o CLA natural e o sintético (Kramer et al., 1998; Hur et al., 2007).

Juanéda et al. (2003), comparando duas temperaturas de tratamento térmico do óleo de girassol para isomerização do ácido linoléico a CLA, verificaram que após 10 ciclos de aquecimento à 180⁰C, o nível de CLA dobrou (0,2% dos ácidos graxos totais) em relação ao óleo não tratado (0,1%) e aumentou 13 vezes quando submetido a 220⁰C (1,3%), mostrando a

importância do correto processamento para obtenção do produto desejado.

2. 3. 1 O CLA e o sistema imune

Pesquisas sobre as funções e benefícios do CLA iniciaram por volta de 1980 com a observação de que tal composto isolado de carne bovina grelhada ou de isomerização catalisada do ácido linoléico inibia quimicamente a indução de neoplasia em pele de camundongo (Pariza & Hargraves, 1985). Essa descoberta estimulou outros estudos para avaliar os efeitos benéficos do CLA sobre câncer, composição corporal, arteriosclerose, ganho de peso, ingestão energética e de alimento, bem como, função imune (Wang & Jones, 2004; Nagao & Yanagita, 2008; Park, 2009; Kennedy et al., 2010).

A primeira evidência de que o CLA era capaz de afetar o sistema imune se deu com o aumento de respostas imunológicas e a redução do catabolismo imuno-mediado (Cook et al., 1993). Estudos mostram que o CLA exerce atividade imunomoduladora de forma efetiva em diferentes modelos experimentais, incluindo respostas inflamatórias, humorais e celulares.

Em diversos trabalhos, o CLA mostrou efeitos anti-inflamatórios. O'Shea et al. (2004) relatam a diminuição de citocinas pró-inflamatórias e FNT- α em modelos humanos e animais. Em suínos estimulados com LPS, o CLA dietético preveniu o aumento das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF- α e aumentou a expressão de IL-10, a principal citocina anti-inflamatória (Lai et al., 2005). Em camundongos também desafiados com LPS, houve diminuição da expressão de TLR-4, além da consequente redução nos níveis séricos de IL-1, IL-12, IFN- γ (Reynolds et al., 2009). A resposta do Th1 foi estudada em suínos infectados com circovírus tipo 2 e também foi observada a supressão na

produção de IFN- γ (Bassaganya-Riera et al., 2003). O CLA também mostrou ação inibitória sobre a maturação de células dendríticas, que são células atuantes no processo inflamatório (Loscher et al., 2005; Bergamo et al., 2008).

Entre os mecanismos de modulação do processo inflamatório exercido pelo CLA está a alteração na proporção entre ácidos graxos n-6 e n-3 nas membranas celulares, mudando o padrão de produção dos eicosanóides e alterando dessa forma uma série de atividades biológicas, como a síntese de citocinas (He et al., 2007; Pariza et al., 2000). Uma hipótese alternativa ou complementar, para o seu efeito anti-inflamatório, é a interação do CLA com o PPAR γ (Yu et al., 2002; O'Shea et al., 2004; Bassaganya-Riera & Hontecillas, 2006; Jaudszus et al., 2008; Zhou et al., 2008). Os PPARs (α , δ/β e γ) são receptores de antígeno que regulam a expressão de genes envolvidos na função imune e de homeostase energética (Bassaganya-Riera et al., 2002). Recentemente foi evidenciado que ligantes de PPAR γ são capazes de inibir a expressão de TLR-4 em monócitos de humanos (Dasu et al., 2009). No trabalho de Reynolds et al. (2009), observou-se que ratos alimentados com CLA tiveram maior expressão de PPAR γ e reduzida expressão de CD14 e de TLR-4 nas células dendríticas. Quando se adicionou um inibidor específico de PPAR γ , o efeito do CLA na redução de TLR-4 foi revertido, o que não ocorreu com a expressão de CD14. Isto sugere que os efeitos anti-inflamatórios do CLA possam ser parcialmente mediados pela regulação do TLR-4 pelo PPAR γ .

Estudos *in vitro* indicam que o CLA dietético aumenta a função linfocitária (DeVoney et al., 1997; Chew et al., 1997; Wong et al., 1997; Zhang et al., 2005; Nunes et al., 2007). Cook et al. (1993) observaram que frangos suplementados com CLA desafiados com LPS tiveram maior proliferação de

linfócitos em resposta à fitohemaglutinina. Da mesma forma, He et al. (2007) observaram que frangos de corte alimentados com 1% de CLA tiveram maior peso de timo e bursa, maior índice de proliferação de linfócitos e maior produção de anticorpos contra Newcastle. Este trabalho também mostrou que a inclusão de CLA diminuiu produção de PGE₂ e diminuiu a relação entre PUFAS n-6 e n-3 no baço.

Trabalhos mostram que o CLA aumenta a produção de imunoglobulinas em humanos (Song et al., 2005), em ratos (Sugano et al., 1998; Yamasaki et al., 2003; Ramírez-Santana et al., 2009), em leitões (Corino et al., 2002). Corino et al. (2009) constataram que leitões desmamados de matrizes que recebiam 0,5% de CLA na dieta tiveram maior peso corporal e maior produção de IgG. Esta resposta pode ser muito importante para animais recém-nascidos que ainda não desenvolveram plenamente os mecanismos da resposta imune específica. Segundo Rooke & Bland (2002), o aumento na síntese de IgG por leitões está correlacionado com a quantidade de IgG absorvida através do colostro. O CLA dietético também é secretado no colostro e no leite de porcas (Bontempo et al., 2004) com uma taxa de transferência para os leitões de 53 a 63% e de 55 a 69%, respectivamente (Bee, 2000).

O CLA também se mostra como um nutriente estimulador da resposta imune celular. Cook et al. (1993) trabalhando com ratos alimentados com CLA tiveram aumento de resposta em hipersensibilidade tardia (resposta dependente de células T) induzida por inoculação intradérmica de fitohemaglutinina. Pesquisas mostram ainda que o CLA pode influenciar nas percentagens das subpopulações de linfócitos T CD8⁺ e CD4⁺. Bassaganya-Riera et al. (2001), comparando leitões alimentados com dietas contendo 0;

0,67; 1,33 ou 2% de CLA, observaram após 42 dias, um aumento linear na porcentagem de linfócitos CD8⁺. Em outro estudo de Bassaganya-Riera et al. (2003), além do aumento de linfócitos CD8⁺, houve supressão da produção de IFN- γ pelo Th1 CD4⁺ em suínos infectados com circovírus que recebiam 1,33% de CLA na dieta. Lai et al. (2005), também observaram que a inclusão de 2% de CLA aumentou a porcentagem de linfócitos CD8⁺ e diminuiu a relação CD4⁺:CD8⁺ de leitões aos 14 e 28 dias pós-desmame. Tanto Bassaganya-Riera et al. (2001) quanto Lai et al. (2005) discutem que os linfócitos CD8⁺ representam numericamente a maior subpopulação linfocitária na circulação sanguínea de suínos e o tipo de imunomodulação induzido pelo CLA depende da função das células que expressam CD8⁺. Em aves CLA promoveu aumento das células CD4⁺ e não das CD8⁺ (DeVoney et al., 1997).

Os resultados de estudos sobre a influência do CLA no sistema imune não são uniformes. Dessa forma, imagina-se que o efeito do CLA depende não só da espécie, mas também do isômero de CLA utilizado, duração da alimentação, se as células estão em um estado de repouso ou estimuladas e quando estimuladas, se o modelo experimental utilizado é *in vivo* ou *in vitro* (Malovrh et al., 2009).

3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi determinar o efeito do CLA na resposta imune e no desempenho de leitões desafiados com LPS.

Para isto, foram avaliadas duas hipóteses: (1) O ácido linoléico conjugado é um nutriente que possui efeito imunomodulador e este efeito é dependente da dose usada. (2) O desafio imunológico que afeta o desempenho de leitões recém-desmamados pode ser em parte revertido com o uso de CLA.

CAPÍTULO II

Efeito do ácido linoléico conjugado no desempenho e na resposta imune de leitões recém-desmamados¹

Mariana Lemos de Moraes², Andréa Machado Leal Ribeiro, Alexandre de Mello Kessler, Vicente Santos Ledur, Manuela Marques Fischer, Luciane Bockor

Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

¹Agradecimento ao CNPq, órgão financiador do trabalho.

²Autor correspondente: marimoraes@brturbo.com.br

Resumo – Foi realizado um estudo para avaliar o efeito do ácido linoléico conjugado (CLA) na resposta imune e no desempenho zootécnico de leitões quando submetidos ou não a desafio imunológico. Um total de 32 leitões recém-desmamados, com peso médio inicial de 8,9 kg foi distribuído em um delineamento experimental completamente casualizado em arranjo fatorial 3 x 2 durante os primeiros 35 dias pós-desmame. Os tratamentos foram três níveis de suplementação de CLA na dieta (0, 1 e 2%) e ausência ou presença de desafio imunológico com LPS, realizado no 7º e no 21º dia. No 4º e no 18º dia, todos os animais foram inoculados com albumina de soro bovino (BSA) para posterior análise de produção de IgG anti-BSA. Para desempenho, não houve diferença entre os níveis de inclusão de CLA, mas os leitões desafiados com LPS, em relação ao grupo controle, tiveram pior peso corporal ($P = 0,02$), consumo de ração ($P = 0,006$) e ganho de peso ($P = 0,0003$) aos 35 dias pós-desmame. Este grupo também apresentou aumento na frequência respiratória ($P = 0,0001$) e na temperatura retal ($P = 0,0001$), além de algumas diferenças nas contagens de proteínas plasmáticas totais, eritrograma e leucograma, apesar dos seus valores estarem dentro dos limites referenciados para a espécie. As exceções foram para as proteínas plasmáticas totais, leucócitos e neutrófilos, que estavam diminuídos nos animais desafiados com LPS. A capacidade imunomodulatória do CLA foi observada apenas para produção de IgG contra BSA, com a maior resposta promovida pelo nível de 1% ($P = 0,0009$). Não houve efeito do CLA para proliferação de linfócitos, porcentagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, proteínas plasmáticas, eritrograma, leucograma, frequência respiratória e temperatura retal após o desafio com LPS. Embora não tenha havido influência do CLA no desempenho e em alguns parâmetros imunológicos, os resultados deste estudo mostram o efeito benéfico de estimulação do sistema imune humoral pelo aumento dos títulos de IgG com a inclusão de 1% de CLA na dieta de leitões recém-desmamados.

Palavras-chave: ácido linoléico conjugado, imunoglobulina, imunomodulação, leitão, LPS, resposta imune

Effect of conjugated linoleic acid on performance and immune response of weanling piglets

Mariana Lemos de Moraes^{*1}, Andréa Machado Leal Ribeiro*, Alexandre de Mello Kessler*, Vicente Santos Ledur*, Manuela Marques Fischer*

*Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

¹Corresponding author: marimoraes@brturbo.com.br

Abstract – A trial was conducted to evaluate the effect of conjugated linoleic acid (CLA) on immune response and performance of piglets when submitted or not to immune challenge. A total of 32 weanling piglets, 8.9 kg initial average weight, were allocated in a completely randomized block design in a factorial 3 x 2 during the first 35 days post-weaning. It were tested three CLA inclusion levels (0, 1 and 2%) in the presence or absence of LPS immunological challenge, held at 7 and 21 days. At 4 and 18 days, all animals were inoculated with bovine serum albumin (BSA) for later analysis of IgG production. For performance, there was no difference between CLA levels, but the LPS challenged piglets, compared to the control group, had worse body weight ($P = 0.02$), feed intake ($P = 0.006$) and weight gain ($P = 0.0003$) at 35 days post weaning. The same group showed an increase in respiratory rate ($P = 0.0001$) and rectal temperature ($P = 0.0001$), besides some differences in total plasma proteins, red and white blood cells count, although these values were referenced within the specie limits. Total plasma proteins, leukocytes and neutrophils were exceptions, which were decreased in LPS challenged animals. The CLA immunomodulatory ability was observed only for IgG production against BSA, with the greatest response promoted by the 1% level ($P = 0.0009$). There was no CLA effect on lymphocytes proliferation, CD4⁺ and CD8⁺ cells percentage, plasma proteins, red and white blood cells count, respiratory rate and rectal temperature after LPS challenge. Although there was no CLA influence on performance and on some immune parameters, the results of this study show the beneficial effect on the humoral immune system stimulation by increasing IgG titers due to the inclusion of 1% CLA in diets for weaned piglets.

Keywords: conjugated linoleic acid, immune response, immunoglobulin, immunomodulation, LPS, piglet

Introdução

O termo ácido linoléico conjugado (CLA) se refere aos isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (*cis*-9, *cis*-12 18:2) com a diferença que nesses as duplas ligações são conjugadas, isto é, separadas apenas por uma ligação simples entre 2 carbonos. Os mais estudados são o *cis*-9, *trans*-11 e o *trans*-10, *cis*-12 CLA por possuírem atividade biológica (Pariza et al., 2001).

Ultimamente, o CLA vem sendo mais estudado em decorrência da restrição do uso de antimicrobianos na ração animal ao mesmo tempo em que a intensificação dos sistemas de produção torna-se imperativa para aumentar a produção de alimentos no mundo. Trabalhos mostraram que o CLA é um nutracêutico com capacidade imunomodulatória. Propriedades anti-inflamatórias foram evidenciadas pela diminuição de citocinas pró-inflamatórias em situações de desafio imunológico (Lai et al., 2005; Reynolds et al., 2009); na resposta imune humoral, o CLA aumentou a produção de imunoglobulinas (Corino et al., 2002, 2009; He et al., 2007), enquanto que para resposta imune celular foi observado aumento da linfoproliferação (Cook et al., 1993; Nunes et al., 2008) e influência nas porcentagens das subpopulações de CD4⁺ e CD8⁺ (DeVoney et al., 1997; Bassaganya-Riera et al., 2001, 2003; Lai et al., 2005).

As propriedades nutracêuticas do CLA são especialmente promissoras quando se trata de leitões. O desmame é considerado o momento mais crítico da vida de um suíno em decorrência dos estresses ambientais e alimentares que interferem no desenvolvimento do trato gastrointestinal (Lallès et al., 2007). Com o início da ingestão de alimento sólido, as vilosidades intestinais são danificadas e inicia-se um processo inflamatório (Hall and Byrne, 1989; Nabuurs, 1991). A ausência de antimicrobianos na ração somada à

injúria da mucosa intestinal aumenta a suscetibilidade a infecções por patógenos, elevando a incidência de diarreia e morte (Blikslager et al., 2007; Bergen and Wu, 2009; Liu et al., 2008).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de diferentes doses de CLA no desempenho e na resposta imune de leitões desafiados com LPS, para avaliar a hipótese de que este nutriente possa ser um auxiliar no combate à queda de desempenho habitualmente verificada nos períodos de desmame.

Material e Métodos

Procedimentos gerais e tratamentos experimentais. Trinta e dois leitões recém-desmamados entre 17 e 23 dias de idade foram alojados em gaiolas de metabolismo, localizadas em sala climatizada, de acordo com a sua temperatura de conforto. Cada gaiola representou uma unidade experimental. No período de adaptação de quatro dias, foram alojados dois leitões por gaiola a fim de facilitar o reconhecimento do novo ambiente e durante o período experimental, que compreendeu 35 dias, os leitões permaneceram alojados individualmente. As rações foram oferecidas diariamente, pela manhã e tarde, de forma que os animais tivessem alimentação à vontade. A água foi oferecida através do bebedouro tipo chupeta, à vontade.

O experimento foi constituído de um fatorial 3 x 2, sendo três níveis de suplementação de CLA (0, 1 ou 2%) e desafio imunológico ou ausência do mesmo. O programa de desafio imunológico foi realizado aos 7 e 21 dias de experimento, quando 16 animais foram inoculados com 100 µg de LPS/kg de peso vivo, intramuscular, de *Escherichia coli* (LPS, sorotipo 055:B5, Sigma Aldrich®). A quantidade total de LPS por animal foi diluída em 1 mL de solução

tampão fosfato salino (0,01 M, PBS, pH 7,4). Os demais leitões foram inoculados com 1 mL de PBS (adaptado de Van Heugten et al. (1994).

Dietas. Foram fornecidas duas dietas ao longo do período experimental (pré-inicial, de 1 a 14 dias e inicial, de 15 a 35 dias) que foram formuladas com níveis nutricionais próximos dos recomendados pelas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno, 2005) e diferiram apenas no óleo adicionado: óleo de soja ou óleo rico em CLA (61,5%, sendo metade o isômero *cis*-9, *trans*-11 e a outra metade o isômero *trans*-10, *cis*-12. As dietas foram formuladas para que os tratamentos contivessem 0, 1 ou 2% de inclusão de CLA (Tabela 1).

Tabela 1 Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas pré-inicial e inicial do experimento com leitões recebendo diferentes níveis de inclusão de CLA (0, 1 ou 2%), desafiados ou não com LPS

Ingredientes (%)	Pré-inicial	Inicial
Milho	45,23	47,08
Soro de leite	15,66	4,00
Farelo de soja	12,04	26,84
Leite integral	8,00	0,00
Glúten de milho	5,00	6,00
Lactose	-	5,25
Plasma suíno	4,00	-
¹ Gordura vegetal	3,25	3,25
Açúcar	3,00	3,00
Fosfato monobásico	1,11	1,54
Calcário	0,62	0,98
Lisina	0,53	0,58
Acidificante (Ultracid)	0,40	0,30
DI-metionina	0,24	0,16
L-treonina	0,21	0,15
Óxido de zinco	0,21	0,00
Sal comum	0,10	0,50
² Promotor de crescimento	0,10	0,10
Colina	0,08	0,07
Premix mineral	0,08	0,07
Premix vitamínico	0,05	0,04
Sulfato de Cobre	0,04	0,04
³ Antioxidante	0,02	0,02
L-triptofano	0,02	0,01

Continuação: Tabela 1 Composição de ingredientes e níveis nutricionais das dietas pré-inicial e inicial do experimento com leitões recebendo diferentes níveis de inclusão de CLA (0, 1 ou 2%), desafiados ou não com LPS

Sulfato de ferro	0,02	0,02
Composição Calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	3561	3399
Proteína bruta (%)	20,00	21,00
Lactose (%)	14,00	8,00
Fibra bruta (%)	2,21	3,32
Gordura (%)	7,06	5,45
Cálcio (%)	0,70	0,78
Fósforo disponível (%)	0,50	0,45
Sódio (%)	0,37	0,25
Lisina digestível (%)	1,40	1,31
Metionina + cistina digestível (%)	0,87	0,77
Triptofano digestível (%)	0,23	0,21
Treonina digestível (%)	0,93	0,90
Colina (%)	0,15	0,14

¹3,25% de óleo de soja para os tratamentos sem inclusão de CLA; 3,25% de óleo rico em CLA para os tratamentos com 2% de CLA; 1,63% de óleo de soja e 1,63% de óleo rico em CLA para tratamentos com 1% de CLA.

²apramicina 10%

³etoxiquim 66%

Desempenho Zootécnico. Peso corporal (PC), consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) foram avaliados semanalmente e nos três dias seguintes às inoculações de LPS conforme descrito por Van Heugten et al. (1994).

Frequência respiratória e temperatura retal. Foi medida a temperatura retal antes, aos 30, 60, 120, 150, 180, 210, 240 e 270 minutos e a frequência respiratória aos 90 minutos após as inoculações com LPS ou PBS no 7^o e 21^o dia, conforme descrito por Ribeiro et al. (2010).

Produção de imunoglobulinas G (IgG) contra BSA. No 4^o e 18^o dia, os leitões foram inoculados (via intramuscular) com uma solução de albumina de soro bovino (BSA – A3912 Sigma Aldrich®) na dose de 1 mg/kg de peso

vivo diluída em 0,5 mL de PBS e 0,5 mL de adjuvante (adaptado de Li et al., 1999). Na primeira inoculação, o adjuvante foi o Completo de Freund (F5881 Sigma Aldrich®) e na segunda o Incompleto de Freund (F5881 Sigma Aldrich®).

No 4^o, 18^o e 32^o dias, foram coletados 4 mL de sangue de cada animal com tubo vacutainer, via veia cava cranial. O sangue foi centrifugado a 2000 x g durante 15 minutos e o soro foi estocado a -20°C até a realização das análises. As concentrações totais de IgG anti-BSA para cada amostra foram determinadas por ELISA, realizado da seguinte forma: placas de 96 poços para ELISA foram sensibilizadas com 100 µL/ poço de BSA em uma concentração de 500 µg/mL em tampão carbonato de sódio (0,2 M e pH 9,2) e incubadas a 4°C por 16 horas. As amostras de soro foram testadas em duplicata (100 µL/poço) na diluição 1:15000 e incubadas por 2 horas. Em seguida, as placas foram incubadas por 30 minutos com 100 µL de anti IgG de suíno conjugado com peroxidase (A5670 Sigma Aldrich®) na diluição 1:5000. Em seguida, foram adicionados 150 µL de solução reveladora OPD (orto-fenilenodiamina, 002003 - Invitrogen) e após 15 minutos de incubação a 23^oC, a reação foi interrompida com 50 µL/poço de ácido sulfúrico (2 M). A densidade óptica foi medida em leitor de placas ELISA (Anthos 2020) no comprimento de onda de 492 nm. Entre cada etapa, as placas foram lavadas três vezes com solução PBS Tween 20, bem como todas as incubações foram realizadas em câmara úmida a 37°C.

Proliferação de linfócitos. No 32^o dia do experimento, foram coletados via veia cava cranial, 8 mL de sangue de cada animal com tubo vacutainer heparinizado (150 unidades). As amostras de sangue foram diluídas

1:2 em solução salina e 6 mL desse sangue diluído foram cuidadosamente aplicados sobre uma camada de 4 mL de Histopaque® (L2880 Sigma Aldrich®) em tubos cônicos de 15 mL (Falcon, BD). Os tubos foram centrifugados a 700 x g durante 30 minutos a 25°C e a camada mononuclear coletada com pipeta de Pasteur. A camada mononuclear foi lavada três vezes por meio de centrifugação (10 minutos a 700 x g) em meio RPMI 1640 (Gibco®) com antimicrobianos (100 UI/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomicina) e ressuspendidas em 2 mL RPMI 1640 suplementado com 0,05 mM de 2-mercaptoetanol (Sigma Chemical Co.), 100 UI/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomicina (Invitrogen), 2 mM de L-glutamina (Nuclear) e 10% de soro suíno. A contagem das células, bem como sua viabilidade, foi realizada em câmara de Neubauer utilizando azul de Trypan. A viabilidade celular em todas as amostras excedeu 95%. Para os ensaios de proliferação, as células mononucleares foram plaqueadas em microplacas de 96 poços de fundo chato na concentração de $2,5 \times 10^5$ células/poço em 100 μ L de meio RPMI completo. Posteriormente, Concanavalina A (Sigma Chemical Co.) (concentração final de 5 μ g/mL), ou BSA (A3912 Sigma Aldrich®) (100 μ g/mL), ou apenas meio RPMI 1640 foram adicionados q.s.p. 200 μ L. As placas foram incubadas a 37°C em atmosfera úmida com 5% de CO₂. Após 72 horas, as placas foram centrifugadas 10 minutos a 700 x g, o sobrenadante foi removido por pipetagem e 50 μ L de solução de MTT (azul de tiazolil brometo de tetrazólio, Sigma Aldrich®) (2 mg/mL) foram adicionados a cada poço. As placas foram incubadas em estufa por mais 4 horas. Após, as placas foram centrifugadas a 1400 x g por 5 minutos e o MTT não convertido foi removido por pipetagem.

Para a solubilização dos cristais formados, 100 μL de dimetil sulfóxido (DMSO, Sigma Aldrich®) foram adicionados a cada poço. As placas foram incubadas 20 minutos a 37°C e a absorbância foi medida em leitor de ELISA (Anthos 2020) a 550 nm com filtro referência de 620 nm. O índice de proliferação (IP) foi calculado com base na seguinte fórmula: $\text{IP} = \text{valor de absorbância da cultura estimulada pelo mitógeno} / \text{valor de absorbância da cultura não estimulada}$.

Linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺. No 32º dia, foram coletados assepticamente 4 mL de sangue de cada leitão, via veia cava cranial, em tubos Vacutainer EDTA™ (BD). As amostras foram submetidas a centrifugação a 1500 x g por 10 minutos. O sobrenadante foi removido e o sedimento celular foi tratado com uma solução hipotônica de NH_4Cl para a lise dos eritrócitos. Os glóbulos brancos foram recuperados por centrifugação (1500 x g por 5 minutos) e ressuspensos em PBS. Em seguida, aproximadamente 10^6 células foram incubadas em 50 μL de PBS contendo anticorpos monoclonais contra as moléculas CD4⁺ e CD8⁺ suíno marcados com diferentes fluorocromos (Serotec) diluídos 1:50. As células foram incubadas a 4°C durante 30 minutos e posteriormente, lavadas 3 vezes e ressuspensas em 500 μL de PBS. As contagens foram realizadas através de citometria de fluxo (Guava, GE HealthCare). Os resultados deste ensaio foram expressos em percentuais de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺.

Proteínas plasmáticas, eritrograma e leucograma De cada animal foram coletados 3 mL de sangue com EDTA para realização do hemograma e 4 mL de sangue sem aditivo para determinação de albumina sérica, aos 180

minutos após a inoculação de LPS do 21º dia. A coleta foi realizada via veia cava cranial, após antissepsia através de sistema de coleta a vácuo. Após coleta foi realizado esfregaço sanguíneo posteriormente corado com panótico rápido (Laborclin®). O hematócrito foi determinado através da técnica de microhematócrito e as proteínas plasmáticas totais foram quantificadas por refratometria. A contagem celular foi realizada através de diluição manual para eritrócitos com solução NaCl a 0.9% e para leucócitos com líquido de Turck (NewProv®), com posterior contagem em câmara hematimétrica (Neubauer Improved, new Optik®). A contagem diferencial de leucócitos e avaliação morfológica foi realizada pelo mesmo observador em microscópio óptico (Olympus, CX 41, São Paulo). Os índices hematimétricos (VCM e CHCM) foram determinados através de cálculo. A albumina sérica e hemoglobina sanguínea foram determinadas por espectrofotômetro semi-automático (Metrolab 1.600, Wiener®, Argentina) usando kit comercial (Labtest®, São Paulo).

Delineamento experimental e análise estatística. O delineamento utilizado no experimento foi o completamente casualizado em fatorial 3 X 2 (três níveis de inclusão de CLA – 0, 1% e 2%-, com ou sem desafio imunológico), totalizando 6 tratamentos com cinco repetições, exceto os dois tratamentos sem inclusão de CLA que tiveram 6 repetições. A análise estatística foi feita por ANOVA e teste de médias LS Means, através do programa estatístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Os dados de temperatura retal foram analisados utilizando um modelo misto com medidas repetidas no tempo pelo procedimento MIXED (modelos mistos).

Resultados e Discussão

Desempenho zootécnico. Os efeitos do desafio com LPS no desempenho dos leitões podem ser observados na Tabela 2 e na Figura 1. Nas semanas que iniciaram com o desafio imunológico (7^o e 21^o dias), os leitões estimulados com LPS tiveram menor consumo de ração ($P < 0,05$), menor ganho de peso ($P < 0,01$) e pior conversão alimentar ($P \leq 0,05$). Nas semanas seguintes, não houve diferença nessas respostas, mostrando que a ação do LPS não é cumulativa. Apesar disso, o efeito negativo do LPS fica evidente quando são analisados os períodos pré-inicial (1 a 14 dias), inicial (15 a 35 dias) e total (1 a 35 dias), mostrando que os animais não conseguiram compensar a queda de desempenho decorrente dos desafios e chegaram aos 35 dias pós-desmame com menores pesos corporais ($P = 0,02$). Resultados semelhantes foram encontrados por Zhao et al. (2005) e Liu et al. (2008) que trabalharam com a mesma dose de LPS do presente experimento e por Van Heugten et al. (1994) que usaram o dobro (200 µg de LPS/kg de peso vivo), mostrando que este modelo experimental é eficiente para criar uma situação de estresse imunológico nos animais.

Os LPS são eficientes moléculas estimuladoras da produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α) (Tizard, 2009) e quando essa produção é exacerbada, há consequente dificuldade no controle da resposta imune. Esta situação gera dano nos próprios tecidos, com diminuição do tônus muscular e do débito cardíaco, resultando em hipotensão e má perfusão tecidual com consequente morte celular (Machado et al., 2004). Uma hipótese para o efeito anti-inflamatório do CLA em situações acima, seria o aumento de receptores de antígeno que regulam genes envolvidos na função

imune, os PPAR γ (Bassaganya-Riera et al., 2002; Yu et al., 2002; O'Shea et al., 2004; Jaudszus et al., 2008; Zhou et al., 2008), capazes de inibir a expressão do receptor de LPS TLR-4 em monócitos (Dasu et al., 2009; Reynolds et al., 2009). O CLA foi responsável por prevenir o aumento nos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias em estudos com suínos (Bassaganya-Riera et al., 2003; O'Shea et al., 2004; Lai et al., 2005; Zhao et al., 2005; Malovrh et al., 2009) e por aumentar a expressão de IL-10, a principal citocina anti-inflamatória (Lai et al., 2005).

No entanto, também na Tabela 2 observa-se que não houve interação entre nível de inclusão de CLA e desafio imunológico no desempenho dos leitões, indicando, ao contrário da hipótese mencionada, que o CLA não foi eficiente para reverter o quadro causado pelo LPS. Também entre os níveis de CLA, não houve diferenças significativas para desempenho. Da mesma forma, Zhao et al. (2005) não observaram efeito anti-catabólico do CLA (2% de inclusão na dieta) em leitões recém-desmamados desafiados com a mesma dose de LPS do presente experimento. Já em frangos de corte, Takanashi et al. (2002) constataram que a inclusão dietética de 1% CLA foi capaz de prevenir a queda no consumo alimentar, após único desafio com 1500 μ g de LPS/kg de peso vivo, e prevenir redução no ganho de peso e eficiência alimentar após 3 desafios consecutivos em dias alternados com uma dose de 200 μ g de LPS/kg de peso vivo. No entanto, o CLA não afetou o desempenho dos animais não desafiados com LPS, levando a crer que seu efeito anti-catabólico ocorra apenas quando há uma estimulação do sistema imune das aves. É interessante observar que em frangos de corte, o CLA conseguiu evitar a queda de desempenho consequente de um desafio com uma dose muito

mais elevada de LPS do que as utilizadas em leitões.

Tabela 2 Efeitos do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) e da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) no desempenho de leitões recém-desmamados¹

	LPS			CLA				P CLAxLPS	Erro Padrão
	-	+	P	0%	1%	2%	P		
Peso Corporal, kg									
1d	8,85	8,97	0,72	8,65	8,67	9,21	0,39	0,65	0,82
7d	11,65	11,78	0,74	11,42	11,55	12,19	0,19	0,78	0,92
14 d	14,8	14,1	0,25	14,0	14,1	15,3	0,11	0,90	1,54
21 d	19,5	18,9	0,49	18,7	18,2	20,5	0,08	0,87	2,29
28 d	24,3	22,1	0,21	23,5	22,0	24,0	0,55	0,86	3,35
35 d	30,5	27,3	0,02	29,0	28,3	29,5	0,75	0,33	3,30
Consumo Diário de Ração , kg									
1 a 7d	0,42	0,43	0,81	0,39	0,44	0,44	0,35	0,51	0,59
7 a 14 d	0,64	0,46	0,0015	0,52	0,52	0,60	0,33	0,94	1,00
14 a 21 d	0,87	0,84	0,64	0,85	0,78	0,94	0,16	0,16	1,27
21 a 28 d	1,06	0,70	0,02	0,91	0,87	0,87	0,96	0,37	2,06
28 a 35 d	1,29	1,22	0,40	1,22	1,28	1,27	0,81	0,06	1,57
pré-inicial	0,56	0,45	0,009	0,49	0,51	0,52	0,78	0,59	1,37
inicial	1,10	0,88	0,001	0,97	1,02	0,98	0,81	0,22	3,10
total	0,83	0,67	0,006	0,73	0,75	0,78	0,80	0,13	5,01
Ganho de Peso Diário, kg									
1 a 7d	0,40	0,40	0,98	0,37	0,41	0,43	0,32	0,48	0,59
7 a 14 d	0,52	0,32	<0,0001	0,40	0,40	0,45	0,58	1,00	0,80
14 a 21 d	0,67	0,68	0,90	0,68	0,59	0,74	0,18	0,49	1,23
21 a 28 d	0,72	0,41	0,009	0,62	0,60	0,48	0,62	0,15	1,52
28 a 35 d	0,88	0,89	0,91	0,86	0,89	0,89	0,81	0,88	0,94
pré-inicial	0,48	0,37	0,004	0,41	0,42	0,44	0,75	0,66	1,18
inicial	0,78	0,62	<0,0001	0,70	0,73	0,67	0,33	0,22	1,68
total	0,64	0,52	0,0003	0,57	0,59	0,58	0,95	0,41	2,36
Conversão Alimentar									
1 a 7d	1,050	1,073	0,63	1,018	1,009	1,035	0,81	0,19	0,12
7 a 14 d	1,228	1,665	0,02	1,285	1,248	1,498	0,70	0,47	0,36
14 a 21 d	1,313	1,149	0,32	1,143	1,309	1,275	0,39	0,41	1,49
21 a 28 d	1,575	1,761	0,05	1,478	1,505	1,806	0,09	0,36	1,06
28 a 35 d	1,466	1,374	0,19	1,333	1,429	1,416	0,97	0,06	0,24
pré-inicial	1,183	1,001	0,18	1,195	1,224	1,203	0,79	0,29	0,09
inicial	1,410	1,503	0,97	1,428	1,433	1,449	0,32	0,61	0,13
total	1,343	1,410	0,20	1,168	1,328	1,342	0,13	0,60	0,13

¹Resultados semanais, período pré-inicial (1 a 14 dias pós-desmame), inicial (15 a 35 dias pós-desmame) e total. Os desafios com LPS foram no 7º e 21º dia.

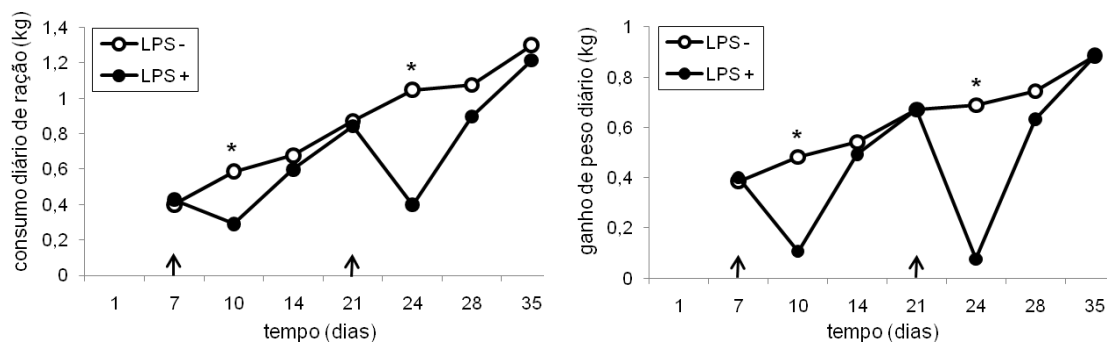


Figura 1. Efeito do desafio com lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) no consumo de ração e ganho de peso diários de leitões recém-desmamados. Os desafios foram no 7^o e 21^o dia conforme indicam as setas. As diferenças significativas estão indicadas por * ($P < 0,0001$).

Temperatura retal. Como já era esperado, a inoculação de LPS induziu sintomas de infecção bacteriana aguda com consequente anorexia e aumento da temperatura retal (TR) (Figura 2), à semelhança do descrito por Klasing (1988), Wright et al. (2000) e Liu et al. (2008). O efeito anti-inflamatório do CLA (Pariza et al., 2000; O'Shea et al., 2004; Lai et al., 2005; Malovrh et al., 2009; Reynolds et al., 2009) poderia atenuar o aumento da TR dos leitões desafiados com LPS, no entanto, nenhum dos níveis de CLA testados foi eficiente neste sentido (dados não apresentados).

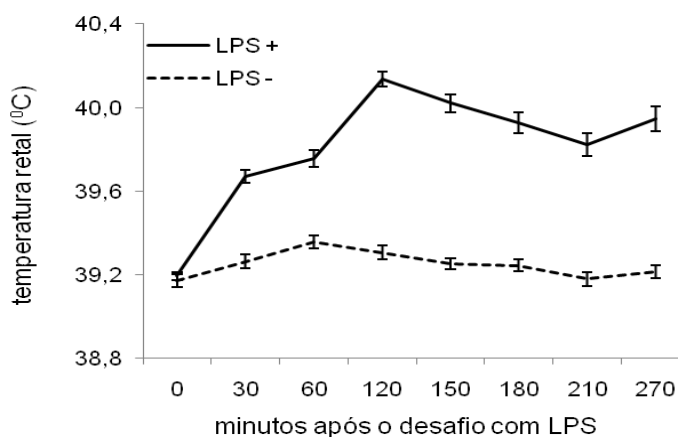


Figura 2. Efeito do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) na temperatura retal (TR) dos leitões ao longo dos 270 minutos pós-inoculação. O gráfico representa a média das TR de todos os leitões inoculados (LPS+) e não inoculados com LPS (LPS-), medidas após os desafios realizados no 7^o e 21^o dia. As diferenças entre os dois grupos existem a partir dos 30 minutos ($P = 0,0001$) e as barras indicam o erro padrão das médias.

Dados de TR são muito variáveis individualmente, sendo observados coeficientes de variação muito elevados, dificultando a análise estatística desta resposta. Observa-se que houve aumento da TR no grupo controle durante as primeiras medições; esta resposta pode ser atribuída ao estresse gerado pelo manejo com os animais.

Frequência respiratória. Como mais um indicativo de que o CLA não foi eficiente para reverter o quadro de depressão causado pelo LPS, não houve interação e nem mesmo diferença entre os níveis de CLA na frequência respiratória dos leitões aos 90 minutos pós-desafio (Tabela 3). Por outro lado foi observada maior frequência respiratória (FR) nos leitões LPS injetados, conforme observado por Ribeiro et al. (2010).

Ficou evidenciada uma maior frequência respiratória na segunda inoculação e parece ser em decorrência da pré-sensibilização dos receptores ao LPS. A situação pode ser explicada como uma resposta imunológica de hipersensibilidade tipo I, caracterizada por um quadro de anafilaxia alérgica, onde, após a exposição inicial ao antígeno (Ag) excitador, as células B reagem secretando IgE. A reexposição a esse mesmo Ag faz com que ele se ligue aos fragmentos receptores de Ag da IgE ocorrendo a liberação de várias substâncias ativas como histamina, serotonina, fatores quimiotáticos eosinofílicos da anafilaxia, fator ativador de plaquetas, prostaglandina e leucotrienos (Banks, 1991). Esses mediadores aumentam a permeabilidade vascular levando à intensa exsudação plasmática e à instalação de edemas generalizados. Com a hipotensão sistêmica e pulmonar instalada, observa-se dispnéia e até mesmo a morte (Tizard, 2009). Cianose, eritema, salivação,

vômito também são sinais clínicos desse distúrbio e foram apresentados por alguns dos leitões experimentais, dos quais três deles, um de cada tratamento, vieram à óbito

É interessante observar que esta reação exacerbada após a segunda inoculação não ocorreu para as respostas de desempenho. O efeito deletério não foi cumulativo, uma vez que, na semana posterior à segunda inoculação, os leitões desafiados tiveram consumo de ração e ganho de peso similares aos animais não desafiados.

Produção de IgG contra BSA. A inclusão de 1% de CLA na dieta promoveu a maior produção de imunoglobulinas anti-BSA ($P = 0,0009$) (Tabela 3), independentemente do programa de estímulo com LPS, que não mostrou alterar esta resposta ($P > 0,05$).

Outros trabalhos também mostraram o CLA aumentando a produção de imunoglobulinas em leitões (Corino et al., 2002; Lai et al., 2005), em humanos (Song et al., 2005), em ratos (Sugano et al., 1998; Yamasaki et al., 2003; Ramírez-Santana et al., 2009) e em aves (He et al., 2007). O efeito materno também foi observado por Corino et al. (2009) que constataram que leitões desmamados de matrizes com 0,5% de CLA na dieta, tiveram maior peso corporal e maior produção de IgG. Esta resposta pode ser muito importante para animais recém-nascidos que ainda não desenvolveram plenamente os mecanismos da resposta imune específica.

Ainda não está claro o mecanismo pelo qual o CLA interfere na síntese das imunoglobulinas, mas uma possível explicação seria pelo seu envolvimento na produção das interleucinas (IL). Já foi observado que a IL-2 aumenta a síntese de IgG, IgA e IgM (Kawano and Noma, 1996) e a IL-4

aumenta a síntese de IgE (Coffman et al., 1986; Pène et al., 1988). Devido ao CLA ser capaz de estimular a produção de IL-2, enquanto reduz a de IL-4 (Yang and Cook, 2003), é possível que ele indiretamente eleve a síntese de IgG, IgA e IgM e diminua a de IgE.

Tabela 3 Efeitos da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) em leitões recém-desmamados na frequência respiratória (FR), na produção de IgG anti-BSA, na linfoproliferação (Linfop.) e na porcentagem das subpopulações linfocitárias CD4⁺ e CD8⁺

	FR*	IgG**	Linfop***	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
CLA					
0%	64	0,22	1,23	22,54	26,81
1%	51	0,49	1,36	22,46	27,77
2%	67	0,15	1,17	25,30	29,40
<i>P</i>	0,11	0,0009	0,39	0,08	0,14
LPS					
-	47	0,27	1,23	22,66	27,14
+	74	0,30	1,27	24,21	28,85
<i>P</i>	0,0001	0,68	0,70	0,17	0,11
Inoculação com LPS					
7º dia	52	-	-	-	-
21º dia	69	-	-	-	-
<i>P</i>	0,009	-	-	-	-
<i>P</i> CLA*LPS	0,91	0,08	0,58	0,44	0,37
Erro Padrão	25,18	0,27	0,28	2,93	2,76

*Médias das FR aos 90 minutos após as inoculações com LPS.

**Valores representam a média das densidades ópticas de IgG anti-BSA aos 18 e 32 dias. As inoculações com BSA foram aos 4 e 18 dias de experimento.

***Valores expressos em índice de estimulação.

É importante observar que o nível testado que promoveu a maior produção de IgG anti-BSA foi o intermediário. Quando se trata de um parâmetro imunológico, o nível de inclusão nutricional que promove melhor resposta nem sempre é o maior. Um exemplo é o trabalho de Silva et al. (2009)

em que foram testados 3 níveis de vitamina E (30, 65 e 100 mg/kg) na dieta de frangos de corte, sendo o nível intermediário aquele que promoveu maior produção de anticorpos contra doença de Newcastle.

O CLA parece ser capaz de diminuir as concentrações de ácido araquidônico nos fosfolipídios das membranas celulares e conseqüentemente a produção dos eicosanóides derivados de n-6 (PGE₂ e o LTB₄) aumentando, indiretamente os de n-3 (PGE₃ e o LTB₅), uma vez que ambos os ácidos graxos competem pelas mesmas enzimas (Li and Watkins, 1998; Sugano et al., 2000; Belury, 2002; He et al., 2007). A relação entre eicosanóides influencia diretamente o sistema imune e um desequilíbrio entre eles pode gerar diferentes respostas. Essa é uma possível explicação para o nível de 1% ter promovido uma melhor resposta humoral do que os tratamentos sem suplementação ou com a inclusão de 2% de CLA.

Proliferação de linfócitos e subpopulações linfocitárias CD4⁺ e CD8⁺.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para proliferação de linfócitos (Tabela 3). Também Ramírez-Santana et al. (2009) não encontraram diferenças na capacidade linfoproliferativa de ratos alimentados com 1% de CLA. Zhang et al. (2005), trabalhando com frangos de corte, não encontraram diferenças aos 21 dias, mas aos 42, o CLA incluído na dieta no nível de 1% aumentou esta resposta. Já Bassaganya-Riera et al. (2001) e Lai et al. (2005) trabalhando com leitões e Nunes et al. (2008), com cães, observaram aumento na proliferação de linfócitos em resposta ao CLA dietético.

Também não houve diferença significativa na porcentagem das subpopulações linfocitárias CD4⁺ ou CD8⁺ aos 32 dias de experimento (Tabela

5), ao contrário de Bassaganya-Riera et al. (2001), que observaram aumento linear na porcentagem de linfócitos CD8⁺ aos 42 dias pós-desmame de leitões suplementados com níveis de 0 a 2% de CLA. Em outro estudo de Bassaganya-Riera et al. (2003), além do aumento percentual de linfócitos CD8⁺, houve a diminuição da produção de IFN- γ pelo Th1 CD4⁺ em suínos infectados com circovírus que recebiam 1,33% de CLA na dieta. Lai et al. (2005), também observaram que a inclusão de 2% de CLA aumentou a porcentagem de linfócitos CD8⁺ e diminuiu a relação CD4⁺:CD8⁺ de leitões aos 14 e 28 dias pós-desmame. Tanto Bassaganya-Riera et al. (2001) quanto Lai et al. (2005) discutem que os linfócitos CD8⁺ representam numericamente a maior subpopulação linfocitária na circulação sanguínea de suínos e o tipo de imunomodulação induzido pelo CLA depende da função das células que expressam CD8⁺. Em aves, o CLA promoveu aumento das células CD4⁺ e não das CD8⁺ (DeVoney et al., 1997).

Os relatos dos efeitos do CLA em relação ao sistema imune variam desde estimulação, inibição ou falta de influência (Wong et al., 1997; Hayek et al., 1999; Bassaganya-Riera et al., 2001). Estas discrepâncias podem ser atribuídas a fatores como a condição da cultura celular (concentração do soro e mitógeno, tempo de cultivo), tipo celular (peritoneal, esplênico, periférico), composição da dieta, espécie e idade (Zhang et al., 2005). Além disso, o isômero de CLA prevalente na mistura a sua inclusão na dieta, podem determinar a atividade biológica (Pariza et al., 2001; Malovrh et al., 2009).

Proteínas plasmáticas, eritrograma e leucograma. Quando comparados os níveis de CLA, não houve diferença significativa para as respostas de proteínas plasmáticas (Tabela 4), eritrograma (Tabela 5) e

leucograma (Tabela 6). Para o desafio com LPS, mesmo quando houve diferença, os valores estavam dentro dos limites referenciados para a espécie. As exceções foram para as contagens de proteínas plasmáticas totais ($P = 0,006$), leucócitos ($P = 0,0001$) e neutrófilos ($P = 0,01$), nas quais o grupo inoculado com LPS teve valores abaixo dos considerados normais para a espécie.

A redução das proteínas plasmáticas totais é esperada em casos de reação inflamatória aguda (Silva et al., 2005) e está de acordo com o observado por Ribeiro et al. (2010). A globulina, o fibrinogênio e a albumina, que estava comparativamente diminuída nos leitões desafiados com LPS ($P = 0,0008$), são as principais proteínas plasmáticas. Na fase aguda da resposta inflamatória, além do aumento da temperatura corporal, ocorre também a ativação do catabolismo protéico e a redução das proteínas totais do plasma a fim de disponibilizar aminoácidos para rotas gliconeogênicas (Kaneko et al., 1997; Humphrey and Klasing, 2004) Com isso, ocorre queda na osmolaridade plasmática resultando na saída de líquidos da corrente circulatória para os tecidos. Esta saída de líquidos promove a hemoconcentração e é compatível com os valores mais elevados de hematócrito ($P = 0,038$) e hemácias ($P = 0,018$) apresentados pelo grupo desafiado com LPS.

A leucopenia é um dos efeitos mais importantes e característicos da exposição a uma endotoxina como o LPS (Bennett Jr. and Cluff, 1957; Schade, 1989). No presente estudo, essa diminuição nas células brancas ($P = 0,0001$) foi reflexo da neutropenia ($P = 0,01$) e da menor contagem da população de linfócitos ($P = 0,01$) no grupo desafiado com LPS. O maior número de eosinófilos ($P = 0,01$) desse grupo é coerente com o quadro de

hipersensibilidade já discutido anteriormente.

Tabela 4 Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) na contagem das proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina e fibrinogênio séricos aos 32 dias pós-desmame de leitões

	PPT (g/dL) *6-8	Albumina (g/dL) *1,8-3,3	Fibrinogênio (mg/dL) *100-500
CLA			
0%	5,8	2,7	280
1%	5,7	2,8	240
2%	5,7	2,7	200
<i>P</i>	0,98	0,60	0,08
LPS**			
-	6,0	2,9	267
+	5,5	2,6	213
<i>P</i>	0,006	0,0008	0,07
<i>P</i> CLA*LPS	0,85	0,30	0,40
Erro Padrão	4,66	2,16	0,75

*valores de referência para suínos segundo Kaneko (1997).

**Os desafios com LPS foram no 7º e 21º dia.

Tabela 5 Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) no eritrograma de leitões aos 32 dias pós-desmame

	HT (%) *32-50	HB (g/dL) *10-16	HEM (x10 ⁶ /μL) *5-8	VGM (fL) *50-68	CHGM (%) *30-34
CLA					
0%	36,80	10,6	5,9	62,3	28,9
1%	36,53	10,1	6,2	59,2	27,5
2%	36,20	10,4	5,9	61,1	28,9
<i>P</i>	0,91	0,55	0,59	0,29	0,45
LPS					
-	35,27	10,3	5,7	62,0	29,1
+	37,75	10,5	6,4	59,7	27,8
<i>P</i>	0,038	0,59	0,018	0,14	0,19
<i>P</i>	0,81	0,77	0,81	0,32	0,53
Erro Padrão	3,03	1,04	0,70	4,11	2,66

HT=hematócrito; HB=hemoglobina; HEM=hemácia, VGM=volume globular médio; CHGM=concentração de hemoglobina globular média

*valores de referência para suínos segundo Jain and Shalme's (1986).

**Os desafios com LPS foram no 7º e 21º dia.

Tabela 6 Efeito da inclusão dietética de ácido linoléico conjugado (CLA) e do desafio com lipopolissacarídeos de *E. coli* (LPS) no leucograma de leitões aos 32 dias pós-desmame

	LEUC (x10 ³ /μL) *11-22	NEUT (/μL) *3200- 10000	LINF (/μL) *4500- 13000	MON (/μL) *250- 2500	EOS (/μL) *50- 2000	BAST (/μL) *0- 800	BASO (/μL) *0- 400
CLA							
0%	11,1	3260	7273	604	233	0	0
1%	8,6	2977	5024	429	187	4	0
2%	13,2	3648	8004	1218	188	185	17
<i>P</i>	0,29	0,87	0,46	0,09	0,83	0,23	0,43
LPS							
-	15,4	4672	9484	887	108	41	0
+	6,6	1918	4050	613	297	85	11
<i>P</i>	0,0001	0,01	0,01	0,36	0,01	0,67	0,37
<i>P</i>	0,64	0,41	0,31	0,95	0,28	0,85	0,43
Erro Padrão	6257,1	2715,1	5258,4	775,1	179,0	262,6	33,2

LEUC=leucócitos; NEUT=neutrófilos; LINF=linfócitos; MON=monócitos; EOS=eosinófilos, BAST=neutrófilos em bastão; BASO=basófilos

*valores de referência para suínos segundo Jain and Shalme's (1986).

**Os desafios com LPS foram no 7^o e 21^o dia.

Conclusões

O ácido linoléico conjugado, quando incluído na dieta de leitões recém-desmamados no nível de 1%, mostrou sua ação benéfica pela estimulação da produção de IgG anti-BSA. Deste modo, o CLA é um nutracêutico que melhora a imunidade humoral. Outros parâmetros imunológicos e também o desempenho zootécnico não foram afetados pelo CLA dietético nem mesmo na presença de desafio com LPS, mostrando que o CLA não foi eficiente na reversão ou amenização do quadro de depressão instalado.

O desafio a partir da inoculação de LPS se mostrou como um modelo experimental eficiente para criar uma situação de estresse imunológico. Entretanto, é possível que no presente experimento a dose de 100 μg de LPS/kg de peso vivo tenha sido maior que a ideal, provocando uma depressão

superior à capacidade do CLA em demonstrar seu efeito nutracêutico nas respostas zootécnicas.

Literatura Citada

- Banks, W. J. 1991. *Histologia Veterinária Aplicada*. 2.ed. São Paulo: Manole.
- Bassaganya-Riera, J., R. M Pogradichniy, S. C. Jobgen, P. G. Halbur, K. J. Yoon, M. O'Shea, I. Mohede, and R. Hontecillas. 2003. Conjugated Linoleic Acid Ameliorates Viral Infectivity in a Pig Model of Virally Induced Immunosuppression. *J. Nutr.* 133:3204-3214.
- Bassaganya-Riera, J., R. Hontecillas, and D. C. Beitz. 2002. Colonic anti-inflammatory mechanisms of conjugated linoleic acid. *Clin. Nutr.* 21:451-459.
- Bassaganya-Riera, J., R. Hontecillas-Magarzo, K. Bregendahl, M. J. Wannemuehler, and D. Zimmerman. 2001. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. *J. Anim. Sci.* 79:714-721.
- Belury, M. A. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22:505-553.
- Bennett Jr., I. L., and E. Cluff. 1957. Bacterial pyrogens. *Pharmacol. Rev.* 9(Suppl. 4):427-479.
- Bergen, W. G., and G. Wu. 2009. Intestinal nitrogen recycling and utilization in health and disease. *J. Nutr.* 139(Suppl. 5):821-825.
- Blikslager, A. T., A. J. Moeser, J. L. Gookin, S. L. Jones, and J. Odle. 2007. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Phys. Rev.* 87:545-564.
- Coffman, R. L., J. Ohara, M. W. Bono, J. Carty, A. Zlotnik, and W. E. Paul. 1986. B cell stimulatory factor-I enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J. Immunol.* 136:4538-4541.
- Cook, M. E., C. C. Miller, Y. Park, and M. W. Pariza. 1993. Immune modulating by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult. Sci.* 72:1301-1305.
- Corino, C., G. Pastorelli, F. Rosi, V. Bontempo, and R. Rossi. 2009. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation in sows on performance and immunoglobulin concentration in piglets. *J. Anim. Sci.* 87:2299-2305.
- Corino, C., V. Bontempo, and D. Sciannimanico. 2002. Effects of dietary conjugated linoleic acid on some aspecific immune parameters and acute phase protein in weaned piglets. *Can. J. Anim. Sci.* 82:115-117.
- Dasu, M. R., S. Park, Devaraj, and I. Jialal. 2009. Pioglitazone inhibits Toll-like Receptor expression and activity in human monocytes and db/db mice. *Endocrinology.* 150:3457-3464.
- DeVoney, D., M. Pariza, and H. W. Cook. 1997. Conjugated linoleic acid increases blood and splenic T-cell response post lipopolysaccharide injection. *FASEB J.* 9:3355.
- Hall, G. A., and R. F. Byrne. 1989. Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic pigs. *Res. Vet. Sci.* 47:387-392.

- Hayek, M. G., S. N. Han, D. Wu, B. A. Watkins, M. Meydani, J. L. Dorsey, D. E. Smith, and S. N. Meydani. 1999. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6N CrIBr mice. *J. Nutr.* 129:32-38.
- He, X., H. Zhang, X. Yang, S. Zhang, Q. Dai, W. Xiao, and G. Ren. 2007. Modulation of immune function by conjugated linoleic acid in chickens. *Food Agric. Immunol.* 18:169-178.
- Humphrey, B. D., and K. C. Klasing. 2004. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. *World Poultry Sci. J.* 60:90-100.
- Jain, N. C., and O. W. Shalms. 1986. *Schalm's veterinary hematology*. 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jaudszus, A., M. Krokowski, P. Mockel, Y. Darcan, A. Avagyan, P. Matricardi, G. Jahreis, E. Hamelmann. 2008. *Cis-9, trans-11*-conjugated linoleic acid inhibits allergic sensitization and airway inflammation via a PPAR γ related mechanism in mice. *J. Nutr.* 138:1336-1342.
- Kaneko, J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss (eds.). 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. New York: Academic Press.
- Kawano, Y., and T. Noma. 1996. Role of interleukin-2 and interferon-gamma in inducing production of IgG subclasses in lymphocytes of human newborns. *Immunology.* 88:40-48.
- Klasing, K. C. 1988. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *J. Nutr.* 118(Suppl. 12):1436-1446.
- Lai, C., J. Yin, D. Li, L. Zhao, and X. Chen. 2005. Effects of dietary conjugated linoleic acid supplementation on performance and immune function of weaned pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 59(Suppl. 1):41-51.
- Lallès, J. P., P. Bosi, H. Smidt, and C. R. Stokes. 2007. Weaning - A challenge to gut physiologists. *Livest. Prod. Sci.* 108:82-93.
- Li, D., X. Changting, Q. Shiyan, Z. Jinhui, E. W. Johnson, and P. A. Thacker. 1999. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:179-188.
- Li, Y., and B. A. Watkins. 1998. Conjugated linoleic acids alters bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. *Lipids.* 33:417-425.
- Liu, Y. L., D. F. Li, L. M. Gong, G. F. Yi, A. M. Gaines, and J. A. Carroll. 2003. Effects of fish oil supplementation on the performance and the immunological, adrenal, and somatotropic responses of weaned pigs after an *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. *J. Anim. Sci.* 81:2758-2765.
- Liu, Y., J. Huang, Y. Hou, H. Zhu, S. Zhao, B. Ding, Y. Yin, G. Yi, J. Shi, and W. Fan. 2008. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs. *Br. J. Nutr.* 100:552-560.
- Machado, P. R. L., M. I. A. S. Araújo, L. Carvalho, and E. M. Carvalho. 2004. Mecanismos de resposta imune às infecções. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 79(Suppl. 6):647-664.
- Malovrh, T.; Kompan, L.; Juntas, P.; Wraber, B.; Spindler-Vesel, A.; Kompan, D. 2009. Influence of conjugated linoleic acid on the porcine immune response and morbidity: a randomized controlled trial. *Lipids Health Dis.* 8:(Suppl. 22).
- Nabuurs, M. J. A. 1991. Etiologic and pathogenic studies on postweaning

- diarrhoea. 1991. PhD tesis. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
- Nunes, E. A., S. J. Bonatto, H. H. P. Oliveira, N. L. M. Rivera, A. Maiorka, E. L. Krabbe, R. A. Tanhoffer, and L. C. Fernandes. 2008. The effect of dietary supplementation with 9-*cis*:12-*trans* and 10-*trans*:12-*cis* conjugated linoleic acid (CLA) for nine months on serum cholesterol, lymphocyte proliferation and polymorphonuclear cells function in Beagle dogs. *Res. Vet. Sci.* 84:62-67.
- O'shea, M., J. Bassaganya-Riera, and I. C. M. Mohede. 2004. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(Suppl. 6):1199-1206.
- Pariza, M. W., Y. Park, and M. E. Cook. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40:283-298.
- Pariza, M. W., Y. Park, and M. E. Cook. 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Exp. Biol. Med.* 223:8-13.
- Pène, J., F. Rousset, F. Brière, I. Chrétien, J. Wideman, J. Y. Bonnefoy, and J. E. De Vries. 1988. Interleukin 5 enhances Interleukin 4 induced IgE production by normal human B cells: The role of soluble CD23 antigen. *Eur. J. Immunol.* 18:929-935.
- Ramirez-Santana, C., F. J. Perez-Cano, C. Castellote, M. Castell, M. Rivero, M. R. Palmero, and A. Franch. 2009. Higher immunoglobulin production in conjugated linoleic acid-supplemented rats during gestation and suckling. *Br. J. Nutr.* 102:858-868.
- Reynolds, C. M., E. Draper, B. Keogh, A. Rahman, A. P. Moloney, K. H. Mills, C. E. Loscher, and H. M. Roche. 2009. A conjugated linoleic acid-enriched beef diet attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in mice in part through PPAR γ -mediated suppression of toll-like receptor 4. *J. Nutr.* 139:2351-2357.
- Ribeiro, A. M. L., V. S. Ledur, A. M. Kessler, M. M. Vieira, M. L. Moraes, and J. Grandi. 2010. Níveis de β -glucanos em dietas de leitões na fase inicial. In: *Proc. 47^a Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia*, Salvador, BA. 1 CD-ROM.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, and J. L. Donzele. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Universidade Federal de Viçosa, MG.
- Schade, U. F. 1989. The role of prostacyclin in the protective effects of pentoxifylline and other xanthine derivatives in endotoxin action in mice. *Eicosanoids.* 2(Suppl. 3):183-188.
- Silva, I. C. M., A. M. L. Ribeiro, C. W. Canal, C. C. Pinheiro, M. M. Vieira, T. A. Gonçalves, R. A. Pereira, and L. Lacerda. 2009. Broiler chicken responses to immunological stimuli as mediated by different levels of vitamin E in the diet. *JAPR.* 18:752-760.
- Silva, T. C. P., S. B. Mota, M. M. C. Almeida, C. S. Ferreira, M. A. G. Ururahy, J. F. Bezerra, N. M. L. Pereira, A. M. O. Ramos, M. G. Almeida, and A. A. Rezende. 2005. Efeito do tamoxifeno no perfil das proteínas plasmáticas em condição de diabetes mellitus tipo 1. *Acta Cir. Bras.* 20(Suppl. 1):86-93.
- Song, H. J., I. Grant, D. Rotondo, I. Mohede, N. Sattar, S. D. Heys, and K. W. Wahle. 2005. Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59:508-517.
- Sugano, M., T. Koga, and K. Yamada. 2000. Lipids and immunology. *Asia Pac. J.*

- Clin. Nutr. 9(Suppl. 2):146-152.
- Sugano, M., A. Tsujita, M. Yamasaki, M. Noguchi, and K. Yamada. 1998. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediator and immune globulins in rats. *Lipids*. 33:521-527.
- Takahashi, K., K. Kawamata, Y. Akiba, T. Iwata, and M. Kasai. 2002. Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers on early inflammatory responses in male broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 43:47-53.
- Tizard, I. R. 2009. *Imunologia Veterinária: Uma Introdução*. 8. ed. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Van Heugten, E., J. W. Spears, and T. Coffey. 1994. The effect of dietary protein on performance and immune response in weanling pigs subjected to an inflammatory challenge. *J. Anim. Sci.* 72:2661-2669.
- Wong, M. W., B. P. Chew, T. S. Wong, H. L. Hosick, T. D. Boylston, and T. D. Shultz. 1997. Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. *Anticancer Res.* 17:987-993.
- Wright, K. J., R. Balaji, C. M. Hill, S. S. Dritz, E. L. Knoppel, and J. E. Minton. 2000. Integrated adrenal, somatotropic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.* 78:1892-1899.
- Yamasaki, M., H. Chujo, A. Hirao, N. Koyanagi, T. Okamoto, N. Tojo, A. Oishi, T. Iwata, Y. Yamauchi-Sato, T. Yamamoto, K. Tsutsumi, H. Tachibana, and K. Yamada. 2003. Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C57BL/6J mice by dietary *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid. *J. Nutr.* 133:784-788.
- Yang, M., and M. E. Cook. 2003. Dietary conjugated linoleic acid decreased cachexia, macrophage tumor necrosis factor- α production, and modifies splenocyte cytokines production. *Exp. Biol. Med.* 228:51-58.
- Yu, Y., P. H. Correll, and J. P. Vanden Heuvel. 2002. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: Evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. *Biochim. Biophys. Acta.* 1581(Suppl. 3):89-99.
- Zhang, H., Y. Guo, and J. Yuan. 2005. Effects of conjugated linoleic acids on growth performance, serum lysozyme activity, lymphocyte proliferation, and antibody production in broiler chicks. *Archives of Animal Nutrition.* 59:293-301.
- Zhao, L., J. Yin, D. Li, C. Lai, X. Chen, and D. Ma. 2005. Conjugated linoleic acid can prevent tumor necrosis factor gene expression by inhibiting nuclear factor binding activity in peripheral blood mononuclear cells from weaned pigs challenged with lipopolysaccharide. *Arch. Anim. Nutr.* 59(Suppl. 6):429-438.
- Zhou, X. R., C. H. Sun, J. R. Liu, and D. Zhao. 2008. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR gamma gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. *Growth Horm. IGF Res.* 18:361-368.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ácido linoléico conjugado mostrou seu efeito de estimulação da resposta imune humoral quando incluído na dieta no nível de 1%. O aumento na produção de IgG pelos leitões imunizados com BSA permitiu essa conclusão. Dentre os parâmetros imunológicos avaliados, estavam também o índice de proliferação de linfócitos, percentagens das sub-populações linfocitárias CD4⁺ e CD8⁺, contagens de proteínas plasmáticas, eritrograma, leucograma, temperatura retal e frequência respiratória após desafio imunológico com LPS. Entretanto, níveis dietéticos de 1 e 2% de CLA não influenciaram essas respostas. Também o desempenho zootécnico não foi afetado pelo CLA.

O desafio com LPS causou acentuado estresse imunológico nos animais, que pôde ser comprovada pela sintomatologia clínica logo após a administração, aumento da temperatura retal e frequência respiratória, além de diferenças em relação ao grupo controle nos valores de proteínas plasmáticas, eritrograma e leucograma. Os resultados experimentais também mostram que os dois desafios geraram pior desempenho apenas nas semanas das inoculações, porém as quedas de rendimento não foram compensadas até os 35 dias pós-desmame.

O fato de não ter havido interação entre o CLA e o desafio com LPS

para nenhuma das respostas avaliadas mostra que o CLA não foi eficiente para reverter ou amenizar o quadro de depressão provocado pelo modelo experimental adotado.

Outras pesquisas já desenvolvidas com o CLA mostram resultados conflitantes, que vão desde estimulação até inibição dos parâmetros imunológicos. Isto pode ser atribuído em parte às diferenças metodológicas entre os estudos, como a espécie animal testada, idade, nível de inclusão de CLA, isômero ou combinação de isômeros de CLA, métodos de avaliação da resposta imune, desafio utilizado como ferramenta, bem como sua dose. É possível que no presente experimento, a situação de desafio provocada pela inoculação de LPS tenha sido acima da capacidade do CLA demonstrar seu efeito imunomodulador, já observado por outros autores. Talvez, com a diminuição da dose de LPS, se encontre efeito do CLA não apenas sobre outros parâmetros imunológicos, como também sobre o desempenho zootécnico de leitões recém-desmamados.

A metodologia de uso do LPS mostrou ser uma ferramenta interessante para simular desafios de campo. No entanto, não pode ser considerada um mimetismo do que ocorre ao natural, pois o efeito provocado pelo desmame é aditivo, envolvendo não só a presença de patógenos como também todo o estresse gerado pela troca da alimentação com o leite materno por um ração seca, além da mistura de diferentes leitegadas com consequentes brigas e estresse social para determinação da hierarquia.

Nos trabalhos que estudam a influência de nutrientes em parâmetros imunológicos é comum encontrar uma grande variabilidade entre as respostas dos indivíduos que pertencem a um mesmo tratamento. Para se obter um

resultado consistente, é necessário ter o maior número possível de unidades experimentais por tratamento. Porém, isto nem sempre é fácil quando se trata de um ensaio com leitões e sobretudo na área da imunidade, uma vez que as análises são caras e difíceis de serem executadas. Além disso, são animais de elevado custo e que exigem uma estrutura grande, funcional e eficiente para controle do consumo alimentar. No presente experimento, foram utilizadas 5 (tratamentos com 1 e 2% de CLA) e 6 (tratamentos sem inclusão de CLA) repetições. Talvez com um maior número de repetições, alguma diferença que não foi considerada estatisticamente pudesse ter sido observada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**, 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000, 533p.

Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br>>. Acesso em: 26 jan. 2010.

ANGEL, A. Preface. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, p. 1131-1140, 2004.

ARSTILA, T. P.; VAINIO, O.; LASSILA, O. Central role of CD4⁺ T cells in avian immune response. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, p. 1019-1026, 1994.

AYDIN, R. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**, İstanbul, v. 29, p. 189-195, 2005.

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1991, 631p.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS, R. CLA and n-3 PUFA differentially modulate clinical activity and colonic PPAR-responsive gene expression in a pig model of experimental IBD. **Clinical Nutrition**, London, v. 25, p. 454-65, 2006.

BASSAGANYA-RIERA, J.; POGRANICHNIY, R. M.; JOBGEN, S. C.; HALBUR, P. G.; YOON, K. J.; O'SHEA, M.; MOHEDE, I.; HONTECILLAS, R. Conjugated Linoleic Acid Ameliorates Viral Infectivity in a Pig Model of Virally Induced Immunosuppression. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, p. 3204-3214, 2003.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS, R.; BEITZ, D. C. Colonic anti-inflammatory mechanisms of conjugated linoleic acid. **Clinical Nutrition**, London, v. 21, p. 451-459, 2002.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS-MAGARZO, R.; BREGENDAHL, K.; WANNEMUEHLER, M. J.; ZIMMERMAN, D. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 714-721, 2001.

BEE, G. Dietary conjugated linoleic acids alter adipose tissue and milk lipids of pregnant and lactating sows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 2292-2298, 2000.

BELURY, M. A. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects

and mechanisms of action. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 22, p. 505-553, 2002.

BENNETT JR., I. L.; CLUFF, L. E. Bacterial pyrogens. **Pharmacological Reviews**, Baltimore, v. 9, n. 4, p. 427-479, 1957.

BERGAMO, G. C.; DIAS, C. T. S.; KRZANOWSKI, W. J. Distribution-Free Multiple Imputation In An Interaction Matrix Through Singular Value Decomposition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 422-427, 2008.

BERGEN, W. G., AND G. WU. Intestinal nitrogen recycling and utilization in health and disease. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 139, n. 5, p. 821-825, 2009.

BETZ, M.; FOX, B. S. Prostaglandin E2 inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 146, p. 108-113, 1991.

BLIKSLAGER, A. T.; MOESER, A. J.; GOOKIN, J. L.; JONES, S. L.; ODLE, J. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 87, p. 545-564, 2007.

BONTEMPO, V.; SCIANNIMANICO, D.; PASTORELLI, G.; ROSSI, R.; ROSI, F.; CORINO, C. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sow and piglets. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 817-824, 2004.

CHEW, B. P.; WONG, T. S.; SHULTZ, T. D.; MAGNUSON, N. S. Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. **Anticancer Research**, Athens, v. 17, p. 1099-1106, 1997.

CHIN, S. F.; STORKSON, J. M.; ALBRIGHT, K. J.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, p. 2344-2349, 1994.

CHIN, S. F.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; HA, Y. L.; PARIZA, M. W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. **Journal of Food Composition and Analysis**, Rome, v. 5, p. 185-197, 1992.

COFFMAN, R. L.; OHARA, J.; BONO, M. W.; CARTY, J.; ZLOTNIK, A.; PAUL, W. E. B cell stimulatory factor-I enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 136, p. 4538-4541, 1986.

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

COOKE, A. Th17 Cells in Inflammatory Conditions. **The Review of Diabetic Studies**, Duisburg, v. 3, n. 2, p.72-75, 2006.

CORINO, C.; PASTORELLI, G.; ROSI, F.; BONTEMPO, V.; ROSSI, R. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation in sows on performance and

immunoglobulin concentration in piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 2299-2305, 2009.

CORINO, C.; BONTEMPO, V.; SCIANNIMANICO, D. Effects of dietary conjugated linoleic acid on some aspecific immune parameters and acute phase protein in weaned piglets. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 82, p. 115-117, 2002.

CORL, B. A.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E.; Ip, C. *cis*-9, *trans*-11 CLA derived endogenously from *trans*-11 18:1 reduces cancer risk in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, p. 2893-900, 2003.

DARDALHON, V.; AWASTHI, A.; KWON, H.; GALILEOS, G.; GAO, W.; SOBEL, R. A. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells. **Nature Immunology**, New York, v. 9, p. 1347-1355, 2008.

DASU, M. R.; PARK, S.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Pioglitazone inhibits Toll-like Receptor expression and activity in human monocytes and db/db mice. **Endocrinology**, Chevy Chase, v. 150, p. 3457-3464, 2009.

DAVISON, T. F. Cell-mediated immunity: Effector functions in Poultry Immunology. In: Davison, T. F.; Morris, T. R.; Payne, L. N. **Poultry Science Symposium Series**. Abingdon, UK: Carfax Publishing Company, 1996. p. 115-134.

DEVONEY, D.; PARIZA, M.; COOK, H. W. Conjugated linoleic acid increases blood and splenic T-cell response post lipopolysaccharide injection. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 9, p. 3355, 1997.

ERF, G. F. Cell-Mediated Immunity in Poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 580-590, 2004.

FRENCH, P.; STANTON, C.; LAWLESS, F.; O'RIORDAN, G.; MONAHAN, F. J.; CAFFREY, P. J.; MOLONEY, A. P. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 2849-2855, 2000.

GNADIG, S., XUE, Y. B., BERDEAUX, O., CHARDIGNY, J. M., SEBEDIO, J. L. Conjugated linoleic acid as a functional ingredient dans. In: Mattila-Sandholm, T., Saarela, M. (eds). **Functional dairy products**, Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2003. p. 263-298.

GOBEL, T. W.; KASPERS, B.; STANGASSINGER, M. NK and T cells constitute two major, functionally distinct intestinal epithelial lymphocyte subsets in the chicken. **International Immunology**, London, v. 13, p. 757-762, 2001.

GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by 9-desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 2285-2291, 2000.

GRIINARI, J. M.; NURMELA, K.; DWYER, D. A.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E. Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat

percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n.1, p.117-118, 1999.

HALL, G. A.; BYRNE, R. F. Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic pigs. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 47, p. 387-392, 1989.

HASLER, F.; BLUESTEIN, H. G.; ZVAIFLER, N. J.; EPSTEIN, L. B. Analysis of the defects responsible for the impaired regulation of EVB-induced B cell proliferation by rheumatoid arthritis lymphocytes. Role of monocytes and the increased sensitivity of rheumatoid arthritis lymphocytes to prostaglandin E. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 131, p. 768-772, 1983.

HAYEK, M. G.; HAN, S. N.; WU, D.; WATKINS, B. A.; MEYDANI, M.; DORSEY, J. L.; Smith, D. E.; Meydani, S. N. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6N CrI/Br mice. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, p. 32-38, 1999.

HE, X.; ZHANG, H.; YANG, X.; ZHANG, S.; DAI, Q.; XIAO, W.; REN, G. Modulation of immune function by conjugated linoleic acid in chickens. **Food and Agricultural Immunology**, London, v. 18, p. 169-178, 2007.

HOU, Y.; WANG, L.; DING, B.; LIU, Y.; ZHU, H.; LIU, J.; LI, Y.; WU, X.; YIN, Y.; WU, G. Dietary α -ketoglutarate supplementation ameliorates intestinal injury in lipopolysaccharide-challenged piglets. **Journal of Amino Acids**, London, n. 39, p. 555-564, 2010.

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

HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. **Livestock Science**, [S.I.], v. 110, n. 3, p. 221-229, 2007.

JAIN, N. C.; SHALMS, O. W. **Schalm's veterinary hematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.

JANKOVIC, D.; LIU, Z.; GAUSE, W. C. Th1- and Th2-cell commitment during infectious disease: Asymmetry in divergent pathways. **Trends in Immunology**, Cambridge, v. 22, p. 450-457, 2001.

JAUDSZUS, A.; KROKOWSKI, M.; MOCKEL, P.; DARCAN, Y.; AVAGYAN, A.; MATRICARDI, P.; JAHREIS, G.; HAMELMANN, E. *Cis-9,trans-11*-conjugated linoleic acid inhibits allergic sensitization and airway inflammation via a PPAR gamma related mechanism in mice. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, p. 1336-1342, 2008.

JANEWAY, C. A. J.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. J. **Immunobiology: the immune system in health and disease**, 5th ed., New York: Garland Publishing, 2001.

JOHNSON, R. W. Inhibition of growth by proinflammatory cytokines: an intergrated view. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1244-1255, 1997.

JUANÉDA, P.; PÉRIÈRE, S. B. P.; SÉBÉDIO, J. L.; GRÉGOIRE, S. Influence of Heat and Refining on Formation of CLA Isomers in Sunflower Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 937-940, 2003.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.

KAWANO, Y.; NOMA, T. Role of interleukin-2 and interferon-gamma in inducing production of IgG subclasses in lymphocytes of human newborns. **Immunology**, Oxford, v. 88, p. 40-48, 1996.

KENNEDY, A.; MARTINEZ, K.; SCHMIDT, S.; MANDRUP S.; LAPOINT, K.; MCINTOSH, M. Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Lexington, v. 21, n. 3, p. 171-179, 2010.

KINSELLA, J. E.; LOKESH, B.; STONE, R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular diseases: possible mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 52, p. 10-28, 1990.

KLASING, K. C. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, n. 12, p. 1436-1446. 1988.

KORVER, D. R. AND KLASING, K. C. Dietary fish oil alters specific and inflammatory responses in chicks. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 2039-2046, 1997.

KORVER, D. R. Overview of the Immune Dynamics of the Digestive System. **The Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 15, p. 123-135, 2006.

KRAMER, J. K. G.; SEHATB, N.; DUGANC, M. E. R.; MOSSOBAB, M. M.; YURAWECZB, M. P.; ROACHB, J. A. G.; EULITZB, K.; AALHUSC, J. L.; SCHAEFERC, A. L.; KUB, Y. Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion-high-performance liquid chromatography. **Lipids**, Champaign, v. 33, n. 6, p. 549-558, 1998.

LAI, C.; YIN, J.; LI, D.; ZHAO, L.; CHEN, X. Effects of dietary conjugated linoleic acid supplementation on performance and immune function of weaned pigs. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 59, n. 1, p. 41-51, 2005.

LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Weaning - A challenge to gut physiologists. **Livestock Science**, New York, v. 108, p. 82-93, 2007.

LARSSON, A.; CARLANDER, D. Resistance and Various Kinds of Immunity in Birds. In: Thankam, M. (Ed). **Modern Concepts of Immunology in Veterinary Medicine: Poultry Immunology**. West Orange, USA: Thajema Publishing, 2002, p. 48-49.

LI, D.; CHANGTING, X.; SHIYAN, Q.; JINHUI, Z.; JOHNSON, E. W.; THACKER, P. A. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v. 78, p. 179-188, 1999.

LI, Y.; WATKINS, B. A. Conjugated linoleic acids alters bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or

n-3 fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 33, p. 417-425, 1998.

LIU, Y. L.; LI, D. F.; GONG, L. M.; YI, G. F.; GAINES, A. M.; CARROLL, J. A. Effects of fish oil supplementation on the performance and the immunological, adrenal, and somatotropic responses of weaned pigs after an *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 2758-2765, 2003.

LIU, Y.; HUANG, J.; HOU, Y.; ZHU, H.; ZHAO, S.; DING, B.; YIN, Y.; YI, G.; SHI, J.; FAN, W. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, London, v. 100, p. 552-560, 2008.

LOSCHER C. E., DRAPER E., LEAVY O., KELLEHER D., MILLS K. H., ROCHE H. M. Conjugated linoleic acid suppresses NF-kappa B activation and IL-12 production in dendritic cells through ERK-mediated IL-10 induction. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 175, p. 4990-4998, 2005.

MACHADO, P. R. L.; ARAÚJO, M. I. A. S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E. M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MALOVRH, T.; KOMPAN, L.; JUNTES, P.; WRABER, B.; SPINDLER-VESEL, A.; KOMPAN, D. Influence of conjugated linoleic acid on the porcine immune response and morbidity: a randomized controlled trial. **Lipids in health and disease**, London, v. 8, n. 22, 2009.

MERLINO, P. G.; MARSH, J. A. The enhancement of avian NK cell cytotoxicity by thymulin is not mediated by the regulation of IFN-gamma production. **Developmental and Comparative Immunology**, Elmsford, v. 26, p. 103-110, 2002.

MILLER, C. C.; PARK, Y.; PARIZA, M. W.; COOK, M. E. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 198, p. 1107-1112, 1994.

MONTASSIER, H. J. Enfermidades do sistema imune. In: Berchieri, A.; Macari, M.; **Doenças das aves**. Jaboticabal: Funep-Unesp; 2000. p. 141-150.

NABUURS, M. J. A. **Etiologic and pathogenic studies on postweaning diarrhoea**. 1991. Tese de doutorado - Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1991.

NAGAO, K.; YANAGITA, T. Bioactive lipids in metabolic syndrome. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 47, p. 127-46, 2008.

NUNES, E. A.; BONATTO, S. J.; OLIVEIRA, H. H. P.; RIVERA, N. L. M.; MAIORKA, A.; KRABBE, E. L.; TANHOFFER, R. A.; FERNANDES, L. C. The effect of dietary supplementation with 9-*cis*:12-*trans* and 10-*trans*:12-*cis* conjugated linoleic acid (CLA) for nine months on serum cholesterol, lymphocyte proliferation and polymorphonuclear cells function in Beagle dogs. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 84, p. 62-67, 2008.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE, I. C. M. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**,

Bethesda, v. 79, n. 6, p. 1199-1206, 2004.

PALMQUIST, D. L.; LOCK, A. L.; SHINGFIELD K. J.; BAUMAN, D. E.; Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advances in Food & Nutrition Research**, San Diego, v. 50, p. 179-217, 2005.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 40, p. 283-298, 2001.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. **Society for Experimental Biology and Medicine**, Baltimore, v. 223, p. 8-13, 2000.

PARIZA, M. W.; HARGREAVES, W. A. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. **Carcinogenesis**, New York, v. 6, n. 4, p. 591-593, 1985.

PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad trans fat? **Journal of Food Composition and Analysis**, London, v. 22, p. S4-S12, 2009.

PARODI, P. W. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agent. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 1055-1060, 1997.

PARODI, P. W. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 1550-1553, 1977.

PÈNE, J.; ROUSSET, F.; BRIÈRE, F.; CHRÉTIEN, I.; WIDEMAN, J.; BONNEFOY, J. Y.; DE VRIES, J. E. Interleukin 5 enhances Interleukin 4 induced IgE production by normal human B cells: The role of soluble CD23 antigen. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v. 18, p. 929-935, 1988.

POLLARD, M. R.; GUNSTONE, F. D.; JAMES, A. T.; MORRIS, L. J. **Lipids**, Champaign, v. 15, p. 306-314, 1980.

QURESHI, M. A.; HUSSAIN, I.; HEGGEN, C. L. Understanding immunology in disease development and control. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, p. 1126-1129, 1998.

RAMIREZ-SANTANA, C.; PEREZ-CANO, F. J.; CASTELLOTE, C.; CASTELL, M.; RIVERO, M.; PALMERO, M. R.; FRANCH, A. Higher immunoglobulin production in conjugated linoleic acid-supplemented rats during gestation and suckling. **British Journal of Nutrition**, London, v. 102, p. 858-868, 2009.

REYNOLDS, C. M.; DRAPER, E.; KEOGH, B.; RAHMAN, A.; MOLONEY, A. P.; MILLS, K. H.; LOSCHER, C. E.; ROCHE, H. M. A conjugated linoleic acid-enriched beef diet attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in mice in part through PPAR γ -mediated suppression of toll-like receptor 4. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 139, p. 2351-2357, 2009.

RIBEIRO, A. M. L.; LEDUR, V. S.; KESSLER, A. M.; VIEIRA, M. M.; MORAES, M. L.; GRANDI, J. Níveis de β -glucanos em dietas de leitões na fase inicial. In: 47^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Salvador, BA, 2010. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

- ROITT, I.; BROSTOFF, J.; Male, D. **Imunologia**. 6. ed. Barueri: Manole, 2003.
- ROOKE, J. A.; BLAND, I. M. The acquisition of passive immunity in the new-born piglet. **Livestock Production Science**, New York, v. 78, p. 13-23, 2002.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- SANTORA, J. E.; PALMQUIST, D. L.; ROEHRIG, K. L. Transvaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 208-215, 2000.
- SCHADE, U. F. The role of prostacyclin in the protective effects of pentoxifylline and other xanthine derivatives in endotoxin action in mice. **Eicosanoids**, Berlin, v. 2, n. 3, p. 183-188, 1989.
- SHERWIN, C.; BROADBENT, R.; YOUNG, S.; WORTH, J.; MCCAFFREY, F.; MEDLICOTT, N. J.; REITH, D. Utility of interleukin-12 and interleukin-10 in comparison with other cytokines and acute-phase reactants in the diagnosis of neonatal sepsis. **American Journal of Perinatology**, New York, v. 25, p. 629-36, 2008.
- SILVA, I. C. M.; RIBEIRO, A. M. L.; CANAL, C. W.; PINHEIRO, C. C.; VIEIRA, M. M.; GONÇALVES, T. A.; PEREIRA, R. A.; LACERDA, L. Broiler chicken responses to immunological stimuli as mediated by different levels of vitamin E in the diet. **The Journal of Applied Poultry Research**, Stanford, v.18, p. 752-760, 2009.
- SILVA, T. C. P.; MOTA, S. B.; ALMEIDA, M. M. C.; FERREIRA, C. S.; URURAHY, M. A. G.; BEZERRA, J. F.; PEREIRA, N. M. L.; RAMOS, A. M. O.; ALMEIDA, M. G.; REZENDE, A. A. Efeito do tamoxifeno no perfil das proteínas plasmáticas em condição de diabetes mellitus tipo 1. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 20 n. 1, p. 86-93, 2005.
- SONG, H. J.; GRANT, I.; ROTONDO, D.; MOHEDE, I.; SATTAR, N.; HEYS, S. D.; WAHLE, K. W. Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. **European Journal of Clinical Nutrition**, [S.l.], v. 59, p. 508-517, 2005.
- SUGANO, M.; KOGA, T.; YAMADA, K. Lipids and immunology. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Hong Kong, v. 9, n. 2, p. 146–152, 2000.
- SUGANO, M.; TSUJITA, A.; YAMASAKI, M.; NOGUCHI, M.; YAMADA, K. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediator and immune globulins in rats. **Lipids**, Champaign, v. 33, p. 521-527, 1998.
- TAKAHASHI, K.; KAWAMATA, K.; AKIBA, Y.; IWATA, T.; KASAI, M. Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers on early inflammatory responses in male broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v. 43, p. 47-53, 2002.
- TAKAHASHI, K.; ONODERA, K.; AKIBA, Y. Effect of dietary xylitol on growth and inflammatory responses in immune stimulated chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v. 40, p. 546-548, 1999.

TAKAHASHI, K.; MIYAKE, N.; OHTA, T.; AKIBA, Y.; TAMURA, K. Changes in plasma a 1-acid glycoprotein concentration and selected immune response in broiler chickens injected with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **British Poultry Science**, Cambridge, v. 39, p. 152-155, 1998.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: Uma Introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.

VAINIO, O.; TOIVANEN, P.; TOIVANEN, A. Major histocompatibility complex and cell cooperation. **Poultry Science**, Champaign, v. 66, p. 795-801, 1987.

VAINIO, O.; VEROMAA, T.; EEROLA, E.; TOIVANEN, P.; RATCLIFFE, M. J. Antigen-presenting cell-T cell interaction in the chicken is MHC class II antigen restricted. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 140, p. 2864-2868, 1988.

VAN HEUGTEN, E.; SPEARS, J. W.; COFFEY, T. The effect of dietary protein on performance and immune response in weanling pigs subjected to an inflammatory challenge. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2661-2669, 1994.

VELDHOEN, M.; UYTENHOVE, C.; VAN SNICK, J.; HELMBY, H.; WESTENDORF, A.; BUER, J. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. **Nature Immunology**, New York, v. 9, p. 1341-1346, 2008.

WALLACE, R. J.; MCKAIN, N.; SHINGFIELD, K. J.; DEVILLARD, E. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. **Journal Lipid Research**, Bethesda, v. 48, n. 10, p. 2247-2254, 2007.

WANG, Y.; JONES, P. J. H. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, p. 1153-1158, 2004.

WONG, M. W.; CHEW, B. P.; WONG, T. S.; HOSICK, H. L.; BOYLSTON, T. D.; SHULTZ, T. D. Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. **Anticancer Research**, Athens, v. 17, p. 987-993, 1997.

WRIGHT, K. J.; BALAJI, R.; HILL, C. M.; DRITZ, S. S.; KNOPPEL, E. L.; MINTON, J. E. Integrated adrenal, somatotropic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1892-1899, 2000.

XING, J.; WU, Y.; NI, B. Th9: A New Player in Asthma Pathogenesis? **Journal of Asthma**, New York, v. 2, 2011.

YAQOUB, P.; CALDER, P. C. Os sistemas imune e inflamatório. In: GIBNEY, M. J.; MACDONALD, I. A.; ROCHE, H. M. (Eds.). **Nutrição e Metabolismo**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 257-276.

YAMASAKI, M.; CHUJO, H.; HIRAO, A.; KOYANAGI, N.; OKAMOTO, T.; TOJO, N.; OISHI, A.; IWATA, T.; YAMAUCHI-SATO, Y.; YAMAMOTO, T.; TSUTSUMI, K.; TACHIBANA, H.; YAMADA, K. Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C57BL/6J mice by dietary *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid. **Journal of Nutrition**,

Philadelphia, v. 133, p. 784-788, 2003.

YANG, M.; COOK, M. E. Dietary conjugated linoleic acid decreased cachexia, macrophage tumor necrosis factor- α production, and modifies splenocyte cytokines production. **Experimental Biology and Medicine**, London, v. 228, p. 51-58, 2003.

YU, Y.; CORRELL, P. H.; VANDEN HEUVEL, J. P. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: Evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1581, n.3, p. 89–99, 2002.

ZHANG, H.; GUO, Y.; YUAN, J. Effects of conjugated linoleic acids on growth performance, serum lysozyme activity, lymphocyte proliferation, and antibody production in broiler chicks. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 59, p. 293-301, 2005.

ZHAO, L.; YIN, J.; LI, D., LAI, C.; CHEN, X.; MA, D. Conjugated linoleic acid can prevent tumor necrosis factor gene expression by inhibiting nuclear factor binding activity in peripheral blood mononuclear cells from weaned pigs challenged with lipopolysaccharide. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 59, n. 6, p. 429-438, 2005.

ZHOU, X. R.; SUN, C. H.; LIU, J. R.; ZHAO, D. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR gamma gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. **Growth Hormone & IGF Research**, New York, v. 18, p. 361-368, 2008.

APÊNDICE 1. Observações experimentais: desempenho zootécnico semanal

Tratamento			PC	PC	CR	GP	CA	PC	CR	GP	CA	PC	CR
CLA (%)	LPS	REP	1	7	1a7	1a7	1a7	14	7a14	7a14	7a14	21	14a21
0	+	1	8,08	10,10	1,91	2,02	0,95	11,64	2,17	1,54	1,41	14,10	3,91
0	+	2	9,20	11,52	2,52	2,32	1,09	14,14	3,36	2,62	1,28	17,56	4,28
0	+	3	8,10	10,92	3,20	2,82	1,13	14,06	4,25	3,14	1,35	18,40	5,35
0	+	4	7,62	9,96	2,05	2,34	0,87	11,52	2,09	1,56	1,34	15,14	4,30
0	+	5	10,68	13,14	2,54	2,46	1,03	15,74	3,06	2,60	1,18	21,64	6,13
0	+	6	8,90	12,20	3,38	3,30	1,02	13,48	2,57	1,28	2,01	18,32	5,87
0	-	1	7,76	9,58	1,29	1,82	0,71	12,32	3,45	2,74	1,26	16,88	5,74
0	-	2	8,26	11,56	3,55	3,30	1,08	16,62	6,82	5,06	1,35	21,90	8,48
0	-	3	8,82	10,98	1,47	2,16	0,68	14,34	3,88	3,36	1,15	19,32	5,48
0	-	4	10,04	12,54	2,76	2,50	1,11	16,16	4,74	3,62	1,31	21,04	5,07
0	-	5	7,70	8,80	0,88	1,10	0,80	11,98	3,41	3,18	1,07	16,76	5,42
0	-	6	8,60	10,50	2,11	1,90	1,11	13,60	3,69	3,10	1,19	19,56	8,39
1	+	1	8,60	11,66	3,05	3,06	1,00	13,64	3,25	1,98	1,64	18,18	5,09
1	+	2	9,28	13,14	4,20	3,86	1,09	15,34	3,31	2,20	1,51	21,50	8,08
1	+	3	9,32	11,70	2,38	2,38	1,00	12,32	1,95	0,62	3,15	15,96	4,51
1	+	4	8,72	10,46	2,65	1,74	1,52	13,08	3,03	2,62	1,16	17,08	4,99
1	+	5	8,80	11,34	2,94	2,54	1,16	14,62	3,94	3,28	1,20	18,50	5,41
1	-	1	9,50	12,04	2,48	2,54	0,98	16,16	5,12	4,12	1,24	21,88	6,68
1	-	2	8,92	9,12	0,41	0,20	2,06	11,80	2,38	2,68	0,89	14,76	4,10
1	-	3	8,98	10,90	1,03	1,92	0,54	14,22	3,89	3,32	1,17	19,42	6,49
1	-	4	7,48	10,60	3,17	3,12	1,01	14,06	4,51	3,46	1,30	14,42	3,36
1	-	5	8,20	11,66	3,60	3,46	1,04	15,62	5,21	3,96	1,32	20,62	5,72
2	+	1	10,58	13,24	2,89	2,66	1,09	15,72	3,56	2,48	1,44	19,58	5,54
2	+	2	9,26	12,84	3,54	3,58	0,99	15,90	4,09	3,06	1,34	22,40	8,68
2	+	3	8,80	12,10	3,75	3,30	1,14	14,78	3,97	2,68	1,48	21,16	6,86
2	+	4	8,50	11,90	3,34	3,40	0,98	14,38	3,84	2,48	1,55	19,30	6,32
2	+	5	8,94	11,80	2,99	2,86	1,05	13,40	2,51	1,60	1,57	18,36	6,76
2	-	1	10,00	12,28	2,47	2,28	1,08	15,44	4,06	3,16	1,29	21,06	6,58
2	-	2	9,30	12,90	3,61	3,60	1,00	18,36	6,08	5,46	1,11	23,72	7,39
2	-	3	9,04	11,06	2,16	2,02	1,07	14,14	3,34	3,08	1,09	18,98	6,08
2	-	4	9,06	11,92	3,35	2,86	1,17	15,28	5,11	3,36	1,52	20,98	6,62
2	-	5	8,62	11,84	2,82	3,22	0,88	15,88	5,63	4,04	1,39	19,68	4,91

REP=repetição; PC=peso corporal, CR=consumo de ração; GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar

APÊNDICE 1 – CONTINUAÇÃO. Observações experimentais: desempenho zootécnico semanal

Tratamento			GP	CA	PC	CR	GP	CA	PC	CR	GP	CA
CLA (%)	LPS	REP	14a21	14a21	28	21a28	21a28	21a28	35	28a35	28a35	28a35
0	+	1	2,46	1,59	13,58	1,04	-0,52	-2,00	18,42	5,17	4,84	1,07
0	+	2	3,42	1,25	21,36	5,22	3,80	1,37	26,82	7,47	5,46	1,37
0	+	3	4,34	1,23	21,30	4,54	2,90	1,57	27,84	9,02	6,54	1,38
0	+	4	3,62	1,19	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	5,90	1,04	25,80	6,84	4,16	1,64	32,42	9,90	6,62	1,50
0	+	6	4,84	1,21	18,50	2,45	0,18	13,64	23,80	5,54	5,30	1,04
0	-	1	4,56	1,26	22,68	8,06	5,80	1,39	28,18	9,30	5,50	1,69
0	-	2	5,28	1,61	27,90	8,83	6,00	1,47	34,30	12,59	6,40	1,97
0	-	3	4,98	1,10	23,78	5,94	4,46	1,33	29,64	8,82	5,86	1,51
0	-	4	4,88	1,04	26,44	8,61	5,40	1,60	31,44	9,00	5,00	1,80
0	-	5	4,78	1,13	19,80	4,16	3,04	1,37	28,88	7,85	9,08	0,86
0	-	6	5,96	1,41	24,80	7,42	5,24	1,42	29,12	6,74	4,32	1,56
1	+	1	4,54	1,12	21,06	4,42	2,88	1,54	27,22	9,19	6,16	1,49
1	+	2	6,16	1,31	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
1	+	3	3,64	1,24	19,26	4,74	3,30	1,44	25,38	8,86	6,12	1,45
1	+	4	4,00	1,25	21,88	7,30	4,80	1,52	29,14	11,41	7,26	1,57
1	+	5	3,88	1,39	23,10	5,75	4,60	1,25	29,18	9,76	6,08	1,61
1	-	1	5,72	1,17	28,42	8,82	6,54	1,35	35,00	10,41	6,58	1,58
1	-	2	2,96	1,38	20,22	7,10	5,46	1,30	26,12	6,64	5,90	1,13
1	-	3	5,20	1,25	24,40	7,77	4,98	1,56	30,92	8,47	6,52	1,30
1	-	4	0,36	9,34	14,24	0,61	-0,18	-3,39	20,08	6,70	5,84	1,15
1	-	5	5,00	1,14	26,26	8,78	5,64	1,56	31,90	8,44	5,64	1,50
2	+	1	3,86	1,43	20,52	2,82	0,94	3,00	27,54	9,62	7,02	1,37
2	+	2	6,50	1,33	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
2	+	3	6,38	1,07	22,16	3,65	1,00	3,65	27,98	7,18	5,82	1,23
2	+	4	4,92	1,28	18,30	1,93	-1,00	-1,93	24,06	6,52	5,76	1,13
2	+	5	4,96	1,36	18,54	3,37	0,18	18,74	17,86	1,23	-0,68	-1,81
2	-	1	5,62	1,17	27,08	8,53	6,02	1,42	33,76	11,02	6,68	1,65
2	-	2	5,36	1,38	27,44	6,79	3,72	1,83	34,12	9,04	6,68	1,35
2	-	3	4,84	1,26	25,42	8,88	6,44	1,38	31,34	10,82	5,92	1,83
2	-	4	5,70	1,16	26,12	7,95	5,14	1,55	32,74	9,69	6,62	1,46
2	-	5	3,80	1,29	24,78	8,90	5,10	1,74	30,52	10,56	5,74	1,84

REP=repetição; PC=peso corporal; CR=consumo de ração; GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar; s/obs=sem observação

APÊNDICE 2. Análise estatística: desempenho zootécnico semanal
 PESO=peso corporal; CR=consumo de ração; GP=ganho de peso;
 CA=conversão alimentar.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	2 3 4 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27
 The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.81500296	0.36300059	0.54	0.7428
Error	21	14.07862667	0.67041079		
Corrected Total	26	15.89362963			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PESOD1 Mean
0.114197	9.154889	0.818786	8.943704

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.16339074	0.58169537	0.87	0.4344
ESTIMULO	1	0.06746939	0.06746939	0.10	0.7542
CLA*ESTIMULO	2	0.58414283	0.29207142	0.44	0.6526

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.32599765	0.66299882	0.99	0.3886
ESTIMULO	1	0.09008403	0.09008403	0.13	0.7176
CLA*ESTIMULO	2	0.58414283	0.29207142	0.44	0.6526

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	PESOD1 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	8.86500000	0.28948463	<.0001	1
1	8.66866667	0.29897844	<.0001	2
2	9.21000000	0.25892292	<.0001	3

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

Dependent Variable: PESOD1

i/j	1	2	3
1		0.6420	0.3844
2	0.6420		0.1856
3	0.3844	0.1856	

ESTIMULO	PESOD1 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	8.97444444	0.20545328	<.0001	0.7176
PBS	8.85466667	0.25408281	<.0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD1 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
-----	----------	---------------	----------------	---------	---------------

0	LPS	8.76333333	0.33426805	<.0001	1
0	PBS	8.96666667	0.47272642	<.0001	2
1	LPS	8.94400000	0.36617231	<.0001	3
1	PBS	8.39333333	0.47272642	<.0001	4
2	LPS	9.21600000	0.36617231	<.0001	5
2	PBS	9.20400000	0.36617231	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD1

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.7289	0.7192	0.5297	0.3716	0.3842
2	0.7289		0.9701	0.4008	0.6809	0.6954
3	0.7192	0.9701		0.3676	0.6049	0.6208
4	0.5297	0.4008	0.3676		0.1834	0.1896
5	0.3716	0.6809	0.6049	0.1834		0.9817
6	0.3842	0.6954	0.6208	0.1896	0.9817	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	2 3 4 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	3.92928000	0.78585600	0.92	0.4879
Error	21	17.95418667	0.85496127		
Corrected Total	26	21.88346667			

R-Square Coeff Var Root MSE PESOD7 Mean
0.179555 7.877481 0.924641 11.73778

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3.37675111	1.68837556	1.97	0.1637
ESTIMULO	1	0.13037429	0.13037429	0.15	0.7001
CLA*ESTIMULO	2	0.42215460	0.21107730	0.25	0.7835

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3.09791059	1.54895529	1.81	0.1880
ESTIMULO	1	0.09863442	0.09863442	0.12	0.7375
CLA*ESTIMULO	2	0.42215460	0.21107730	0.25	0.7835

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	PESOD7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	11.4200000	0.3269100	<.0001	1
1	11.5466667	0.3376312	<.0001	2
2	12.1880000	0.2923972	<.0001	3

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

Dependent Variable: PESOD7

i/j	1	2	3
1		0.7902	0.0945
2	0.7902		0.1658
3	0.0945	0.1658	

ESTIMULO	PESOD7 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	11.7808889	0.2320149	<.0001	0.7375
PBS	11.6555556	0.2869314	<.0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	11.3066667	0.3774832	<.0001	1
0	PBS	11.5333333	0.5338418	<.0001	2
1	LPS	11.6600000	0.4135121	<.0001	3
1	PBS	11.4333333	0.5338418	<.0001	4
2	LPS	12.3760000	0.4135121	<.0001	5
2	PBS	12.0000000	0.4135121	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD7

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.7323	0.5348	0.8482	0.0699	0.2293
2	0.7323		0.8530	0.8959	0.2258	0.4971
3	0.5348	0.8530		0.7404	0.2344	0.5672
4	0.8482	0.8959	0.7404		0.1773	0.4108
5	0.0699	0.2258	0.2344	0.1773		0.5272
6	0.2293	0.4971	0.5672	0.4108	0.5272	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	2 3 4 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27
The GLM Procedure

Dependent Variable: CR1A7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.53465333	0.30693067	0.88	0.5133
Error	21	7.34861333	0.34993397		
Corrected Total	26	8.88326667			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR1A7 Mean
0.172758	20.11322	0.591552	2.941111

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.00533028	0.50266514	1.44	0.2602

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESTIMULO	1	0.04970591	0.04970591	0.14	0.7100
CLA*ESTIMULO	2	0.47961715	0.23980857	0.69	0.5149
CLA	2	0.78178656	0.39089328	1.12	0.3459
ESTIMULO	1	0.02112279	0.02112279	0.06	0.8083
CLA*ESTIMULO	2	0.47961715	0.23980857	0.69	0.5149

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2.70333333	0.20914527	<.0001	1
1	3.06366667	0.21600431	<.0001	2
2	3.09200000	0.18706522	<.0001	3

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

Dependent Variable: CR1A7

i/j	1	2	3
1		0.2441	0.1805
2	0.2441		0.9220
3	0.1805	0.9220	

ESTIMULO	CR1A7 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	2.98200000	0.14843477	<.0001	0.8083
PBS	2.92400000	0.18356837	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CR1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2.60000000	0.24150016	<.0001	1
0	PBS	2.80666667	0.34153280	<.0001	2
1	LPS	3.04400000	0.26455017	<.0001	3
1	PBS	3.08333333	0.34153280	<.0001	4
2	LPS	3.30200000	0.26455017	<.0001	5
2	PBS	2.88200000	0.26455017	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR1A7

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.6264	0.2288	0.2609	0.0634	0.4399
2	0.6264		0.5885	0.5729	0.2645	0.8632
3	0.2288	0.5885		0.9283	0.4980	0.6694
4	0.2609	0.5729	0.9283		0.6180	0.6460
5	0.0634	0.2645	0.4980	0.6180		0.2743
6	0.4399	0.8632	0.6694	0.6460	0.2743	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	2 3 4 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS
Number of observations		27

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP1A7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.41381185	0.28276237	0.82	0.5502
Error	21	7.25644000	0.34554476		
Corrected Total	26	8.67025185			

R-Square Coeff Var Root MSE GP1A7 Mean
0.163065 21.03847 0.587831 2.794074

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.88465296	0.44232648	1.28	0.2988
ESTIMULO	1	0.01026678	0.01026678	0.03	0.8648
CLA*ESTIMULO	2	0.51889211	0.25944606	0.75	0.4842

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.83623765	0.41811882	1.21	0.3181
ESTIMULO	1	0.00019380	0.00019380	0.00	0.9813
CLA*ESTIMULO	2	0.51889211	0.25944606	0.75	0.4842

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	GP1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2.55500000	0.20782949	<.0001	1
1	2.87800000	0.21464537	<.0001	2
2	2.97800000	0.18588834	<.0001	3

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

Dependent Variable: GP1A7

i/j	1	2	3
1		0.2919	0.1442
2	0.2919		0.7282
3	0.1442	0.7282	

ESTIMULO	GP1A7 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	2.80644444	0.14750092	<.0001	0.9813
PBS	2.80088889	0.18241349	<.0001	

CLA	ESTIMULO	GP1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2.54333333	0.23998082	<.0001	1
0	PBS	2.56666667	0.33938413	<.0001	2
1	LPS	2.71600000	0.26288582	<.0001	3
1	PBS	3.04000000	0.33938413	<.0001	4
2	LPS	3.16000000	0.26288582	<.0001	5
2	PBS	2.79600000	0.26288582	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP1A7

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.9558	0.6326	0.2455	0.0979	0.4856
2	0.9558		0.7314	0.3353	0.1815	0.5988
3	0.6326	0.7314		0.4588	0.2457	0.8317

4	0.2455	0.3353	0.4588		0.7826	0.5758
5	0.0979	0.1815	0.2457	0.7826		0.3387
6	0.4856	0.5988	0.8317	0.5758	0.3387	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	2 3 4 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27
desempenho semanal 17:04 Friday, December 7, 2001 78

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA1A7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.07111519	0.01422304	1.01	0.4389
Error	21	0.29707000	0.01414619		
Corrected Total	26	0.36818519			

R-Square 0.193151
Coeff Var 11.21271
Root MSE 0.118938
CA1A7 Mean 1.060741

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.01753519	0.00876759	0.62	0.5476
ESTIMULO	1	0.00245098	0.00245098	0.17	0.6815
CLA*ESTIMULO	2	0.05112902	0.02556451	1.81	0.1887

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.00592902	0.00296451	0.21	0.8126
ESTIMULO	1	0.00332163	0.00332163	0.23	0.6330
CLA*ESTIMULO	2	0.05112902	0.02556451	1.81	0.1887

The GLM Procedure

Least Squares Means

CLA	CA1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.01750000	0.04205085	<.0001	1
1	1.00900000	0.04342993	<.0001	2
2	1.03500000	0.03761142	<.0001	3

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

Dependent Variable: CA1A7

i/j	1	2	3
1		0.6894	0.8268
2	0.6894		0.5265
3	0.8268	0.5265	

ESTIMULO	CA1A7 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1.07300000	0.02984436	<.0001	0.6330
PBS	1.05000000	0.03690834	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CA1A7 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
-----	----------	--------------	----------------	---------	---------------

0	LPS	1.01500000	0.04855614	<.0001	1
0	PBS	1.10000000	0.06866875	<.0001	2
1	LPS	1.15400000	0.05319058	<.0001	3
1	PBS	1.01000000	0.06866875	<.0001	4
2	LPS	1.05000000	0.05319058	<.0001	5
2	PBS	1.04000000	0.05319058	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA1A7

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.3237	0.0672	0.9532	0.6320	0.7320
2	0.3237		0.5408	0.3646	0.5710	0.4973
3	0.0672	0.5408		0.1122	0.1813	0.1446
4	0.9532	0.3646	0.1122		0.6499	0.7332
5	0.6320	0.5710	0.1813	0.6499		0.8955
6	0.7320	0.4973	0.1446	0.7332	0.8955	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	31	1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 31

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	14,93329419	2,98665884	1,27	0,3092
Error	25	58,95068000	2,35802720		
Corrected Total	30	73,88397419			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PESOD14 Mean
0,202118	10,62334	1,535587	14,45484

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	11,29671965	5,64835982	2,40	0,1117
ESTIMULO	1	3,14766043	3,14766043	1,33	0,2589
CLA*ESTIMULO	2	0,48891412	0,24445706	0,10	0,9019

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	11,45388353	5,72694176	2,43	0,1087
ESTIMULO	1	3,21929486	3,21929486	1,37	0,2537
CLA*ESTIMULO	2	0,48891412	0,24445706	0,10	0,9019

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	PESOD14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	13,9790000	0,4649220	<,0001	1
1	14,0860000	0,4855952	<,0001	2

2 15,3280000 0,4855952 <,0001 3

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

Dependent Variable: PESOD14

i/j	1	2	3
1		0,8748	0,0557
2	0,8748		0,0826
3	0,0557	0,0826	

ESTIMULO	PESOD14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	14,1413333	0,3964868	<,0001	0,2537
PBS	14,7873333	0,3853159	<,0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	13,7880000	0,6867353	<,0001	1
0	PBS	14,1700000	0,6269007	<,0001	2
1	LPS	13,8000000	0,6867353	<,0001	3
1	PBS	14,3720000	0,6867353	<,0001	4
2	LPS	14,8360000	0,6867353	<,0001	5
2	PBS	15,8200000	0,6867353	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,6847	0,9902	0,5530	0,2909	0,0467
2	0,6847		0,6941	0,8298	0,4805	0,0882
3	0,9902	0,6941		0,5612	0,2963	0,0479
4	0,5530	0,8298	0,5612		0,6370	0,1485
5	0,2909	0,4805	0,2963	0,6370		0,3207
6	0,0467	0,0882	0,0479	0,1485	0,3207	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 32

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7A14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	15.39401521	3.07880304	3.06	0.0264
Error	26	26.14225667	1.00547141		
Corrected Total	31	41.53627188			

R-Square Coeff Var Root MSE CR7A14 Mean

0.370616 26.24309 1.002732 3.820938

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2.31140021	1.15570010	1.15	0.3324
ESTIMULO	1	12.96677813	12.96677813	12.90	0.0013
CLA*ESTIMULO	2	0.11583687	0.05791844	0.06	0.9441

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2.31140021	1.15570010	1.15	0.3324
ESTIMULO	1	12.68089500	12.68089500	12.61	0.0015
CLA*ESTIMULO	2	0.11583688	0.05791844	0.06	0.9441

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	3.62416667	0.28946379	<.0001	1
1	3.65900000	0.31709169	<.0001	2
2	4.21900000	0.31709169	<.0001	3

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

Dependent Variable: CR7A14

i/j	1	2	3
1		0.9360	0.1777
2	0.9360		0.2229
3	0.1777	0.2229	

ESTIMULO	CR7A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	3.20222222	0.25160974	<.0001	0.0015
PBS	4.46588889	0.25160974	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CR7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2.91666667	0.40936361	<.0001	1
0	PBS	4.33166667	0.40936361	<.0001	2
1	LPS	3.09600000	0.44843537	<.0001	3
1	PBS	4.22200000	0.44843537	<.0001	4
2	LPS	3.59400000	0.44843537	<.0001	5
2	PBS	4.84400000	0.44843537	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR7A14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0216	0.7701	0.0410	0.2748	0.0038
2	0.0216		0.0522	0.8581	0.2353	0.4065
3	0.7701	0.0522		0.0875	0.4394	0.0105
4	0.0410	0.8581	0.0875		0.3312	0.3357
5	0.2748	0.2353	0.4394	0.3312		0.0595
6	0.0038	0.4065	0.0105	0.3357	0.0595	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32

CLA 3 0 1 2
 ESTIMULO 2 LPS PBS

Number of observations 32
 The GLM Procedure

Dependent Variable: GP7A14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	15.77538667	3.15507733	4.99	0.0025
Error	26	16.43661333	0.63217744		
Corrected Total	31	32.21200000			

R-Square 0.489736
 Coeff Var 27.22931
 Root MSE 0.795096
 GP7A14 Mean 2.920000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.70429333	0.35214667	0.56	0.5796
ESTIMULO	1	15.07005000	15.07005000	23.84	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.00104333	0.00052167	0.00	0.9992

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.70429333	0.35214667	0.56	0.5796
ESTIMULO	1	14.93866039	14.93866039	23.63	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.00104333	0.00052167	0.00	0.9992

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	GP7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2.81666667	0.22952441	<.0001	1
1	2.82400000	0.25143139	<.0001	2
2	3.14000000	0.25143139	<.0001	3

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

Dependent Variable: GP7A14

i/j	1	2	3
1		0.9830	0.3510
2	0.9830		0.3823
3	0.3510	0.3823	

ESTIMULO	GP7A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	2.24111111	0.19950881	<.0001	<.0001
PBS	3.61266667	0.19950881	<.0001	

CLA	ESTIMULO	GP7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2.12333333	0.32459653	<.0001	1
0	PBS	3.51000000	0.32459653	<.0001	2
1	LPS	2.14000000	0.35557768	<.0001	3
1	PBS	3.50800000	0.35557768	<.0001	4
2	LPS	2.46000000	0.35557768	<.0001	5
2	PBS	3.82000000	0.35557768	<.0001	6

The GLM Procedure
 Least Squares Means
 Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: GP7A14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0056	0.9726	0.0079	0.4906	0.0016
2	0.0056		0.0085	0.9967	0.0384	0.5253
3	0.9726	0.0085		0.0115	0.5301	0.0025
4	0.0079	0.9967	0.0115		0.0471	0.5400
5	0.4906	0.0384	0.5301	0.0471		0.0119
6	0.0016	0.5253	0.0025	0.5404	0.0119	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 32

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA7A14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.07180083	0.21436017	1.61	0.1924
Error	26	3.46048667	0.13309564		
Corrected Total	31	4.53228750			

R-Square Coeff Var Root MSE CA7A14 Mean
 0.236481 26.37670 0.364823 1.383125

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.09686750	0.04843375	0.36	0.6984
ESTIMULO	1	0.76880000	0.76880000	5.78	0.0237
CLA*ESTIMULO	2	0.20613333	0.10306667	0.77	0.4713

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.09686750	0.04843375	0.36	0.6984
ESTIMULO	1	0.79744157	0.79744157	5.99	0.0214
CLA*ESTIMULO	2	0.20613333	0.10306667	0.77	0.4713

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.28500000	0.10531526	<.0001	1
1	1.24800000	0.11536708	<.0001	2
2	1.49800000	0.11536708	<.0001	3

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

Dependent Variable: CA7A14

i/j	1	2	3
1		0.4023	0.7371
2	0.4023		0.6280
3	0.7371	0.6280	

H0:LSMean1=

ESTIMULO		CA7A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	LSMean2 Pr > t
LPS		1.66544444	0.09154286	<.0001	0.0214
PBS		1.22855556	0.09154286	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CA7A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1.42833333	0.14893827	<.0001	1
0	PBS	1.22166667	0.14893827	<.0001	2
1	LPS	1.73200000	0.16315370	<.0001	3
1	PBS	1.18400000	0.16315370	<.0001	4
2	LPS	1.47600000	0.16315370	<.0001	5
2	PBS	1.28000000	0.16315370	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA7A14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.3355	0.1810	0.2788	0.8308	0.5078
2	0.3355		0.0291	0.8659	0.2601	0.7938
3	0.1810	0.0291		0.0252	0.2774	0.0609
4	0.2788	0.8659	0.0252		0.2169	0.6808
5	0.8308	0.2601	0.2774	0.2169		0.4034
6	0.5078	0.7938	0.0609	0.6808	0.4034	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	31	1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	33,0090241	6,6018048	1,25	0,3141
Error	25	131,5462533	5,2618501		
Corrected Total	30	164,5552774			

R-Square Coeff Var Root MSE PESOD21 Mean
0,200595 11,97018 2,293872 19,16323

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	28,79628469	14,39814235	2,74	0,0842
ESTIMULO	1	2,69415626	2,69415626	0,51	0,4809
CLA*ESTIMULO	2	1,51858314	0,75929157	0,14	0,8663

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	29,19673843	14,59836922	2,77	0,0816
ESTIMULO	1	2,56929867	2,56929867	0,49	0,4911
CLA*ESTIMULO	2	1,51858314	0,75929157	0,14	0,8663

The GLM Procedure
Least Squares Means

PESOD21 Standard LSMEAN

CLA	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
0	18,7276667	0,6945043	<,0001	1
1	18,2320000	0,7253861	<,0001	2
2	20,5220000	0,7253861	<,0001	3

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

Dependent Variable: PESOD21

i/j	1	2	3
1		0,6259	0,0861
2	0,6259		0,0348
3	0,0861	0,0348	

ESTIMULO	PESOD21 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0	H0:LSMean1= LSMean2
			Pr > t	Pr > t
LPS	18,8720000	0,5922753	<,0001	0,4911
PBS	19,4491111	0,5755881	<,0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	18,2120000	1,0258509	<,0001	1
0	PBS	19,2433333	0,9364694	<,0001	2
1	LPS	18,2440000	1,0258509	<,0001	3
1	PBS	18,2200000	1,0258509	<,0001	4
2	LPS	20,1600000	1,0258509	<,0001	5
2	PBS	20,8840000	1,0258509	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD21

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,4647	0,9826	0,9956	0,1914	0,0774
2	0,4647		0,4785	0,4681	0,5153	0,2486
3	0,9826	0,4785		0,9869	0,1986	0,0808
4	0,9956	0,4681	0,9869		0,1932	0,0782
5	0,1914	0,5153	0,1986	0,1932		0,6221
6	0,0774	0,2486	0,0808	0,0782	0,6221	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	30	1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 30

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR14A21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	13,16421307	2,63284261	1,64	0,1869
Error	24	38,45207040	1,60216960		
Corrected Total	29	51,61628347			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR14A21 Mean	
	0,255040	21,14360	1,265768	5,986533	

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,43752527	3,21876263	2,01	0,1561
ESTIMULO	1	0,36080333	0,36080333	0,23	0,6394
CLA*ESTIMULO	2	6,36588447	3,18294223	1,99	0,1591

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,43752527	3,21876263	2,01	0,1561
ESTIMULO	1	0,36080333	0,36080333	0,23	0,6394
CLA*ESTIMULO	2	6,36588447	3,18294223	1,99	0,1591

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	5,94410000	0,40027111	<,0001	1
1	5,44160000	0,40027111	<,0001	2
2	6,57390000	0,40027111	<,0001	3

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

Dependent Variable: CR14A21

i/j	1	2	3
1		0,3835	0,2769
2	0,3835		0,0569
3	0,2769	0,0569	

ESTIMULO	CR14A21 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	5,87686667	0,32681999	<,0001	0,6394
PBS	6,09620000	0,32681999	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CR14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	5,18480000	0,56606883	<,0001	1
0	PBS	6,70340000	0,56606883	<,0001	2
1	LPS	5,61460000	0,56606883	<,0001	3
1	PBS	5,26860000	0,56606883	<,0001	4
2	LPS	6,83120000	0,56606883	<,0001	5
2	PBS	6,31660000	0,56606883	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR14A21

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0699	0,5963	0,9175	0,0508	0,1703
2	0,0699		0,1864	0,0857	0,8745	0,6334
3	0,5963	0,1864		0,6694	0,1416	0,3892
4	0,9175	0,0857	0,6694		0,0627	0,2029
5	0,0508	0,8745	0,1416	0,0627		0,5264
6	0,1703	0,6334	0,3892	0,2029	0,5264	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

LEITAO 30 1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
 CLA 3 0 1 2
 ESTIMULO 2 LPS PBS

Number of observations 30
 The GLM Procedure

Dependent Variable: GP14A21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	7,79594667	1,55918933	1,03	0,4222
Error	24	36,30864000	1,51286000		
Corrected Total	29	44,10458667			

R-Square 0,176760
 Coeff Var 26,15503
 Root MSE 1,229984
 GP14A21 Mean 4,702667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	5,55554667	2,77777333	1,84	0,1811
ESTIMULO	1	0,02352000	0,02352000	0,02	0,9018
CLA*ESTIMULO	2	2,21688000	1,10844000	0,73	0,4911

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	5,55554667	2,77777333	1,84	0,1811
ESTIMULO	1	0,02352000	0,02352000	0,02	0,9018
CLA*ESTIMULO	2	2,21688000	1,10844000	0,73	0,4911

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	GP14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	4,76800000	0,38895501	<,0001	1
1	4,14600000	0,38895501	<,0001	2
2	5,19400000	0,38895501	<,0001	3

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

Dependent Variable: GP14A21

i/j	1	2	3
1		0,2693	0,4462
2	0,2693		0,0688
3	0,4462	0,0688	

ESTIMULO	GP14A21 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	4,73066667	0,31758044	<,0001	0,9018
PBS	4,67466667	0,31758044	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	4,42400000	0,55006545	<,0001	1
0	PBS	5,11200000	0,55006545	<,0001	2
1	LPS	4,44400000	0,55006545	<,0001	3
1	PBS	3,84800000	0,55006545	<,0001	4
2	LPS	5,32400000	0,55006545	<,0001	5
2	PBS	5,06400000	0,55006545	<,0001	6

The GLM Procedure

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

Dependent Variable: GP14A21

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,3852	0,9797	0,4662	0,2587	0,4188
2	0,3852		0,3990	0,1173	0,7875	0,9513
3	0,9797	0,3990		0,4511	0,2691	0,4333
4	0,4662	0,1173	0,4511		0,0699	0,1311
5	0,2587	0,7875	0,2691	0,0699		0,7411
6	0,4188	0,9513	0,4333	0,1311	0,7411	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	30	1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 30

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA14A21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	10,66864257	2,13372851	0,97	0,4572
Error	24	52,92784240	2,20532677		
Corrected Total	29	63,59648497			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CA14A21 Mean
0,167755	97,31761	1,485034	1,525967

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	4,27662007	2,13831003	0,97	0,3936
ESTIMULO	1	2,30907763	2,30907763	1,05	0,3164
CLA*ESTIMULO	2	4,08294487	2,04147243	0,93	0,4099

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	4,27662007	2,13831003	0,97	0,3936
ESTIMULO	1	2,30907763	2,30907763	1,05	0,3164
CLA*ESTIMULO	2	4,08294487	2,04147243	0,93	0,4099

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1,14310000	0,46960907	0,0141	1
1	1,30960000	0,46960907	0,0002	2
2	1,27520000	0,46960907	0,0121	3

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

Dependent Variable: CA14A21

i/j	1	2	3
1		0,2308	0,9618
2	0,2308		0,2491
3	0,9618	0,2491	

ESTIMULO	CA14A21 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1,14853333	0,38343420	0,0034	0,3164
PBS	1,31340000	0,38343420	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CA14A21 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1,18440000	0,66412751	0,0872	1
0	PBS	1,30180000	0,66412751	0,0617	2
1	LPS	1,26260000	0,66412751	0,0694	3
1	PBS	2,85660000	0,66412751	0,0002	4
2	LPS	1,29860000	0,66412751	0,0623	5
2	PBS	1,25180000	0,66412751	0,0716	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA14A21

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,9016	0,9343	0,0877	0,9042	0,9434
2	0,9016		0,9671	0,1109	0,9973	0,9580
3	0,9343	0,9671		0,1026	0,9697	0,9909
4	0,0877	0,1109	0,1026		0,1102	0,1004
5	0,9042	0,9973	0,9697	0,1102		0,9607
6	0,9434	0,9580	0,9909	0,1004	0,9607	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	23	1 2 3 5 6 7 8 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 23

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD28

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	50,3401301	10,0680260	0,90	0,5056
Error	17	190,9425133	11,2319125		
Corrected Total	22	241,2826435			

R-Square Coeff Var Root MSE PESOD28 Mean
0,208636 14,32065 3,351405 23,40261

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	31,20180792	15,60090396	1,39	0,2762
ESTIMULO	1	15,60223752	15,60223752	1,39	0,2548
CLA*ESTIMULO	2	3,53608470	1,76804235	0,16	0,8556

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	13,96327526	6,98163763	0,62	0,5489
ESTIMULO	1	19,12387278	19,12387278	1,70	0,2093
CLA*ESTIMULO	2	3,53608470	1,76804235	0,16	0,8556

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	PESOD28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	23,5266667	1,1849004	<,0001	1
1	22,0165000	1,1240953	<,0001	2
2	24,0050000	1,8734921	<,0001	3

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

Dependent Variable: PESOD28

i/j	1	2	3
1		0,3681	0,8317
2	0,3681		0,3755
3	0,8317	0,3755	

ESTIMULO	PESOD28 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	22,1016667	1,4056972	<,0001	0,2093
PBS	24,2637778	0,8772651	<,0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	22,8200000	1,9349343	<,0001	1
0	PBS	24,2333333	1,3682052	<,0001	2
1	LPS	21,3250000	1,6757023	<,0001	3
1	PBS	22,7080000	1,4987937	<,0001	4
2	LPS	22,1600000	3,3514046	<,0001	5
2	PBS	25,8500000	1,6757023	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD28

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,5588	0,5669	0,9640	0,8666	0,2528
2	0,5588		0,1965	0,4626	0,5743	0,4651
3	0,5669	0,1965		0,5466	0,8263	0,0732
4	0,9640	0,4626	0,5466		0,8831	0,1802
5	0,8666	0,5743	0,8263	0,8831		0,3385
6	0,2528	0,4651	0,0732	0,1802	0,3385	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	23	1 2 3 5 6 7 8 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 23

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR21A28

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	33,8339280	6,7667856	1,60	0,2130
Error	17	71,8129770	4,2242928		
Corrected Total	22	105,6469050			

R-Square Coeff Var Root MSE CR21A28 Mean
0,320255 30,93035 2,055308 6,644957

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,64374007	3,32187003	0,79	0,4714
ESTIMULO	1	18,24567210	18,24567210	4,32	0,0531
CLA*ESTIMULO	2	8,94451584	4,47225792	1,06	0,3687

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,33296506	0,16648253	0,04	0,9614
ESTIMULO	1	26,36070710	26,36070710	6,24	0,0230
CLA*ESTIMULO	2	8,94451584	4,47225792	1,06	0,3687

The GLM Procedure

Least Squares Means

CLA	CR21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	6,35316667	0,72666127	<,0001	1
1	6,08467500	0,68937141	<,0001	2
2	6,10725000	1,14895234	<,0001	3

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

Dependent Variable: CR21A28

i/j	1	2	3
1		0,7919	0,8586
2	0,7919		0,9868
3	0,8586	0,9868	

ESTIMULO	CR21A28 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	4,91247222	0,86206880	<,0001	0,0230
PBS	7,45092222	0,53799840	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CR21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	5,53466667	1,18663288	0,0002	1
0	PBS	7,17166667	0,83907615	<,0001	2
1	LPS	5,55175000	1,02765422	<,0001	3
1	PBS	6,61760000	0,91916187	<,0001	4
2	LPS	3,65100000	2,05530843	0,0936	5
2	PBS	8,56350000	1,02765422	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR21A28

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,2757	0,9914	0,4804	0,4383	0,0705
2	0,2757		0,2387	0,6618	0,1312	0,3088
3	0,9914	0,2387		0,4501	0,4196	0,0538
4	0,4804	0,6618	0,4501		0,2051	0,1762
5	0,4383	0,1312	0,4196	0,2051		0,0474

6 0,0705 0,3088 0,0538 0,1762 0,0474

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	23	1 2 3 5 6 7 8 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 23

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP21A28

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	22,95936348	4,59187270	1,98	0,1330
Error	17	39,36888000	2,31581647		
Corrected Total	22	62,32824348			

R-Square 0,368362
 Coeff Var 34,14061
 Root MSE 1,521781
 GP21A28 Mean 4,457391

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,93962126	0,46981063	0,20	0,8183
ESTIMULO	1	12,10725762	12,10725762	5,23	0,0353
CLA*ESTIMULO	2	9,91248460	4,95624230	2,14	0,1483

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2,27111115	1,13555558	0,49	0,6208
ESTIMULO	1	20,02865636	20,02865636	8,65	0,0091
CLA*ESTIMULO	2	9,91248460	4,95624230	2,14	0,1483

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	GP21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	4,30500000	0,53803072	<,0001	1
1	4,19150000	0,51042076	<,0001	2
2	3,33750000	0,85070127	0,0011	3

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

Dependent Variable: GP21A28

i/j	1	2	3
1		0,8802	0,3499
2	0,8802		0,4013
3	0,3499	0,4013	

ESTIMULO	GP21A28 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	2,83833333	0,63828846	0,0004	0,0091
PBS	5,05100000	0,39834196	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
-----	----------	----------------	----------------	---------	---------------

0	LPS	3,62000000	0,87860049	0,0007	1
0	PBS	4,99000000	0,62126437	<,0001	2
1	LPS	3,89500000	0,76089035	<,0001	3
1	PBS	4,48800000	0,68056101	<,0001	4
2	LPS	1,00000000	1,52178069	0,5199	5
2	PBS	5,67500000	0,76089035	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP21A28

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,2201	0,8158	0,4455	0,1543	0,0950
2	0,2201		0,2805	0,5930	0,0266	0,4950
3	0,8158	0,2805		0,5689	0,1071	0,1164
4	0,4455	0,5930	0,5689		0,0517	0,2610
5	0,1543	0,0266	0,1071	0,0517		0,0137
6	0,0950	0,4950	0,1164	0,2610	0,0137	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	23	1 2 3 5 6 7 8 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 23

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA21A28

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	9,40728013	1,88145603	1,68	0,1922
Error	17	18,98643778	1,11684928		
Corrected Total	22	28,39371791			

R-Square 0,331316
Coeff Var 78,38579
Root MSE 1,056811
CA21A28 Mean 1,348217

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3,70829960	1,85414980	1,66	0,2195
ESTIMULO	1	3,24422971	3,24422971	2,90	0,1065
CLA*ESTIMULO	2	2,45475082	1,22737541	1,10	0,3558

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,30313262	3,15156631	2,82	0,0875
ESTIMULO	1	4,62313197	4,62313197	4,14	0,0478
CLA*ESTIMULO	2	2,45475082	1,22737541	1,10	0,3558

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1,47858333	0,37363908	0,0010	1
1	1,50482500	0,35446515	0,0154	2
2	1,80625000	0,59077525	0,0004	3

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

Dependent Variable: CA21A28

i/j	1	2	3
1		0,3234	0,1315
2	0,3234		0,0300
3	0,1315	0,0300	

ESTIMULO	CA21A28 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1,76168889	0,44326374	0,0001	0,0478
PBS	1,57475000	0,27663127	0,0007	

CLA	ESTIMULO	CA21A28 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1,52800000	0,61015006	0,0227	1
0	PBS	1,42916667	0,43144124	0,0041	2
1	LPS	1,43525000	0,52840545	0,0147	3
1	PBS	0,47440000	0,47262020	0,3296	4
2	LPS	3,65100000	1,05681090	0,0030	5
2	PBS	1,52150000	0,52840545	0,0104	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA21A28

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,8963	0,9099	0,1900	0,1000	0,9937
2	0,8963		0,9930	0,1540	0,0683	0,8939
3	0,9099	0,9930		0,1930	0,0780	0,9095
4	0,1900	0,1540	0,1930		0,0138	0,1580
5	0,1000	0,0683	0,0780	0,0138		0,0893
6	0,9937	0,8939	0,9095	0,1580	0,0893	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESOD35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	100,6490341	20,1298068	1,85	0,1462
Error	21	228,3069067	10,8717575		
Corrected Total	26	328,9559407			

R-Square Coeff Var Root MSE PESOD35 Mean
0,305965 11,27702 3,297235 29,23852

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

CLA	2	15,79015074	7,89507537	0,73	0,4955
ESTIMULO	1	59,58118256	59,58118256	5,48	0,0292
CLA*ESTIMULO	2	25,27770077	12,63885039	1,16	0,3320

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,44118876	3,22059438	0,30	0,7467
ESTIMULO	1	65,60019841	65,60019841	6,03	0,0228
CLA*ESTIMULO	2	25,27770077	12,63885039	1,16	0,3320

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	PESOD35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	28,9900000	1,0641780	<,0001	1
1	28,2670000	1,1059262	<,0001	2
2	29,5113333	1,2039799	<,0001	3

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

Dependent Variable: PESOD35

i/j	1	2	3
1		0,6424	0,7488
2	0,6424		0,4550
3	0,7488	0,4550	

ESTIMULO	PESOD35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	27,3255556	1,0033166	<,0001	0,0228
PBS	30,5200000	0,8273561	<,0001	

CLA	ESTIMULO	PESOD35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	27,7200000	1,6486174	<,0001	1
0	PBS	30,2600000	1,3460905	<,0001	2
1	LPS	27,7300000	1,6486174	<,0001	3
1	PBS	28,8040000	1,4745682	<,0001	4
2	LPS	26,5266667	1,9036594	<,0001	5
2	PBS	32,4960000	1,4745682	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PESOD35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,2460	0,9966	0,6292	0,6405	0,0425
2	0,2460		0,2478	0,4739	0,1243	0,2754
3	0,9966	0,2478		0,6323	0,6377	0,0429
4	0,6292	0,4739	0,6323		0,3550	0,0912
5	0,6405	0,1243	0,6377	0,3550		0,0217
6	0,0425	0,2754	0,0429	0,0912	0,0217	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27
The GLM Procedure

Dependent Variable: CR28A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	19,42274489	3,88454898	1,58	0,2104
Error	21	51,79257852	2,46631326		
Corrected Total	26	71,21532341			

R-Square 0,272733
Coeff Var 17,71347
Root MSE 1,570450
CR28A35 Mean 8,865852

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,26614041	0,63307021	0,26	0,7760
ESTIMULO	1	1,38054519	1,38054519	0,56	0,4627
CLA*ESTIMULO	2	16,77605929	8,38802965	3,40	0,0525

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,05400255	0,52700127	0,21	0,8093
ESTIMULO	1	1,84824310	1,84824310	0,75	0,3965
CLA*ESTIMULO	2	16,77605929	8,38802965	3,40	0,0525

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	8,51725000	0,50686056	<,0001	1
1	8,96852500	0,52674495	<,0001	2
2	8,88043333	0,57344727	<,0001	3

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

Dependent Variable: CR28A35

i/j	1	2	3
1		0,5437	0,6400
2	0,5437		0,9110
3	0,6400	0,9110	

ESTIMULO	CR28A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	8,52063889	0,47787272	<,0001	0,3965
PBS	9,05683333	0,39406394	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CR28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	7,98400000	0,78522501	<,0001	1
0	PBS	9,05050000	0,64113354	<,0001	2
1	LPS	9,80525000	0,78522501	<,0001	3
1	PBS	8,13180000	0,70232660	<,0001	4
2	LPS	7,77266667	0,90669974	<,0001	5
2	PBS	9,98820000	0,70232660	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR28A35

i/j	1	2	3	4	5	6
-----	---	---	---	---	---	---

1		0,3047	0,1159	0,8898	0,8618	0,0709
2	0,3047		0,4648	0,3450	0,2628	0,3353
3	0,1159	0,4648		0,1271	0,1049	0,8638
4	0,8898	0,3450	0,1271		0,7573	0,0756
5	0,8618	0,2628	0,1049	0,7573		0,0670
6	0,0709	0,3353	0,8638	0,0756	0,0670	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP28A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0,64239630	0,12847926	0,14	0,9797
Error	21	18,74963333	0,89283968		
Corrected Total	26	19,39202963			

R-Square 0,033127 Coeff Var 15,33010 Root MSE 0,944902 GP28A35 Mean 6,163704

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,39426963	0,19713481	0,22	0,8037
ESTIMULO	1	0,01723841	0,01723841	0,02	0,8908
CLA*ESTIMULO	2	0,23088826	0,11544413	0,13	0,8794

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,38929989	0,19464994	0,22	0,8059
ESTIMULO	1	0,01288960	0,01288960	0,01	0,9055
CLA*ESTIMULO	2	0,23088826	0,11544413	0,13	0,8794

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	GP28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	6,00333333	0,30496579	<,0001	1
1	6,25050000	0,31692975	<,0001	2
2	6,26400000	0,34502941	<,0001	3

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

Dependent Variable: GP28A35

i/j	1	2	3
1		0,5801	0,5773
2	0,5801		0,9773
3	0,5773	0,9773	

ESTIMULO	GP28A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t

LPS	6,19500000	0,28752451	<,0001	0,9055
PBS	6,15022222	0,23709878	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	5,98000000	0,47245097	<,0001	1
0	PBS	6,02666667	0,38575460	<,0001	2
1	LPS	6,40500000	0,47245097	<,0001	3
1	PBS	6,09600000	0,42257300	<,0001	4
2	LPS	6,20000000	0,54553939	<,0001	5
2	PBS	6,32800000	0,42257300	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP28A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,9397	0,5316	0,8565	0,7635	0,5888
2	0,9397		0,5417	0,9047	0,7978	0,6040
3	0,5316	0,5417		0,6310	0,7791	0,9045
4	0,8565	0,9047	0,6310		0,8816	0,7018
5	0,7635	0,7978	0,7791	0,8816		0,8546
6	0,5888	0,6040	0,9045	0,7018	0,8546	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	27	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 27

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA28A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0,46043633	0,09208727	1,62	0,1972
Error	21	1,19052633	0,05669173		
Corrected Total	26	1,65096267			

R-Square 0,278890 Coeff Var 16,43708 Root MSE 0,238100 CA28A35 Mean 1,448556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,01271507	0,00635753	0,11	0,8944
ESTIMULO	1	0,09340806	0,09340806	1,65	0,2133
CLA*ESTIMULO	2	0,35431320	0,17715660	3,12	0,0649

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,00327350	0,00163675	0,03	0,9716
ESTIMULO	1	0,10563680	0,10563680	1,86	0,1867
CLA*ESTIMULO	2	0,35431320	0,17715660	3,12	0,0649

The GLM Procedure

Least Squares Means

CLA	CA28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1,33358333	0,07684653	<,0001	1
1	1,42940000	0,07986125	<,0001	2
2	1,41580000	0,08694192	<,0001	3

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

Dependent Variable: CA28A35

i/j	1	2	3
1		0,8994	0,8131
2	0,8994		0,9094
3	0,8131	0,9094	

ESTIMULO	CA28A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1,37368889	0,07245160	<,0001	0,1867
PBS	1,46550000	0,05974512	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CA28A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1,32250000	0,11905013	<,0001	1
0	PBS	1,56466667	0,09720402	<,0001	2
1	LPS	1,52900000	0,11905013	<,0001	3
1	PBS	1,32980000	0,10648167	<,0001	4
2	LPS	1,24500000	0,13746724	<,0001	5
2	PBS	1,58660000	0,10648167	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA28A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,1301	0,2336	0,9640	0,6743	0,1131
2	0,1301		0,8187	0,1182	0,0714	0,8805
3	0,2336	0,8187		0,2261	0,1333	0,7220
4	0,9640	0,1182	0,2261		0,6308	0,1029
5	0,6743	0,0714	0,1333	0,6308		0,0628
6	0,1131	0,8805	0,7220	0,1029	0,0628	

APÊNDICE 3. Observações experimentais: desempenho zootécnico do período pré inicial (1 a 14 dias pós-desmame), inicial (15 a 35 dias pós-desmame) e total.

Tratamento			GP	CR	CA	GP	CR	CA	GP	CR	CA
CLA (%)	LPS	REP	1a14	1a14	1a14	14a35	14a35	14a35	1a35	1a35	1a35
0	+	1	3,56	4,09	1,15	6,78	10,11	1,49	10,34	14,20	1,37
0	+	2	4,94	5,88	1,19	12,68	16,98	1,34	17,62	22,85	1,30
0	+	3	5,96	7,44	1,25	13,78	18,92	1,37	19,74	26,36	1,34
0	+	4	3,90	4,14	1,06	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	5,06	5,60	1,11	16,68	22,87	1,37	21,74	28,47	1,31
0	+	6	4,58	5,95	1,30	10,32	13,86	1,34	14,90	19,81	1,33
0	-	1	4,56	4,74	1,04	15,86	23,10	1,46	20,42	27,84	1,36
0	-	2	8,36	10,37	1,24	17,68	29,90	1,69	26,04	40,27	1,55
0	-	3	5,52	5,35	0,97	15,30	20,24	1,32	20,82	25,59	1,23
0	-	4	6,12	7,50	1,23	15,28	22,68	1,48	21,40	30,18	1,41
0	-	5	4,28	4,29	1,00	16,90	17,44	1,03	21,18	21,73	1,03
0	-	6	5,00	5,80	1,16	15,52	22,55	1,45	20,52	28,35	1,38
1	+	1	5,04	6,30	1,25	13,58	18,70	1,38	18,62	25,00	1,34
1	+	2	6,06	7,51	1,24	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
1	+	3	3,00	4,33	1,44	13,06	18,10	1,39	16,06	22,43	1,40
1	+	4	4,36	5,68	1,30	16,06	23,70	1,48	20,42	29,38	1,44
1	+	5	5,82	6,88	1,18	14,56	20,92	1,44	20,38	27,80	1,36
1	-	1	6,66	7,60	1,14	18,84	25,91	1,38	25,50	33,51	1,31
1	-	2	2,88	2,79	0,97	14,32	17,84	1,25	17,20	20,63	1,20
1	-	3	5,24	4,92	0,94	16,70	22,73	1,36	21,94	27,65	1,26
1	-	4	6,58	7,68	1,17	6,02	10,68	1,77	12,60	18,36	1,46
1	-	5	7,42	8,81	1,19	16,28	22,93	1,41	23,70	31,73	1,34
2	+	1	5,14	6,45	1,26	11,82	17,97	1,52	16,96	24,43	1,44
2	+	2	6,64	7,63	1,15	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
2	+	3	5,98	7,71	1,29	13,20	17,69	1,34	19,18	25,40	1,32
2	+	4	5,88	7,18	1,22	9,68	14,77	1,53	15,56	21,95	1,41
2	+	5	4,46	5,50	1,23	4,46	11,37	2,55	8,92	16,87	1,89
2	-	1	5,44	6,53	1,20	18,32	26,14	1,43	23,76	32,67	1,38
2	-	2	9,06	9,69	1,07	15,76	23,23	1,47	24,82	32,92	1,33
2	-	3	5,10	5,51	1,08	17,20	25,78	1,50	22,30	31,28	1,40
2	-	4	6,22	8,46	1,36	17,46	24,26	1,39	23,68	32,73	1,38
2	-	5	7,26	8,45	1,16	14,64	24,36	1,66	21,90	32,81	1,50

REP=repetição; PC=peso corporal; CR=consumo de ração; GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar; s/obs=sem observação

APÊNDICE 4. Análise estatística: desempenho zootécnico do período pré inicial (1 a 14 dias pós-desmame), inicial (15 a 35 dias pós-desmame) e total. PESO=peso corporal; CR=consumo de ração; GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	2 3 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR1A14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	19,07691362	3,81538272	2,02	0,1191
Error	20	37,74044827	1,88702241		
Corrected Total	25	56,81736188			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR1A14 Mean
0,335759	19,77856	1,373689	6,945346

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2,46110698	1,23055349	0,65	0,5317
ESTIMULO	1	14,57406976	14,57406976	7,72	0,0116
CLA*ESTIMULO	2	2,04173687	1,02086844	0,54	0,5905

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,93592187	0,46796094	0,25	0,7827
ESTIMULO	1	15,78992189	15,78992189	8,37	0,0090
CLA*ESTIMULO	2	2,04173687	1,02086844	0,54	0,5905

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR1A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	6,84560000	0,50160043	<,0001	1
1	7,08426667	0,50160043	<,0001	2
2	7,31190000	0,43439871	<,0001	3

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

Dependent Variable: CR1A14

i/j	1	2	3
1		0,7400	0,4903
2	0,7400		0,7351
3	0,4903	0,7351	

ESTIMULO	CR1A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	6,27853333	0,35468506	<,0001	0,0090
PBS	7,88264444	0,42627839	<,0001	

CLA	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
0	5,69066667	0,42956764	<,0001	1
1	5,87133333	0,42956764	<,0001	2
2	6,11800000	0,37201649	<,0001	3

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

Dependent Variable: GP1A14

i/j	1	2	3
1		0,7692	0,4608
2	0,7692		0,6689
3	0,4608	0,6689	

ESTIMULO	GP1A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	5,12133333	0,30375019	<,0001	0,0040
PBS	6,66533333	0,36506229	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP1A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	4,88800000	0,52611076	<,0001	1
0	PBS	6,49333333	0,67920607	<,0001	2
1	LPS	4,85600000	0,52611076	<,0001	3
1	PBS	6,88666667	0,67920607	<,0001	4
2	LPS	5,62000000	0,52611076	<,0001	5
2	PBS	6,61600000	0,52611076	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP1A14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0764	0,9661	0,0306	0,3370	0,0309
2	0,0764		0,0712	0,6865	0,3215	0,8879
3	0,9661	0,0712		0,0283	0,3168	0,0282
4	0,0306	0,6865	0,0283		0,1560	0,7560
5	0,3370	0,3215	0,3168	0,1560		0,1957
6	0,0309	0,8879	0,0282	0,7560	0,1957	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	2 3 5 6 8 9 10 11 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA1A14

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0,04494501	0,00898900	1,21	0,3400
Error	20	0,14845253	0,00742263		

Corrected Total 25 0,19339754

R-Square Coeff Var Root MSE CA1A14 Mean
 0,232397 7,118410 0,086155 1,210308

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,01006316	0,00503158	0,68	0,5190
ESTIMULO	1	0,01504302	0,01504302	2,03	0,1700
CLA*ESTIMULO	2	0,01983882	0,00991941	1,34	0,2853

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,00355884	0,00177942	0,24	0,7891
ESTIMULO	1	0,01440121	0,01440121	1,94	0,1789
CLA*ESTIMULO	2	0,01983882	0,00991941	1,34	0,2853

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	CA1A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1,19476667	0,03145924	<,0001	1
1	1,22426667	0,03145924	<,0001	2
2	1,20250000	0,02724450	<,0001	3

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

Dependent Variable: CA1A14

i/j	1	2	3
1		0,5149	0,8545
2	0,5149		0,6067
3	0,8545	0,6067	

ESTIMULO	CA1A14 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	1,00140000	0,02224504	<,0001	0,1789
PBS	1,18295556	0,02673521	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CA1A14 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1,18120000	0,03852954	<,0001	1
0	PBS	1,20833333	0,04974142	<,0001	2
1	LPS	1,28320000	0,03852954	<,0001	3
1	PBS	1,16533333	0,04974142	<,0001	4
2	LPS	1,22980000	0,03852954	<,0001	5
2	PBS	1,17520000	0,03852954	<,0001	6

The GLM Procedure
 Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA1A14

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,6709	0,0759	0,8035	0,3830	0,9134
2	0,6709		0,2480	0,5479	0,7365	0,6043
3	0,0759	0,2480		0,0757	0,3388	0,0614
4	0,8035	0,5479	0,0757		0,3178	0,8770
5	0,3830	0,7365	0,3388	0,3178		0,3283
6	0,9134	0,6043	0,0614	0,8770	0,3283	

The GLM Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR14A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	170,5484519	34,1096904	3,56	0,0184
Error	20	191,8691230	9,5934562		
Corrected Total	25	362,4175750			

R-Square 0,470585 Coeff Var 14,57908 Root MSE 3,097330 CR14A35 Mean 21,24504

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2,7823831	1,3911916	0,15	0,8659
ESTIMULO	1	136,1645197	136,1645197	14,19	0,0012
CLA*ESTIMULO	2	31,6015491	15,8007746	1,65	0,2177

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	4,0979658	2,0489829	0,21	0,8095
ESTIMULO	1	139,0085385	139,0085385	14,49	0,0011
CLA*ESTIMULO	2	31,6015491	15,8007746	1,65	0,2177

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	20,4039583	0,9996591	<,0001	1
1	21,3541250	1,0950717	<,0001	2
2	20,6623000	1,1309852	<,0001	3

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

Dependent Variable: CR14A35

i/j	1	2	3
1		0,5289	0,8658
2	0,5289		0,6650
3	0,8658	0,6650	

ESTIMULO	CR14A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	18,4405833	0,9424877	<,0001	0,0011
PBS	23,1730056	0,8107585	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CR14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	18,1552500	1,5486652	<,0001	1
0	PBS	22,6526667	1,2644799	<,0001	2
1	LPS	20,3555000	1,5486652	<,0001	3
1	PBS	22,3527500	1,5486652	<,0001	4
2	LPS	16,8110000	1,7882446	<,0001	5
2	PBS	24,5136000	1,3851683	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR14A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0359	0,3271	0,0697	0,5762	0,0062
2	0,0359		0,2641	0,8823	0,0148	0,3329
3	0,3271	0,2641		0,3727	0,1497	0,0591
4	0,0697	0,8823	0,3727		0,0296	0,3108
5	0,5762	0,0148	0,1497	0,0296		0,0028
6	0,0062	0,3329	0,0591	0,3108	0,0028	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP14A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	78,4472672	15,6894534	5,59	0,0022
Error	20	56,1444867	2,8072243		
Corrected Total	25	134,5917538			

R-Square 0,582853 Coeff Var 11,12762 Root MSE 1,675477 GP14A35 Mean 15,05692

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,82155385	0,91077692	0,32	0,7267
ESTIMULO	1	67,36471713	67,36471713	24,00	<,0001
CLA*ESTIMULO	2	9,26099620	4,63049810	1,65	0,2172

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,60525995	3,30262997	1,18	0,3288
ESTIMULO	1	69,71697847	69,71697847	24,83	<,0001
CLA*ESTIMULO	2	9,26099620	4,63049810	1,65	0,2172

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	GP14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	14,7275000	0,5407580	<,0001	1
1	15,4250000	0,5923707	<,0001	2
2	14,1213333	0,6117978	<,0001	3

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

Dependent Variable: GP14A35

i/j	1	2	3
1		0,3948	0,4665

ESTIMULO	GP14A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	13,0822222	0,5098315	<,0001	<,0001
PBS	16,4336667	0,4385737	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	13,3650000	0,8377387	<,0001	1
0	PBS	16,0900000	0,6840108	<,0001	2
1	LPS	14,3150000	0,8377387	<,0001	3
1	PBS	16,5350000	0,8377387	<,0001	4
2	LPS	11,5666667	0,9673373	<,0001	5
2	PBS	16,6760000	0,7492962	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP14A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0204	0,4321	0,0145	0,1753	0,0080
2	0,0204		0,1164	0,6851	0,0011	0,5700
3	0,4321	0,1164		0,0756	0,0442	0,0486
4	0,0145	0,6851	0,0756		0,0009	0,9014
5	0,1753	0,0011	0,0442	0,0009		0,0005
6	0,0080	0,5700	0,0486	0,9014	0,0005	

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: CA14A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0,05792108	0,01158422	0,70	0,6299
Error	20	0,33099080	0,01654954		
Corrected Total	25	0,38891188			

R-Square 0,148931 Coeff Var 9,113071 Root MSE 0,128645 CA14A35 Mean 1,411654

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,04126411	0,02063205	1,25	0,3089
ESTIMULO	1	0,00000326	0,00000326	0,00	0,9889
CLA*ESTIMULO	2	0,01665371	0,00832686	0,50	0,6121

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

CLA	2	0,04002407	0,02001204	1,21	0,3193
ESTIMULO	1	0,00003252	0,00003252	0,00	0,9651
CLA*ESTIMULO	2	0,01665371	0,00832686	0,50	0,6121

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1,42858333	0,04152000	<,0001	1
1	1,43325000	0,04548288	<,0001	2
2	1,44956667	0,04697452	<,0001	3

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

Dependent Variable: CA14A35

i/j	1	2	3
1		0,9787	0,1758
2	0,9787		0,2017
3	0,1758	0,2017	

ESTIMULO	CA14A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1,50261111	0,03914543	<,0001	0,9651
PBS	1,41032222	0,03367417	<,0001	

CLA	ESTIMULO	CA14A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1,35650000	0,06432251	<,0001	1
0	PBS	1,40666667	0,05251911	<,0001	2
1	LPS	1,41900000	0,06432251	<,0001	3
1	PBS	1,34750000	0,06432251	<,0001	4
2	LPS	1,46233333	0,07427323	<,0001	5
2	PBS	1,47680000	0,05753180	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA14A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,5526	0,4999	0,9222	0,2942	0,1786
2	0,5526		0,8834	0,4844	0,5475	0,3787
3	0,4999	0,8834		0,4411	0,6639	0,5107
4	0,9222	0,4844	0,4411		0,2563	0,1497
5	0,2942	0,5475	0,6639	0,2563		0,8792
6	0,1786	0,3787	0,5107	0,1497	0,8792	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29
The GLM Procedure

Dependent Variable: CR1A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	364.1574229	72.8314846	2.90	0.0358
Error	23	577.6399633	25.1147810		
Corrected Total	28	941.7973862			

R-Square Coeff Var Root MSE CRI A35 Mean
 0.386662 18.82545 5.011465 26.62069

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	17.4764670	8.7382335	0.35	0.7098
ESTIMULO	1	234.9245264	234.9245264	9.35	0.0056
CLA*ESTIMULO	2	111.7564295	55.8782147	2.22	0.1308

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	11.6156629	5.8078314	0.23	0.7954
ESTIMULO	1	227.0408443	227.0408443	9.04	0.0063
CLA*ESTIMULO	2	111.7564295	55.8782147	2.22	0.1308

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	CRI A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	25.6656667	1.5172964	<.0001	1
1	26.2642500	1.6808964	<.0001	2
2	27.2022500	1.6808964	<.0001	3

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

Dependent Variable: CRI A35

i/j	1	2	3
1		0.7939	0.5042
2	0.7939		0.6968
3	0.5042	0.6968	

ESTIMULO	CRI A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	23.5510000	1.3976308	<.0001	0.0063
PBS	29.2037778	1.2574979	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CRI A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	22.3380000	2.2411953	<.0001	1
0	PBS	28.9933333	2.0459220	<.0001	2
1	LPS	26.1525000	2.5057325	<.0001	3
1	PBS	26.3760000	2.2411953	<.0001	4
2	LPS	22.1625000	2.5057325	<.0001	5
2	PBS	32.2420000	2.2411953	<.0001	6

The GLM Procedure
 Least Squares Means

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

Dependent Variable: CRI A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0387	0.2682	0.2154	0.9588	0.0048
2	0.0387		0.3889	0.3973	0.0458	0.2955
3	0.2682	0.3889		0.9476	0.2718	0.0832
4	0.2154	0.3973	0.9476		0.2227	0.0771
5	0.9588	0.0458	0.2718	0.2227		0.0064

6 0.0048 0.2955 0.0832 0.0771 0.0064

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	26	1 2 3 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP1A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	116,3093379	23,2618676	4,16	0,0094
Error	20	111,8516467	5,5925823		
Corrected Total	25	228,1609846			

R-Square 0,509769
 Coeff Var 11,46366
 Root MSE 2,364864
 GP1A35 Mean 20,62923

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,7714746	0,8857373	0,16	0,8546
ESTIMULO	1	103,9671337	103,9671337	18,59	0,0003
CLA*ESTIMULO	2	10,5707296	5,2853648	0,95	0,4053

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,5749480	0,2874740	0,05	0,9500
ESTIMULO	1	107,8218484	107,8218484	19,28	0,0003
CLA*ESTIMULO	2	10,5707296	5,2853648	0,95	0,4053

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	GP1A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	20,1150000	0,7632566	<,0001	1
1	20,4775000	0,8361057	<,0001	2
2	20,2626667	0,8635263	<,0001	3

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

Dependent Variable: GP1A35

i/j	1	2	3
1		0,7521	0,8993
2	0,7521		0,8599
3	0,8993	0,8599	

ESTIMULO	GP1A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	18,2011111	0,7196052	<,0001	0,0003
PBS	22,3690000	0,6190278	<,0001	

CLA	ESTIMULO	GP1A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	18,5000000	1,1824321	<,0001	1
0	PBS	21,7300000	0,9654517	<,0001	2

1	LPS	18,8700000	1,1824321	<,0001	3
1	PBS	22,0850000	1,1824321	<,0001	4
2	LPS	17,2333333	1,3653549	<,0001	5
2	PBS	23,2920000	1,0575994	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP1A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0471	0,8271	0,0445	0,4912	0,0068
2	0,0471		0,0757	0,8185	0,0141	0,2883
3	0,8271	0,0757		0,0689	0,3756	0,0114
4	0,0445	0,8185	0,0689		0,0142	0,4556
5	0,4912	0,0141	0,3756	0,0142		0,0022
6	0,0068	0,2883	0,0114	0,4556	0,0022	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29
The GLM Procedure

Dependent Variable: CA1A35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.12156322	0.02431264	1.34	0.2835
Error	23	0.41773333	0.01816232		
Corrected Total	28	0.53929655			

R-Square 0.225411
Coeff Var 9.839531
Root MSE 0.134768
CA1A35 Mean 1.369655

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.07448847	0.03724424	2.05	0.1515
ESTIMULO	1	0.02812195	0.02812195	1.55	0.2259
CLA*ESTIMULO	2	0.01895280	0.00947640	0.52	0.6003

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.08144920	0.04072460	2.24	0.1289
ESTIMULO	1	0.03200140	0.03200140	1.76	0.1974
CLA*ESTIMULO	2	0.01895280	0.00947640	0.52	0.6003

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA1A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.16833333	0.04080293	<.0001	1
1	1.32950000	0.04520244	<.0001	2
2	1.34150000	0.04520244	<.0001	3

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

Dependent Variable: CA1A35

i/j	1	2	3
1		0.7313	0.0549
2	0.7313		0.1242
3	0.0549	0.1242	

ESTIMULO	CA1A35 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1.41000000	0.03758490	<.0001	0.1974
PBS	1.34288889	0.03381647	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CA1A35 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1.33000000	0.06026992	<.0001	1
0	PBS	1.32666667	0.05501866	<.0001	2
1	LPS	1.38500000	0.06738382	<.0001	3
1	PBS	1.31400000	0.06026992	<.0001	4
2	LPS	1.51500000	0.06738382	<.0001	5
2	PBS	1.38800000	0.06026992	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA1A35

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.9678	0.5489	0.8527	0.0523	0.5030
2	0.9678		0.5092	0.8780	0.0410	0.4599
3	0.5489	0.5092		0.4403	0.1857	0.9738
4	0.8527	0.8780	0.4403		0.0363	0.3943
5	0.0523	0.0410	0.1857	0.0363		0.1734
6	0.5030	0.4599	0.9738	0.3943	0.1734	

APÊNDICE 5. Observações experimentais: desempenho zootécnico nos 3 dias posteriores ao desafio imunológico com LPS

Tratamento		REP	CR	GP	CA	CR	GP	CA
CLA (%)	LPS		7a10	7a10	7a10	21a24	21a24	21a24
0	+	1	1,01	0,48	2,11	0,14	-0,44	-0,31
0	+	2	0,71	0,46	1,55	1,65	1,00	1,65
0	+	3	0,89	0,48	1,85	1,20	-0,26	-4,61
0	+	4	0,73	0,14	5,20	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	0,75	0,70	1,07	1,75	0,76	2,30
0	+	6	0,51	-0,52	-0,97	1,09	-0,16	-6,84
0	-	1	1,43	1,20	1,19	3,64	3,22	1,13
0	-	2	2,64	2,16	1,22	3,53	2,34	1,51
0	-	3	1,66	1,36	1,22	2,86	1,30	2,20
0	-	4	2,19	2,48	0,88	3,50	2,34	1,49
0	-	5	1,26	1,38	0,91	1,63	0,74	2,20
0	-	6	1,22	1,04	1,17	3,70	2,04	1,81
1	+	1	1,09	0,46	2,37	1,08	-0,32	-3,37
1	+	2	1,28	0,64	2,01	s/obs	s/obs	s/obs
1	+	3	0,57	-0,36	-1,58	1,03	0,46	2,23
1	+	4	1,07	1,06	1,01	2,02	1,24	1,63
1	+	5	0,97	0,70	1,39	1,51	1,46	1,03
1	-	1	1,89	1,74	1,09	3,74	2,38	1,57
1	-	2	0,80	0,82	0,98	2,75	2,74	1,00
1	-	3	1,52	1,18	1,29	3,46	2,22	1,56
1	-	4	1,75	1,10	1,59	0,02	-0,68	-0,02
1	-	5	1,86	1,28	1,45	3,96	2,04	1,94
2	+	1	0,71	-0,14	-5,08	1,32	0,26	5,07
2	+	2	0,87	0,26	3,34	s/obs	s/obs	s/obs
2	+	3	1,00	0,60	1,67	1,02	-0,28	-3,64
2	+	4	1,08	0,28	3,84	0,45	-1,04	-0,43
2	+	5	0,64	-0,10	-6,35	1,24	0,24	5,16
2	-	1	1,57	1,24	1,27	3,47	2,74	1,27
2	-	2	2,61	2,04	1,28	3,42	2,38	1,44
2	-	3	1,36	1,14	1,19	3,60	2,76	1,31
2	-	4	2,09	1,58	1,32	3,29	2,18	1,51
2	-	5	2,21	1,56	1,42	3,73	2,28	1,64

REP=repetição; PC=peso corporal; CR=consumo de ração; GP=ganho de peso; CA=conversão alimentar; s/obs=sem observação

APÊNDICE 6. Análise estatística: desempenho zootécnico nos 3 dias posteriores ao desafio imunológico com LPS
PESO=peso corporal; **CR=**consumo de ração; **GP=**ganho de peso; **CA=**conversão alimentar

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 32
 The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7A10

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	6.83940083	1.36788017	8.88	<.0001
Error	26	4.00458667	0.15402256		
Corrected Total	31	10.84398750			

R-Square 0.630709
 Coeff Var 29.94427
 Root MSE 0.392457
 CR7A10 Mean 1.310625

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.16034750	0.08017375	0.52	0.6003
ESTIMULO	1	6.28351250	6.28351250	40.80	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.39554083	0.19777042	1.28	0.2939

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.16034750	0.08017375	0.52	0.6003
ESTIMULO	1	6.16207686	6.16207686	40.01	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.39554083	0.19777042	1.28	0.2939

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	CR7A10 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.25000000	0.11329260	<.0001	1
1	1.28000000	0.12410583	<.0001	2
2	1.41400000	0.12410583	<.0001	3

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

Dependent Variable: CR7A10

i/j	1	2	3
1		0.8597	0.3381
2	0.8597		0.4520
3	0.3381	0.4520	

ESTIMULO	CR7A10 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	0.87422222	0.09847699	<.0001	<.0001
PBS	1.75511111	0.09847699	<.0001	

CR7A10 Standard LSMEAN

CLA	ESTIMULO	LSMEAN	Error	Pr > t	Number
0	LPS	0.76666667	0.16021993	<.0001	1
0	PBS	1.73333333	0.16021993	<.0001	2
1	LPS	0.99600000	0.17551214	<.0001	3
1	PBS	1.56400000	0.17551214	<.0001	4
2	LPS	0.86000000	0.17551214	<.0001	5
2	PBS	1.96800000	0.17551214	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR7A10

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0002	0.3434	0.0024	0.6977	<.0001
2	0.0002		0.0046	0.4825	0.0011	0.3325
3	0.3434	0.0046		0.0305	0.5884	0.0006
4	0.0024	0.4825	0.0305		0.0087	0.1157
5	0.6977	0.0011	0.5884	0.0087		0.0001
6	<.0001	0.3325	0.0006	0.1157	0.0001	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 32

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP7A10

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	10.98621667	2.19724333	11.31	<.0001
Error	26	5.05133333	0.19428205		
Corrected Total	31	16.03755000			

R-Square 0.685031
Coeff Var 49.59487
Root MSE 0.440774
GP7A10 Mean 0.888750

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.06568333	0.03284167	0.17	0.8454
ESTIMULO	1	10.30580000	10.30580000	53.05	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.61473333	0.30736667	1.58	0.2247

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.06568333	0.03284167	0.17	0.8454
ESTIMULO	1	10.01682980	10.01682980	51.56	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	0.61473333	0.30736667	1.58	0.2247

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	GP7A10 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	0.94666667	0.12724060	<.0001	1
1	0.86200000	0.13938510	<.0001	2
2	0.84600000	0.13938510	<.0001	3

Least Squares Means for effect CLA

Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: GP7A10

i/j	1	2	3
1		0.6574	0.5983
2	0.6574		0.9359
3	0.5983	0.9359	

ESTIMULO	GP7A10 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	0.32333333	0.11060097	0.0071	<.0001
PBS	1.44644444	0.11060097	<.0001	

CLA	ESTIMULO	GP7A10 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	0.29000000	0.17994539	0.1191	1
0	PBS	1.60333333	0.17994539	<.0001	2
1	LPS	0.50000000	0.19712029	0.0175	3
1	PBS	1.22400000	0.19712029	<.0001	4
2	LPS	0.18000000	0.19712029	0.3696	5
2	PBS	1.51200000	0.19712029	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP7A10

i/j	1	2	3	4	5	6
1		<.0001	0.4385	0.0017	0.6836	0.0001
2	<.0001		0.0003	0.1671	<.0001	0.7350
3	0.4385	0.0003		0.0153	0.2615	0.0012
4	0.0017	0.1671	0.0153		0.0009	0.3111
5	0.6836	<.0001	0.2615	0.0009		<.0001
6	0.0001	0.7350	0.0012	0.3111	<.0001	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 32
The GLM Procedure

Dependent Variable: CA7A10

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	16.2180808	3.2436162	0.68	0.6406
Error	26	123.5178067	4.7506849		
Corrected Total	31	139.7358875			

R-Square Coeff Var Root MSE CA7A10 Mean
0.116062 211.9982 2.179607 1.028125

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

CLA	2	6.38168750	3.19084375	0.67	0.5195
ESTIMULO	1	1.14005000	1.14005000	0.24	0.6283
CLA*ESTIMULO	2	8.69634333	4.34817167	0.92	0.4129

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6.38168750	3.19084375	0.67	0.5195
ESTIMULO	1	1.60491333	1.60491333	0.34	0.5661
CLA*ESTIMULO	2	8.69634333	4.34817167	0.92	0.4129

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA7A10 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.45000000	0.62919822	0.0294	1
1	1.16000000	0.68925212	0.1044	2
2	0.39000000	0.68925212	0.5764	3

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

Dependent Variable: CA7A10

i/j	1	2	3
1		0.7585	0.2664
2	0.7585		0.4367
3	0.2664	0.4367	

ESTIMULO	CA7A10 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	0.77522222	0.54691608	0.1682	0.5661
PBS	1.22477778	0.54691608	0.0339	

CLA	ESTIMULO	CA7A10 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1.80166667	0.88982066	0.0533	1
0	PBS	1.09833333	0.88982066	0.2281	2
1	LPS	1.04000000	0.97474970	0.2958	3
1	PBS	1.28000000	0.97474970	0.2006	4
2	LPS	-0.51600000	0.97474970	0.6010	5
2	PBS	1.29600000	0.97474970	0.1952	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA7A10

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.5810	0.5688	0.6959	0.0909	0.7047
2	0.5810		0.9651	0.8916	0.2322	0.8821
3	0.5688	0.9651		0.8631	0.2693	0.8541
4	0.6959	0.8916	0.8631		0.2040	0.9908
5	0.0909	0.2322	0.2693	0.2040		0.2002
6	0.7047	0.8821	0.8541	0.9908	0.2002	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR21A24

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	28.92474063	5.78494813	8.09	0.0002
Error	23	16.44572833	0.71503167		
Corrected Total	28	45.37046897			

R-Square Coeff Var Root MSE CR21A24 Mean
 0.637524 37.26788 0.845595 2.268966

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.22617402	0.11308701	0.16	0.8546
ESTIMULO	1	27.30552642	27.30552642	38.19	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	1.39304020	0.69652010	0.97	0.3926

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.11238843	0.05619421	0.08	0.9247
ESTIMULO	1	26.99775371	26.99775371	37.76	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	1.39304020	0.69652010	0.97	0.3926

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CR21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2.15466667	0.25601674	<.0001	1
1	2.09800000	0.28362134	<.0001	2
2	2.25475000	0.28362134	<.0001	3

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

Dependent Variable: CR21A24

i/j	1	2	3
1		0.8834	0.7957
2	0.8834		0.6995
3	0.7957	0.6995	

ESTIMULO	CR21A24 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	1.19450000	0.23582530	<.0001	<.0001
PBS	3.14377778	0.21218038	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CR21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1.16600000	0.37816178	0.0053	1
0	PBS	3.14333333	0.34521290	<.0001	2
1	LPS	1.41000000	0.42279773	0.0029	3
1	PBS	2.78600000	0.37816178	<.0001	4
2	LPS	1.00750000	0.42279773	0.0258	5
2	PBS	3.50200000	0.37816178	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CR21A24

i/j	1	2	3	4	5	6
-----	---	---	---	---	---	---

1		0.0008	0.6711	0.0060	0.7824	0.0002
2	0.0008		0.0042	0.4923	0.0007	0.4907
3	0.6711	0.0042		0.0235	0.5076	0.0012
4	0.0060	0.4923	0.0235		0.0046	0.1937
5	0.7824	0.0007	0.5076	0.0046		0.0002
6	0.0002	0.4907	0.0012	0.1937	0.0002	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: GP21A24

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	27.31887287	5.46377457	7.64	0.0002
Error	23	16.45671333	0.71550928		
Corrected Total	28	43.77558621			

R-Square 0.624066 Coeff Var 68.25391 Root MSE 0.845878 GP21A24 Mean 1.239310

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.08293974	0.04146987	0.06	0.9438
ESTIMULO	1	24.23449460	24.23449460	33.87	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	3.00143853	1.50071926	2.10	0.1456

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.09351365	0.04675682	0.07	0.9369
ESTIMULO	1	24.05267377	24.05267377	33.62	<.0001
CLA*ESTIMULO	2	3.00143853	1.50071926	2.10	0.1456

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	GP21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1.08833333	0.25610223	0.0003	1
1	1.22500000	0.28371604	0.0003	2
2	1.13150000	0.28371604	0.0006	3

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

Dependent Variable: GP21A24

i/j	1	2	3
1		0.7239	0.9111
2	0.7239		0.8178
3	0.9111	0.8178	

ESTIMULO	GP21A24 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	0.22833333	0.23590405	0.3432	<.0001

CLA	ESTIMULO	GP21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	0.18000000	0.37828806	0.6387	1
0	PBS	1.99666667	0.34532817	<.0001	2
1	LPS	0.71000000	0.42293891	0.1067	3
1	PBS	1.74000000	0.37828806	0.0001	4
2	LPS	-0.20500000	0.42293891	0.6325	5
2	PBS	2.46800000	0.37828806	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: GP21A24

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0017	0.3600	0.0078	0.5042	0.0003
2	0.0017		0.0273	0.6211	0.0005	0.3670
3	0.3600	0.0273		0.0826	0.1397	0.0051
4	0.0078	0.6211	0.0826		0.0023	0.1868
5	0.5042	0.0005	0.1397	0.0023		<.0001
6	0.0003	0.3670	0.0051	0.1868	<.0001	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29
The GLM Procedure

Dependent Variable: CA21A24

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	38.7549425	7.7509885	1.25	0.3203
Error	23	143.0421333	6.2192232		
Corrected Total	28	181.7970759			

R-Square 0.213177 Coeff Var 308.6695 Root MSE 2.493837 CA21A24 Mean 0.807931

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	7.76249808	3.88124904	0.62	0.5446
ESTIMULO	1	15.57526736	15.57526736	2.50	0.1272
CLA*ESTIMULO	2	15.41717709	7.70858854	1.24	0.3082

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	9.72923167	4.86461584	0.78	0.4692
ESTIMULO	1	12.69059509	12.69059509	2.04	0.1666
CLA*ESTIMULO	2	15.41717709	7.70858854	1.24	0.3082

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CA21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
-----	-------------------	-------------------	---------	------------------

0	0.08066667	0.75504666	0.9158	1
1	0.79500000	0.83645837	0.3518	2
2	1.48700000	0.83645837	0.0887	3

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

Dependent Variable: CA21A24

i/j	1	2	3
1		0.5324	0.2246
2	0.5324		0.5643
3	0.2246	0.5643	

ESTIMULO	CA21A24 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	0.11933333	0.69549792	0.8653	0.1666
PBS	1.45577778	0.62576411	0.0292	

CLA	ESTIMULO	CA21A24 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	-1.56200000	1.11527783	0.1747	1
0	PBS	1.72333333	1.01810471	0.1040	2
1	LPS	0.38000000	1.24691852	0.7633	3
1	PBS	1.21000000	1.11527783	0.2892	4
2	LPS	1.54000000	1.24691852	0.2293	5
2	PBS	1.43400000	1.11527783	0.2113	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CA21A24

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0401	0.2576	0.0921	0.0766	0.0701
2	0.0401		0.4126	0.7370	0.9103	0.8497
3	0.2576	0.4126		0.6245	0.5172	0.5349
4	0.0921	0.7370	0.6245		0.8454	0.8883
5	0.0766	0.9103	0.5172	0.8454		0.9500
6	0.0701	0.8497	0.5349	0.8883	0.9500	

APÊNDICE 7. Observações experimentais: frequência respiratória aos 60 minutos após os desafios com LPS

Tratamento		REP	FR	
CLA (%)	LPS		1º desafio com LPS	2º desafio com LPS
0	+	1	34	112
0	+	2	40	114
0	+	3	102	70
0	+	4	40	88
0	+	5	42	54
0	+	6	68	160
0	-	1	22	48
0	-	2	80	46
0	-	3	54	76
0	-	4	52	54
0	-	5	s/obs	48
0	-	6	26	s/obs
1	+	1	42	34
1	+	2	58	120
1	+	3	72	82
1	+	4	46	104
1	+	5	30	40
1	-	1	22	50
1	-	2	22	60
1	-	3	32	62
1	-	4	34	46
1	-	5	26	38
2	+	1	106	96
2	+	2	56	68
2	+	3	120	104
2	+	4	104	64
2	+	5	48	56
2	-	1	22	46
2	-	2	96	32
2	-	3	24	74
2	-	4	46	72
2	-	5	58	48

REP=repetição, FR=frequência respiratória (movimentos por minuto);
s/obs=sem observação

*Os desafios com LPS foram no 7º e 21º dia pós-desmame.

APÊNDICE 8. Análise estatística: frequência respiratória aos 60 minutos após os desafios com LPS
FR=frequencia respiratória

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS
INOCULA	2	1 2

Number of observations 62

The GLM Procedure

Dependent Variable: FR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	24049.50108	2186.31828	3.45	0.0013
Error	50	31707.46667	634.14933		
Corrected Total	61	55756.96774			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FR Mean
0.431327	41.19535	25.18232	61.12903

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3070.96774	1535.48387	2.42	0.0991
ESTIMULO	1	11090.32941	11090.32941	17.49	0.0001
INOCULA	1	4738.12903	4738.12903	7.47	0.0086
CLA*ESTIMULO	2	116.87059	58.43529	0.09	0.9121
CLA*INOCULA	2	2825.25279	1412.62639	2.23	0.1184
ESTIMULO*INOCULA	1	343.95936	343.95936	0.54	0.4649
CLA*ESTIMULO*INOCULA	2	1863.99216	931.99608	1.47	0.2398

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2885.27059	1442.63529	2.27	0.1133
ESTIMULO	1	11081.41714	11081.41714	17.47	0.0001
INOCULA	1	4228.76190	4228.76190	6.67	0.0128
CLA*ESTIMULO	2	116.87059	58.43529	0.09	0.9121
CLA*INOCULA	2	2629.66275	1314.83137	2.07	0.1364
ESTIMULO*INOCULA	1	283.80190	283.80190	0.45	0.5066
CLA*ESTIMULO*INOCULA	2	1863.99216	931.99608	1.47	0.2398

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	63.8000000	5.3912130	<.0001	1
1	51.0000000	5.6309383	<.0001	2
2	67.0000000	5.6309383	<.0001	3

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

Dependent Variable: FR

i/j	1	2	3
1		0.1069	0.6832
2	0.1069		0.0499
3	0.6832	0.0499	

ESTIMULO	FR LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	74.0000000	4.4681048	<.0001	0.0001
PBS	47.2000000	4.5976419	<.0001	

INOCULA	FR LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
1	52.3222222	4.5333361	<.0001	0.0128
2	68.8777778	4.5333361	<.0001	

CLA	ESTIMULO	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	77.0000000	7.2695101	<.0001	1
0	PBS	50.6000000	7.9633494	<.0001	2
1	LPS	62.8000000	7.9633494	<.0001	3
1	PBS	39.2000000	7.9633494	<.0001	4
2	LPS	82.2000000	7.9633494	<.0001	5
2	PBS	51.8000000	7.9633494	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: FR

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0179	0.1939	0.0010	0.6317	0.0235
2	0.0179		0.2839	0.3163	0.0071	0.9156
3	0.1939	0.2839		0.0412	0.0911	0.3334
4	0.0010	0.3163	0.0412		0.0004	0.2686
5	0.6317	0.0071	0.0911	0.0004		0.0095
6	0.0235	0.9156	0.3334	0.2686	0.0095	

CLA	INOCULA	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	1	50.5666667	7.6243266	<.0001	1
0	2	77.0333333	7.6243266	<.0001	2
1	1	38.4000000	7.9633494	<.0001	3
1	2	63.6000000	7.9633494	<.0001	4
2	1	68.0000000	7.9633494	<.0001	5
2	2	66.0000000	7.9633494	<.0001	6

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

Dependent Variable: FR

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0176	0.2751	0.2427	0.1201	0.1677
2	0.0176		0.0010	0.2288	0.4165	0.3218
3	0.2751	0.0010		0.0297	0.0114	0.0178
4	0.2427	0.2288	0.0297		0.6977	0.8321
5	0.1201	0.4165	0.0114	0.6977		0.8598
6	0.1677	0.3218	0.0178	0.8321	0.8598	

ESTIMULO	INOCULA	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
LPS	1	63.5777778	6.3188544	<.0001	1
LPS	2	84.4222222	6.3188544	<.0001	2

PBS 1 41.0666667 6.5020475 <.0001 3
 Freq. respiratória 15:11 Saturday, December 1, 2001 9
 The GLM Procedure
 Least Squares Means

ESTIMULO	INOCULA	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
PBS	2	53.3333333	6.5020475	<.0001	4

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

Dependent Variable: FR

i/j	1	2	3	4
1		0.0237	0.0164	0.2639
2	0.0237		<.0001	0.0012
3	0.0164	<.0001		0.1882
4	0.2639	0.0012	0.1882	

CLA	ESTIMULO	INOCULA	FR LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	1	54.3333333	10.2806398	<.0001	1
0	LPS	2	99.6666667	10.2806398	<.0001	2
0	PBS	1	46.8000000	11.2618767	0.0001	3
0	PBS	2	54.4000000	11.2618767	<.0001	4
1	LPS	1	49.6000000	11.2618767	<.0001	5
1	LPS	2	76.0000000	11.2618767	<.0001	6
1	PBS	1	27.2000000	11.2618767	0.0194	7
1	PBS	2	51.2000000	11.2618767	<.0001	8
2	LPS	1	86.8000000	11.2618767	<.0001	9
2	LPS	2	77.6000000	11.2618767	<.0001	10
2	PBS	1	49.2000000	11.2618767	<.0001	11
2	PBS	2	54.4000000	11.2618767	<.0001	12

The GLM Procedure
 Least Squares Means

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO*INOCULA
 Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: FR

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.0030	0.6234	0.9965	0.7575	0.1616
2	0.0030		0.0011	0.0046	0.0019	0.1270
3	0.6234	0.0011		0.6353	0.8612	0.0727
4	0.9965	0.0046	0.6353		0.7644	0.1811
5	0.7575	0.0019	0.8612	0.7644		0.1037
6	0.1616	0.1270	0.0727	0.1811	0.1037	
7	0.0813	<.0001	0.2242	0.0939	0.1658	0.0035
8	0.8380	0.0025	0.7835	0.8416	0.9204	0.1257
9	0.0382	0.4028	0.0153	0.0472	0.0236	0.5008
10	0.1334	0.1541	0.0588	0.1515	0.0849	0.9204
11	0.7378	0.0017	0.8808	0.7454	0.9801	0.0987
12	0.9965	0.0046	0.6353	1.0000	0.7644	0.1811

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO*INOCULA
 Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: FR

i/j	7	8	9	10	11	12
1	0.0813	0.8380	0.0382	0.1334	0.7378	0.9965
2	<.0001	0.0025	0.4028	0.1541	0.0017	0.0046
3	0.2242	0.7835	0.0153	0.0588	0.8808	0.6353
4	0.0939	0.8416	0.0472	0.1515	0.7454	1.0000
5	0.1658	0.9204	0.0236	0.0849	0.9801	0.7644
6	0.0035	0.1257	0.5008	0.9204	0.0987	0.1811
7		0.1381	0.0005	0.0026	0.1733	0.0939
8	0.1381		0.0299	0.1037	0.9006	0.8416
9	0.0005	0.0299		0.5661	0.0222	0.0472
10	0.0026	0.1037	0.5661		0.0806	0.1515
11	0.1733	0.9006	0.0222	0.0806		0.7454
12	0.0939	0.8416	0.0472	0.1515	0.7454	

APÊNDICE 9. Observações experimentais: temperatura retal ao longo dos 270 minutos após os desafios com LPS

Tratamento			Temperatura Retal - 1º desafio com LPS*							
CLA (%)	LPS	REP	0min	30min	60min	120min	150min	180min	210min	270min
0	+	1	39,0	39,5	39,1	40,3	40,1	39,2	39,3	39,4
0	+	2	39,2	40,3	39,9	40,3	40,3	40,8	41,3	41,2
0	+	3	39,4	39,5	40,2	40,9	40,8	40,9	40,4	40,5
0	+	4	39,2	40,0	40,3	40,1	39,1	39,3	39,6	39,1
0	+	5	39,0	39,5	39,6	39,0	39,2	39,0	39,6	40,0
0	+	6	38,9	39,9	39,9	40,3	40,4	41,0	41,0	40,8
0	-	1	38,5	39,4	38,8	38,8	38,3	38,8	38,6	38,8
0	-	2	39,0	40,0	40,0	39,9	39,5	39,1	39,2	39,3
0	-	3	39,1	40,0	40,0	39,6	39,8	39,3	39,8	39,5
0	-	4	38,6	39,3	38,8	39,2	38,9	39,0	38,8	38,7
0	-	5	39,0	38,7	38,6	38,7	38,8	38,9	38,6	38,7
0	-	6	39,3	39,8	39,5	39,4	39,2	38,9	38,6	38,4
1	+	1	39,7	40,9	41,0	41,2	41,0	41,2	41,2	40,8
1	+	2	39,4	39,9	40,0	40,3	40,3	40,5	40,1	40,2
1	+	3	39,0	39,7	40,0	40,2	39,5	39,3	39,5	40,2
1	+	4	39,2	38,9	38,3	41,2	41,2	40,4	41,1	41,3
1	+	5	39,5	40,0	40,3	41,4	41,5	41,1	40,7	41,0
1	-	1	39,8	39,1	39,0	39,1	39,1	39,0	38,9	38,9
1	-	2	37,0	38,7	38,2	37,9	38,6	38,3	37,9	37,8
1	-	3	39,1	39,5	39,9	38,9	38,8	38,6	39,0	39,0
1	-	4	39,0	39,7	39,8	39,3	39,4	39,5	39,5	39,2
1	-	5	39,1	40,0	39,6	39,4	39,4	39,5	39,4	39,4
2	+	1	39,1	39,9	39,5	39,8	38,9	38,4	38,2	39,6
2	+	2	39,3	40,4	40,5	40,0	40,5	40,6	39,8	40,5
2	+	3	39,0	39,8	40,4	40,6	40,3	40,4	40,7	40,1
2	+	4	39,5	39,9	40,2	40,6	40,4	40,3	39,7	40,4
2	+	5	38,8	39,0	39,6	39,8	39,4	38,8	38,5	39,5
2	-	1	39,3	40,0	39,7	39,1	39,5	39,6	39,3	38,9
2	-	2	39,2	39,8	39,5	40,7	39,4	38,9	39,3	39,4
2	-	3	39,3	39,4	39,9	39,3	39,2	38,4	38,1	38,4
2	-	4	38,8	39,7	39,8	39,4	39,5	39,5	39,4	39,3
2	-	5	39,3	40,0	39,6	39,4	39,2	39,6	40,0	39,6

REP=repetição

*O 1º desafio com LPS foi realizado aos 7 dias pós-desmame.

APÊNDICE 9 - CONTINUAÇÃO. Observações experimentais: temperatura retal ao longo dos 270 minutos após os desafios com LPS

Tratamento			Temperatura Retal - 2º desafio com LPS*							
CLA (%)	LPS	REP	0min	30min	60min	120min	150min	180min	210min	270min
0	+	1	39,6	40,2	40,2	39,6	39,4	38,3	38,7	38,1
0	+	2	38,7	39,1	39,3	39,9	39,5	39,7	39,0	39,4
0	+	3	39,6	39,2	38,2	38,9	39,4	39,7	40,1	39,5
0	+	4	38,9	39,7	39,6	39,7	39,7	39,7	38,2	s/obs
0	+	5	39,2	39,4	39,5	40,1	40,1	40,7	39,8	40,7
0	+	6	39,0	38,9	39,7	40,4	40,7	40,6	40,0	40,1
0	-	1	39,1	38,4	39,1	39,1	39,3	39,4	39,4	39,6
0	-	2	38,7	38,9	39,3	39,4	39,3	39,3	39,2	39,7
0	-	3	39,1	39,3	39,7	40,1	40,0	39,9	40,0	39,6
0	-	4	39,0	38,9	39,1	38,7	39,1	39,2	39,1	39,5
0	-	5	39,7	39,8	39,5	40,3	40,2	40,4	40,0	39,6
0	-	6	38,6	38,6	38,9	39,1	38,9	39,1	38,8	39,4
1	+	1	39,6	39,4	40,6	40,3	40,4	40,2	39,4	40,0
1	+	2	38,9	39,1	38,8	39,2	39,4	39,7	40,1	38,3
1	+	3	38,7	39,5	39,5	39,8	39,4	39,2	38,6	38,5
1	+	4	39,1	40,1	40,2	40,0	40,7	38,9	39,8	40,6
1	+	5	39,2	39,0	39,1	39,7	40,1	40,4	40,9	41,2
1	-	1	39,2	38,8	39,1	39,3	39,0	39,0	39,3	39,5
1	-	2	39,4	38,5	39,4	39,0	38,9	39,0	39,1	40,2
1	-	3	38,8	39,3	39,4	39,3	39,3	39,1	39,2	39,1
1	-	4	39,0	38,5	38,5	38,9	38,8	39,3	38,9	39,3
1	-	5	38,6	38,9	38,9	39,2	39,0	39,6	39,2	38,9
2	+	1	38,7	39,5	39,3	39,7	39,1	39,8	39,6	40,5
2	+	2	39,4	39,4	40,1	40,5	40,5	40,3	41,3	s/obs
2	+	3	39,2	39,4	39,4	40,4	40,2	39,6	39,2	39,8
2	+	4	39,9	40,4	40,3	40,1	40,0	39,9	39,3	38,7
2	+	5	39,2	39,8	39,8	40,0	39,3	39,9	39,5	38,4
2	-	1	39,4	38,6	40,2	39,7	40,0	39,8	40,0	40,2
2	-	2	39,4	39,4	39,1	39,4	39,6	39,5	39,3	39,2
2	-	3	38,8	38,7	39,2	39,4	39,2	39,1	39,4	39,1
2	-	4	39,2	39,1	39,5	39,1	39,3	39,4	39,0	39,1
2	-	5	39,0	39,6	39,8	39,7	39,5	39,8	39,4	39,5

REP=repetição; s/obs=sem observação

*O 2º desafio com LPS foi realizado aos 21 dias pós-desmame
 APÊNDICE 10. Análise estatística: temperatura retal ao longo dos 270 minutos
 após os desafios com LPS
 t=minutos após o desafio com LPS

The GLM Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
estimulo	2	LPS PBS
inocula	2	1 2

Number of Observations Read 64
 Number of Observations Used 62

The GLM Procedure

Dependent Variable: t0

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	1.28800000	0.11709091	0.64	0.7825
Error	50	9.09200000	0.18184000		
Corrected Total	61	10.38000000			

R-Square 0.124085
 Coeff Var 1.090606
 Root MSE 0.426427
 t0 Mean 39.10000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.17028338	0.08514169	0.47	0.6288
estimulo	1	0.51177778	0.51177778	2.81	0.0997
CLA*estimulo	2	0.22596730	0.11298365	0.62	0.5413
inocula	1	0.02659574	0.02659574	0.15	0.7038
CLA*inocula	2	0.05226703	0.02613351	0.14	0.8665
estimulo*inocula	1	0.05016076	0.05016076	0.28	0.6018
CLA*estimulo*inocula	2	0.23416349	0.11708174	0.64	0.5296

The SAS System 09:06 Wednesday, December 9, 2009 1505

The GLM Procedure

Dependent Variable: t30

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	7.36769355	0.66979032	3.04	0.0035
Error	50	11.02150000	0.22043000		
Corrected Total	61	18.38919355			

R-Square 0.400653
 Coeff Var 1.189822
 Root MSE 0.469500
 t30 Mean 39.45968

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.60720300	0.30360150	1.38	0.2617
estimulo	1	2.53690898	2.53690898	11.51	0.0014
CLA*estimulo	2	0.16372616	0.08186308	0.37	0.6917
inocula	1	3.23761820	3.23761820	14.69	0.0004
CLA*inocula	2	0.07317575	0.03658787	0.17	0.8475
estimulo*inocula	1	0.37733452	0.37733452	1.71	0.1967
CLA*estimulo*inocula	2	0.24035104	0.12017552	0.55	0.5831

The GLM Procedure

Dependent Variable: t60

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	5.17600000	0.47054545	1.41	0.1999
Error	50	16.73900000	0.33478000		
Corrected Total	61	21.91500000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t60 Mean
0.236185	1.462963	0.578602	39.55000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.12306176	0.56153088	1.68	0.1972
estimulo	1	2.33668558	2.33668558	6.98	0.0110
CLA*estimulo	2	0.34581926	0.17290963	0.52	0.5998
inocula	1	0.91953191	0.91953191	2.75	0.1037
CLA*inocula	2	0.00181199	0.00090599	0.00	0.9973
estimulo*inocula	1	0.19484161	0.19484161	0.58	0.4491
CLA*estimulo*inocula	2	0.10706903	0.05353451	0.16	0.8527

The GLM Procedure

Dependent Variable: t120

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	16.04063441	1.45823949	5.78	<.0001
Error	50	12.60533333	0.25210667		
Corrected Total	61	28.64596774			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t120 Mean
0.559961	1.264484	0.502102	39.70806

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.26834332	0.13417166	0.53	0.5906
estimulo	1	10.56749409	10.56749409	41.92	<.0001
CLA*estimulo	2	1.67158038	0.83579019	3.32	0.0445
inocula	1	0.67200473	0.67200473	2.67	0.1088
CLA*inocula	2	0.34048501	0.17024251	0.68	0.5136
estimulo*inocula	1	1.41469976	1.41469976	5.61	0.0217
CLA*estimulo*inocula	2	1.01775658	0.50887829	2.02	0.1435

The GLM Procedure

Dependent Variable: t150

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	13.68838710	1.24439883	4.33	0.0002
Error	50	14.38000000	0.28760000		
Corrected Total	61	28.06838710			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t150 Mean
0.487680	1.353480	0.536284	39.62258

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.12071026	0.06035513	0.21	0.8114
estimulo	1	8.86128132	8.86128132	30.81	<.0001
CLA*estimulo	2	2.51949319	1.25974659	4.38	0.0177
inocula	1	0.16889362	0.16889362	0.59	0.4471
CLA*inocula	2	0.65801090	0.32900545	1.14	0.3267

estimulo*inocula	1	1.08482742	1.08482742	3.77	0.0578
CLA*estimulo*inocula	2	0.03235786	0.01617893	0.06	0.9454

The GLM Procedure

Dependent Variable: t180

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	11.30637634	1.02785239	2.48	0.0146
Error	50	20.75233333	0.41504667		
Corrected Total	61	32.05870968			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t180 Mean
0.352677	1.627932	0.644241	39.57419

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.01935967	0.00967984	0.02	0.9770
estimulo	1	7.02582033	7.02582033	16.93	0.0001
CLA*estimulo	2	0.91614441	0.45807221	1.10	0.3396
inocula	1	0.00794799	0.00794799	0.02	0.8905
CLA*inocula	2	0.79076748	0.39538374	0.95	0.3926
estimulo*inocula	1	1.77668558	1.77668558	4.28	0.0437
CLA*estimulo*inocula	2	0.42536876	0.21268438	0.51	0.6021

The GLM Procedure

Dependent Variable: t210

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	13.19652688	1.19968426	2.89	0.0051
Error	50	20.75766667	0.41515333		
Corrected Total	61	33.95419355			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t210 Mean
0.388657	1.631600	0.644324	39.49032

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.56022071	0.28011035	0.67	0.5139
estimulo	1	5.85706383	5.85706383	14.11	0.0005
CLA*estimulo	2	2.59749591	1.29874796	3.13	0.0525
inocula	1	0.12255792	0.12255792	0.30	0.5893
CLA*inocula	2	0.36892552	0.18446276	0.44	0.6438
estimulo*inocula	1	2.25759338	2.25759338	5.44	0.0238
CLA*estimulo*inocula	2	0.67279473	0.33639737	0.81	0.4505

The GLM Procedure

Dependent Variable: t270

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	16.32281720	1.48389247	3.16	0.0026
Error	50	23.51266667	0.47025333		
Corrected Total	61	39.83548387			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	t270 Mean
0.409756	1.733104	0.685750	39.56774

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0.37088283	0.18544142	0.39	0.6762
estimulo	1	7.68617021	7.68617021	16.34	0.0002
CLA*estimulo	2	1.13059946	0.56529973	1.20	0.3091

inocula	1	0.23936170	0.23936170	0.51	0.4789
CLA*inocula	2	0.19828338	0.09914169	0.21	0.8106
estimulo*inocula	1	6.02667139	6.02667139	12.82	0.0008
CLA*estimulo*inocula	2	0.18369301	0.09184650	0.20	0.8232

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t0

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.18184
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.2177
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.1933	30	LPS
A	39.0125	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t30

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.22043
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.2397
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.6700	30	LPS
B	39.2625	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t60

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.33478
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.2953
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.7567	30	LPS
B	39.3563	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t120

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.252107
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.2563
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	40.1367	30	LPS
B	39.3063	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t150

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.2876
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.2737
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	40.0200	30	LPS
B	39.2500	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t180

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	50
Error Mean Square	0.415047
Critical Value of Studentized Range	2.84059
Minimum Significant Difference	0.3289
Harmonic Mean of Cell Sizes	30.96774

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.9267	30	LPS
B	39.2438	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t210

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
-------	------

Error Degrees of Freedom 50
 Error Mean Square 0.415153
 Critical Value of Studentized Range 2.84059
 Minimum Significant Difference 0.3289
 Harmonic Mean of Cell Sizes 30.96774
 Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.8233	30	LPS
B	39.1781	32	PBS

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for t270

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 50
 Error Mean Square 0.470253
 Critical Value of Studentized Range 2.84059
 Minimum Significant Difference 0.35
 Harmonic Mean of Cell Sizes 30.96774

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	estimulo
A	39.9467	30	LPS
B	39.2125	32	PBS

APÊNDICE 11. Observações experimentais: produção de IgG anti-BSA.

Tratamento			IgG*	IgG	IgG
CLA (%)	LPS	REP	coleta 1	coleta 1 - coleta 2	coleta 1 - coleta 3
0	+	1	0,070	0,032	0,064
0	+	2	-0,011	0,112	0,226
0	+	3	0,020	0,194	0,598
0	+	4	-0,004	0,110	s/obs
0	+	5	0,090	0,035	0,252
0	+	6	-0,025	0,090	0,067
0	-	1	0,074	0,343	0,487
0	-	2	0,028	0,065	0,081
0	-	3	0,112	0,099	0,681
0	-	4	0,016	0,200	0,309
0	-	5	-0,005	0,087	0,067
0	-	6	0,099	0,232	0,641
1	+	1	0,009	0,409	0,511
1	+	2	0,004	0,194	s/obs
1	+	3	0,018	0,409	1,006
1	+	4	-0,005	0,073	0,092
1	+	5	0,346	1,056	1,630
1	-	1	0,103	0,205	1,153
1	-	2	0,018	0,447	0,830
1	-	3	0,061	0,320	0,252
1	-	4	-0,002	0,075	0,064
1	-	5	-0,033	0,105	0,150
2	+	1	0,005	0,075	0,078
2	+	2	0,055	0,262	s/obs
2	+	3	0,093	0,004	0,014
2	+	4	-0,025	0,111	0,179
2	+	5	-0,016	0,103	0,214
2	-	1	0,041	0,093	0,151
2	-	2	0,005	0,083	0,147
2	-	3	0,012	0,162	0,160
2	-	4	0,060	0,132	0,211
2	-	5	0,016	0,201	0,485

REP=repetição

*Valores de densidade óptica de IgG obtidos pelo teste de ELISA indireto.

A coleta de sangue 1 foi realizada no 4º dia pós-desmame, a coleta 2 no 18º e a coleta 3 no 32º.

APÊNDICE 12. Análise estatística: produção de IgG anti-BSA.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	32	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS
COLETA	2	2 3

Number of observations 61

The GLM Procedure

Dependent Variable: IgG

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	2.16650916	0.19695538	2.62	0.0102
Error	49	3.67750470	0.07505112		
Corrected Total	60	5.84401386			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	IgG Mean
0.370723	98.84208	0.273955	0.277164

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.10321599	0.55160799	7.35	0.0016
ESTIMULO	1	0.00175135	0.00175135	0.02	0.8792
COLETA	1	0.50615322	0.50615322	6.74	0.0124
CLA*ESTIMULO	2	0.36286865	0.18143433	2.42	0.0997
CLA*COLETA	2	0.16088453	0.08044227	1.07	0.3503
ESTIMULO*COLETA	1	0.00051969	0.00051969	0.01	0.9340
CLA*ESTIMULO*COLETA	2	0.03111574	0.01555787	0.21	0.8135

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1.22580571	0.61290285	8.17	0.0009
ESTIMULO	1	0.01251972	0.01251972	0.17	0.6847
COLETA	1	0.50438822	0.50438822	6.72	0.0125
CLA*ESTIMULO	2	0.39471983	0.19735992	2.63	0.0823
CLA*COLETA	2	0.16808542	0.08404271	1.12	0.3345
ESTIMULO*COLETA	1	0.00025403	0.00025403	0.00	0.9538
CLA*ESTIMULO*COLETA	2	0.03111574	0.01555787	0.21	0.8135

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	IgG LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	0.22122083	0.05730171	0.0003	1
1	0.48933125	0.06314341	<.0001	2
2	0.14915000	0.06314341	0.0222	3

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

Dependent Variable: ELISA

i/j	1	2	3
-----	---	---	---

ESTIMULO	IgG LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	0.30101250	0.05138762	<.0001	0.6847
PBS	0.27212222	0.04860782	<.0001	

COLETA	IgG LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
2	0.19488056	0.04860782	0.0002	0.0125
3	0.37825417	0.05138762	<.0001	

CLA	ESTIMULO	ELISA LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	0.16827500	0.08294387	0.0479	1
0	PBS	0.27416667	0.07908388	0.0011	2
1	LPS	0.61886250	0.09188716	<.0001	3
1	PBS	0.35980000	0.08663205	0.0001	4
2	LPS	0.11590000	0.09188716	0.2132	5
2	PBS	0.18240000	0.08663205	0.0404	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: IgG

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.3600	0.0007	0.1167	0.6741	0.9067
2	0.3600		0.0065	0.4688	0.1978	0.4378
3	0.0007	0.0065		0.0456	0.0003	0.0011
4	0.1167	0.4688	0.0456		0.0592	0.1540
5	0.6741	0.1978	0.0003	0.0592		0.6009
6	0.9067	0.4378	0.0011	0.1540	0.6009	

CLA	COLETA	IgG LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2	0.13304167	0.07908388	0.0989	1
0	3	0.30940000	0.08294387	0.0005	2
1	2	0.32915000	0.08663205	0.0004	3
1	3	0.64951250	0.09188716	<.0001	4
2	2	0.12245000	0.08663205	0.1638	5
2	3	0.17585000	0.09188716	0.0615	6

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

Dependent Variable: IgG

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.1303	0.1009	<.0001	0.9284	0.7255
2	0.1303		0.8699	0.0084	0.1255	0.285
3	0.1009	0.8699		0.0144	0.0979	0.2306
4	<.0001	0.0084	0.0144		0.0001	0.0006
5	0.9284	0.1255	0.0979	0.0001		0.6743
6	0.7255	0.2859	0.2306	0.0006	0.6743	

ESTIMULO	COLETA	IgG LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
LPS	2	0.21138333	0.06874184	0.0034	1
LPS	3	0.39064167	0.07640228	<.0001	2
PBS	2	0.17837778	0.06874184	0.0124	3

ELISA
The GLM Procedure
Least Squares Means

Standard LSMEAN

ESTIMULO	COLETA	IgG LSMEAN	Error	Pr > t	Number
PBS	3	0.36586667	0.06874184	<.0001	4

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

Dependent Variable: ELISA

i/j	1	2	3	4
1		0.0874	0.7357	0.1185
2	0.0874		0.0442	0.8105
3	0.7357	0.0442		0.0596
4	0.1185	0.8105	0.0596	

CLA	ESTIMULO	COLETA	IgG LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2	0.09525000	0.11184149	0.3986	1
0	LPS	3	0.24130000	0.12251622	0.0546	2
0	PBS	2	0.17083333	0.11184149	0.1331	3
0	PBS	3	0.37750000	0.11184149	0.0014	4
1	LPS	2	0.42810000	0.12251622	0.0010	5
1	LPS	3	0.80962500	0.13697729	<.0001	6
1	PBS	2	0.23020000	0.12251622	0.0662	7
1	PBS	3	0.48940000	0.12251622	0.0002	8
2	LPS	2	0.11080000	0.12251622	0.3702	9
2	LPS	3	0.12100000	0.13697729	0.3814	10
2	PBS	2	0.13410000	0.12251622	0.2791	11
2	PBS	3	0.23070000	0.12251622	0.0656	12

The GLM Procedure
Least Squares Means

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO*COLETA
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: IgG

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.3829	0.6349	0.0805	0.0503	0.0002
2	0.3829		0.6729	0.4156	0.2863	0.0033
3	0.6349	0.6729		0.1974	0.1274	0.0007
4	0.0805	0.4156	0.1974		0.7616	0.0182
5	0.0503	0.2863	0.1274	0.7616		0.0432
6	0.0002	0.0033	0.0007	0.0182	0.0432	
7	0.4199	0.9492	0.7220	0.3789	0.2589	0.0028
8	0.0215	0.1585	0.0606	0.5031	0.7250	0.0877
9	0.9257	0.4549	0.7190	0.1143	0.0731	0.0004
10	0.8848	0.5158	0.7793	0.1533	0.1011	0.0008
11	0.8158	0.5390	0.8257	0.1487	0.0961	0.0006
12	0.4182	0.9515	0.7197	0.3805	0.2601	0.0028

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO*COLETA
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: IgG

i/j	7	8	9	10	11	12
1		0.0215	0.9257	0.8848	0.8158	0.4182
2	0.4199		0.1585	0.4549	0.5158	0.9515
3	0.7220	0.0606		0.7190	0.7793	0.7197
4	0.3789	0.5031	0.1143		0.1533	0.3805
5	0.2589	0.7250	0.0731	0.1011		0.2601
6	0.0028	0.0877	0.0004	0.0008	0.0006	
7		0.1411	0.4940	0.5551	0.5817	0.9977
8	0.1411		0.0337	0.0505	0.0457	0.1418
9	0.4940	0.0337		0.9560	0.8936	0.4922
10	0.5551	0.0505	0.9560		0.9435	0.5533
11	0.5817	0.0457	0.8936	0.9435		0.5797
12	0.9977	0.1418	0.4922	0.5533	0.5797	

APÊNDICE 13. Observações experimentais: Índice de proliferação de linfócitos e porcentagem das subpopulações linfocitárias CD4⁺ e CD8⁺

Tratamento		REP	Índice de linfoproliferação	CD4+	CD8+
CLA (%)	LPS				
0	+	1	s/obs	25,55	22,84
0	+	2	1,138	23,30	30,34
0	+	3	1,067	21,92	28,31
0	+	4	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	1,285	26,73	28,28
0	+	6	1,188	20,94	23,47
0	-	1	1,450	27,05	26,92
0	-	2	1,498	20,59	25,65
0	-	3	0,841	19,39	27,40
0	-	4	1,177	21,36	24,95
0	-	5	1,348	18,91	30,55
0	-	6	1,394	21,06	26,38
1	+	1	1,731	18,57	27,35
1	+	2	s/obs	s/obs	s/obs
1	+	3	1,028	24,54	30,03
1	+	4	1,531	25,83	29,54
1	+	5	1,324	19,90	29,52
1	-	1	1,799	20,12	24,28
1	-	2	1,582	24,18	24,31
1	-	3	0,930	22,71	31,17
1	-	4	1,007	24,17	27,43
1	-	5	0,944	22,38	24,98
2	+	1	1,319	28,37	30,20
2	+	2	s/obs	s/obs	s/obs
2	+	3	0,914	26,33	28,91
2	+	4	1,059	24,06	31,12
2	+	5	1,685	28,19	32,95
2	-	1	1,132	26,08	30,47
2	-	2	0,937	19,56	30,72
2	-	3	s/obs	27,33	24,31
2	-	4	1,110	19,07	22,94
2	-	5	1,182	27,27	31,54

REP=repetição; s/obs=sem observação

APÊNDICE 14. Análise estatística: Índice de proliferação de linfócitos e porcentagem das subpopulações linfocitárias CD4⁺ e CD8⁺
LINFPROL=linfoproliferação

```

The GLM Procedure
Class Level Information
Class          Levels      Values
CLA            3          0 1 2
ESTIMULO      2          LPS PBS

Number of observations      32

The GLM Procedure
Dependent Variable: LINFPROL

Source          DF          Sum of
                Squares      Mean Square      F Value      Pr > F
Model           5          0,24554510      0,04910902      0,63      0,6795
Error          20          1,56061613      0,07803081
Corrected Total 25          1,80616123

R-Square      Coeff Var      Root MSE      LINFPROL Mean
0,135949      22,28415      0,279340      1,253537

Source          DF          Type I SS      Mean Square      F Value      Pr > F
CLA             2          0,15008544      0,07504272      0,96      0,3992
ESTIMULO       1          0,00693069      0,00693069      0,09      0,7688
CLA*ESTIMULO   2          0,08852896      0,04426448      0,57      0,5759

Source          DF          Type III SS      Mean Square      F Value      Pr > F
CLA             2          0,15417763      0,07708882      0,99      0,3898
ESTIMULO       1          0,01163219      0,01163219      0,15      0,7035
CLA*ESTIMULO   2          0,08852896      0,04426448      0,57      0,5759

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA          LINFPROL LSMEAN
0            1,22694617
1            1,35860349
2            1,16729153

ESTIMULO     LINFPROL LSMEAN
LPS          1,27234211
PBS          1,22955202

CLA  ESTIMULO  LINFPROL LSMEAN
0    LPS      1,16928257
0    PBS      1,28460977
1    LPS      1,40342214
1    PBS      1,31378484
2    LPS      1,24432163
2    PBS      1,09026144

```

```

The GLM Procedure
Class Level Information

```

```

Class      Levels  Values
LEITAO      29  1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA          3  0 1 2
ESTIMULO     2  LPS PBS
    
```

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: CD4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	77.8889655	15.5777931	1.82	0.1486
Error	23	196.8542483	8.5588804		
Corrected Total	28	274.7432138			

R-Square 0.283497 Coeff Var 12.56050 Root MSE 2.925556 CD4 Mean 23.29172

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	44.59407036	22.29703518	2.61	0.0955
ESTIMULO	1	18.54527519	18.54527519	2.17	0.1546
CLA*ESTIMULO	2	14.74961991	7.37480996	0.86	0.4357

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	47.94954617	23.97477309	2.80	0.0815
ESTIMULO	1	17.20403686	17.20403686	2.01	0.1697
CLA*ESTIMULO	2	14.74961991	7.37480996	0.86	0.4357

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CD4 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	22.5406667	0.8857562	<.0001	1
1	22.4610000	0.9812615	<.0001	2
2	25.2997500	0.9812615	<.0001	3

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

Dependent Variable: CD4

i/j	1	2	3
1		0.9525	0.0481
2	0.9525		0.0524
3	0.0481	0.0524	

ESTIMULO	CD4 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	24.2118333	0.8158987	<.0001	0.1697
PBS	22.6557778	0.7340930	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CD4 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	23.6880000	1.3083486	<.0001	1
0	PBS	21.3933333	1.1943534	<.0001	2
1	LPS	22.2100000	1.4627782	<.0001	3
1	PBS	22.7120000	1.3083486	<.0001	4
2	LPS	26.7375000	1.4627782	<.0001	5
2	PBS	23.8620000	1.3083486	<.0001	6

The GLM Procedure

Least Squares Means

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

Dependent Variable: CD4

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.2081	0.4590	0.6029	0.1339	0.9259
2	0.2081		0.6694	0.4642	0.0095	0.1768
3	0.4590	0.6694		0.8004	0.0390	0.4086
4	0.6029	0.4642	0.8004		0.0518	0.5404
5	0.1339	0.0095	0.0390	0.0518		0.1564
6	0.9259	0.1768	0.4086	0.5404	0.1564	

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

CD 17:01 Sunday, January 21, 2001 61

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 12 13 14 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: CD8

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	62.9706093	12.5941219	1.65	0.1873
Error	23	175.7229700	7.6401291		
Corrected Total	28	238.6935793			

R-Square 0.263814
Coeff Var 9.934595
Root MSE 2.764078
CD8 Mean 27.82276

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	29.35592476	14.67796238	1.92	0.1692
ESTIMULO	1	17.72549102	17.72549102	2.32	0.1413
CLA*ESTIMULO	2	15.88919352	7.94459676	1.04	0.3695

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	32.94850557	16.47425279	2.16	0.1386
ESTIMULO	1	20.92255579	20.92255579	2.74	0.1115
CLA*ESTIMULO	2	15.88919352	7.94459676	1.04	0.3695

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CD8 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	26.8115000	0.8368663	<.0001	1
1	27.7720000	0.9271001	<.0001	2
2	29.3955000	0.9271001	<.0001	3

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

Dependent Variable: CD8

i/j	1	2	3
-----	---	---	---

1		0.4497	0.0500
2	0.4497		0.2281
3	0.0500	0.2281	

ESTIMULO	CD8 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	28.8510000	0.7708646	<.0001	0.1115
PBS	27.1350000	0.6935742	<.0001	

CLA	ESTIMULO	CD8 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	26.6480000	1.2361334	<.0001	1
0	PBS	26.9750000	1.1284303	<.0001	2
1	LPS	29.1100000	1.3820392	<.0001	3
1	PBS	26.4340000	1.2361334	<.0001	4
2	LPS	30.7950000	1.3820392	<.0001	5
2	PBS	27.9960000	1.2361334	<.0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CD8

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.8468	0.1973	0.9036	0.0353	0.4485
2	0.8468		0.2436	0.7494	0.0431	0.5478
3	0.1973	0.2436		0.1624	0.3975	0.5538
4	0.9036	0.7494	0.1624		0.0276	0.3808
5	0.0353	0.0431	0.3975	0.0276		0.1448
6	0.4485	0.5478	0.5538	0.3808	0.1448	

APÊNDICE 15. Observações experimentais: contagem das proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina e fibrinogênio séricos

Tratamento			PPT (g/dL)	Albumina (g/dL)	Fibrinogênio (mg/dL)
CLA (%)	LPS	REP			
0	+	1	56	24,22	2
0	+	2	64	26,13	4
0	+	3	56	s/obs	2
0	+	4	58	23,00	4
0	+	5	54	27,05	2
0	+	6	60	24,62	2
0	-	1	56	28,37	2
0	-	2	62	32,10	2
0	-	3	62	28,56	2
0	-	4	60	27,69	2
0	-	5	60	27,56	2
0	-	6	s/obs	32,13	s/obs
1	+	1	64	28,12	4
1	+	2	58	28,56	4
1	+	3	54	24,30	2
1	+	4	60	s/obs	2
1	+	5	58	24,52	2
1	-	1	60	28,27	2
1	-	2	72	29,46	4
1	-	3	60	29,11	2
1	-	4	48	34,79	2
1	-	5	s/obs	27,13	s/obs
2	+	1	54	26,62	2
2	+	2	s/obs	30,27	s/obs
2	+	3	54	24,19	2
2	+	4	52	26,48	2
2	+	5	54	24,66	2
2	-	1	54	28,38	2
2	-	2	62	28,24	4
2	-	3	52	28,38	2
2	-	4	52	28,51	2
2	-	5	50	25,76	2

REP=repetição; s/obs=sem observação

APÊNDICE 16. Análise estatística: contagem das proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina e fibrinogênio séricos

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: PPT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	210,5724138	42,1144828	1,93	0,1273
Error	23	500,6000000	21,7652174		
Corrected Total	28	711,1724138			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PPT Mean
0,296092	8,120906	4,665321	57,44828

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,9501916	0,4750958	0,02	0,9784
ESTIMULO	1	202,2837607	202,2837607	9,29	0,0057
CLA*ESTIMULO	2	7,3384615	3,6692308	0,17	0,8459

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,9384615	0,4692308	0,02	0,9787
ESTIMULO	1	202,2480000	202,2480000	9,29	0,0057
CLA*ESTIMULO	2	7,3384615	3,6692308	0,17	0,8459

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	PPT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	57,6000000	1,4753039	<,0001	1
1	57,2500000	1,5647961	<,0001	2
2	57,2000000	1,4753039	<,0001	3

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

Dependent Variable: PPT

i/j	1	2	3
1		0,8721	0,8496
2	0,8721		0,9817
3	0,8496	0,9817	

ESTIMULO	PPT LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMEAN1=LSMEAN2 Pr > t
LPS	54,7000000	1,2537673	<,0001	0,0057
PBS	60,0000000	1,2045806	<,0001	

CLA	ESTIMULO	PPT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
-----	----------	------------	----------------	---------	---------------

0	LPS	54,4000000	2,0863949	<,0001	1
0	PBS	60,8000000	2,0863949	<,0001	2
1	LPS	54,5000000	2,3326604	<,0001	3
1	PBS	60,0000000	2,0863949	<,0001	4
2	LPS	55,2000000	2,0863949	<,0001	5
2	PBS	59,2000000	2,0863949	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: PPT

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0407	0,9748	0,0703	0,7887	0,1174
2	0,0407		0,0560	0,7887	0,0703	0,5929
3	0,9748	0,0560		0,0922	0,8250	0,1468
4	0,0703	0,7887	0,0922		0,1174	0,7887
5	0,7887	0,0703	0,8250	0,1174		0,1884
6	0,1174	0,5929	0,1468	0,7887	0,1884	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	30	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 30
HEMATO 17:01 Sunday, January 21, 2001 162

The GLM Procedure

Dependent Variable: ALBUMINA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	89,3119633	17,8623927	3,83	0,0109
Error	24	112,0184233	4,6674343		
Corrected Total	29	201,3303867			

R-Square 0,443609
Coeff Var 7,835385
Root MSE 2,160425
ALBUMINA_ Mean 27,57267

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	6,25518960	3,12759480	0,67	0,5210
ESTIMULO	1	71,15411897	71,15411897	15,24	0,0007
CLA*ESTIMULO	2	11,90265477	5,95132738	1,28	0,2977

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	4,91593260	2,45796630	0,53	0,5973
ESTIMULO	1	69,33542612	69,33542612	14,86	0,0008
CLA*ESTIMULO	2	11,90265477	5,95132738	1,28	0,2977

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	ALBUMINA_ LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	27,2028333	0,6541010	<,0001	1
1	28,0635000	0,7246284	<,0001	2
2	27,1490000	0,6831862	<,0001	3

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

Dependent Variable: ALBUMINA_

i/j	1	2	3
1		0,3867	0,9551
2	0,3867		0,3676
3	0,9551	0,3676	

ESTIMULO	ALBUMINA_ LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	25,9410000	0,5805967	<,0001	0,0008
PBS	29,0025556	0,5421028	<,0001	

CLA	ESTIMULO	ALBUMINA_ LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	25,0040000	0,9661712	<,0001	1
0	PBS	29,4016667	0,8819896	<,0001	2
1	LPS	26,3750000	1,0802123	<,0001	3
1	PBS	29,7520000	0,9661712	<,0001	4
2	LPS	26,4440000	0,9661712	<,0001	5
2	PBS	27,8540000	0,9661712	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: ALBUMINA_

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0026	0,3536	0,0020	0,3024	0,0478
2	0,0026		0,0401	0,7911	0,0331	0,2484
3	0,3536	0,0401		0,0285	0,9624	0,3177
4	0,0020	0,7911	0,0285		0,0234	0,1776
5	0,3024	0,0331	0,9624	0,0234		0,3124
6	0,0478	0,2484	0,3177	0,1776	0,3124	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: FIBRINO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	6,23448276	1,24689655	2,24	0,0846
Error	23	12,80000000	0,55652174		
Corrected Total	28	19,03448276			

Source	R-Square	Coeff Var	Root MSE	FIBRINO Mean	
CLA	0,327536	30,90587	0,746004	2,413793	
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3,21226054	1,60613027	2,89	0,0762

ESTIMULO	1	1,97606838	1,97606838	3,55	0,0722
CLA*ESTIMULO	2	1,04615385	0,52307692	0,94	0,4052

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3,20000000	1,60000000	2,88	0,0768
ESTIMULO	1	2,04800000	2,04800000	3,68	0,0676
CLA*ESTIMULO	2	1,04615385	0,52307692	0,94	0,4052

HEMATO 17:01 Sunday, January 21, 2001 93

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	FIBRINO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	2,80000000	0,23590713	<,0001	1
1	2,40000000	0,25021730	<,0001	2
2	2,00000000	0,23590713	<,0001	3

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

Dependent Variable: FIBRINO

i/j	1	2	3
1		0,2567	0,0250
2	0,2567		0,2567
3	0,0250	0,2567	

ESTIMULO	FIBRINO LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMEAN1=LSMEAN2 Pr > t
LPS	2,13333333	0,20048251	<,0001	0,0676
PBS	2,66666667	0,19261736	<,0001	

CLA	ESTIMULO	FIBRINO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2,40000000	0,33362306	<,0001	1
0	PBS	3,20000000	0,33362306	<,0001	2
1	LPS	2,00000000	0,37300192	<,0001	3
1	PBS	2,80000000	0,33362306	<,0001	4
2	LPS	2,00000000	0,33362306	<,0001	5
2	PBS	2,00000000	0,33362306	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO
Pr > |t| for H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: FIBRINO

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,1035	0,4323	0,4053	0,4053	0,4053
2	0,1035		0,0250	0,4053	0,0182	0,0182
3	0,4323	0,0250		0,1236	1,0000	1,0000
4	0,4053	0,4053	0,1236		0,1035	0,1035
5	0,4053	0,0182	1,0000	0,1035		1,0000
6	0,4053	0,0182	1,0000	0,1035	1,0000	

APÊNDICE 17. Observações experimentais: eritrograma

Tratamento			HT	HB	HEM	VGM	CHGM
CLA (%)	LPS	REP	(%)	(g/dL)	(x10 ⁶ /μL)	(fL)	(%)
0	-	1	35,00	10,10	5,33	65,67	28,86
0	-	2	35,00	9,50	5,21	67,18	27,14
1	+	1	38,00	10,50	6,89	55,15	27,63
0	+	1	39,00	11,05	6,77	57,61	28,33
0	+	2	34,00	12,09	6,42	52,96	35,56
1	-	1	37,00	10,45	6,43	57,54	28,24
1	-	2	34,00	9,45	5,43	62,62	27,79
2	-	1	33,00	9,50	5,89	56,03	28,79
2	+	1	34,00	9,70	5,23	65,01	28,53
2	-	2	35,00	9,75	5,45	64,22	27,86
1	+	2	39,00	10,60	6,85	56,93	27,18
0	+	3	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	-	3	36,00	9,50	5,83	61,75	26,39
1	-	3	38,00	10,60	6,25	60,80	27,89
0	+	4	42,00	10,40	6,98	60,17	24,76
2	-	3	33,00	12,05	5,29	62,38	36,52
0	-	4	35,00	12,05	5,81	60,24	34,43
2	+	2	45,00	12,25	7,69	58,52	27,22
1	-	4	36,00	10,10	6,33	56,87	28,06
2	-	4	38,00	10,75	6,07	62,60	28,29
1	+	3	40,00	11,30	7,59	52,70	28,25
1	+	4	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	35,00	9,60	5,41	64,70	27,43
0	-	5	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
2	-	5	34,00	10,30	5,89	57,72	30,29
2	+	3	33,00	8,85	5,55	59,46	26,82
1	+	5	32,00	8,25	4,97	64,39	25,78
1	-	5	34,00	9,30	5,01	67,86	27,35
0	-	6	36,00	10,40	5,37	67,04	28,89
0	+	6	41,00	11,25	6,25	65,60	27,44
2	+	4	38,00	10,50	6,31	60,22	27,63
2	+	5	39,00	10,50	6,05	64,46	26,92

REP=repetição; HT=hematócrito; HB=hemoglobina; HEM=hemácia, VGM=volume globular médio; CHGM=concentração de hemoglobina globular média; s/obs=sem observação

APÊNDICE 18. Análise estatística: eritrograma
 HT=hematócrito; HB=hemoglobina; HEM=hemácia, VGM=volume globular médio; CHGM=concentração de hemoglobina globular média

The GLM Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: HT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	51,6913793	10,3382759	1,12	0,3756
Error	23	211,5500000	9,1978261		
Corrected Total	28	263,2413793			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HT Mean
0,196365	8,312945	3,032792	36,48276

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,81915709	0,90957854	0,10	0,9062
ESTIMULO	1	45,97606838	45,97606838	5,00	0,0354
CLA*ESTIMULO	2	3,89615385	1,94807692	0,21	0,8107

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,80384615	0,90192308	0,10	0,9070
ESTIMULO	1	44,40200000	44,40200000	4,83	0,0383
CLA*ESTIMULO	2	3,89615385	1,94807692	0,21	0,8107

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	HT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	36,8000000	0,9590530	<,0001	1
1	36,5250000	1,0172293	<,0001	2
2	36,2000000	0,9590530	<,0001	3

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

Dependent Variable: HT

i/j	1	2	3
1		0,8458	0,6623
2	0,8458		0,8182
3	0,6623	0,8182	

ESTIMULO	HT LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	37,7500000	0,8150383	<,0001	0,0383
PBS	35,2666667	0,7830635	<,0001	

CLA	ESTIMULO	HT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	37,7500000	0,8150383	<,0001	1
0	PBS	35,2666667	0,7830635	<,0001	2
1	LPS	37,7500000	0,8150383	<,0001	3
1	PBS	35,2666667	0,7830635	<,0001	4
2	LPS	37,7500000	0,8150383	<,0001	5
2	PBS	35,2666667	0,7830635	<,0001	6

0	LPS	38,2000000	1,3563057	<,0001	1
0	PBS	35,4000000	1,3563057	<,0001	2
1	LPS	37,2500000	1,5163959	<,0001	3
1	PBS	35,8000000	1,3563057	<,0001	4
2	LPS	37,8000000	1,3563057	<,0001	5
2	PBS	34,6000000	1,3563057	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: HT

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,1579	0,6449	0,2234	0,8366	0,0733
2	0,1579		0,3726	0,8366	0,2234	0,6805
3	0,6449	0,3726		0,4832	0,7893	0,2056
4	0,2234	0,8366	0,4832		0,3079	0,5377
5	0,8366	0,2234	0,7893	0,3079		0,1088
6	0,0733	0,6805	0,2056	0,5377	0,1088	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: HB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2,29126569	0,45825314	0,42	0,8277
Error	23	24,90055500	1,08263283		
Corrected Total	28	27,19182069			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HB Mean
0,084263	10,03672	1,040496	10,36690

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,38044180	0,69022090	0,64	0,5377
ESTIMULO	1	0,33289235	0,33289235	0,31	0,5846
CLA*ESTIMULO	2	0,57793154	0,28896577	0,27	0,7681

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1,31531615	0,65765808	0,61	0,5532
ESTIMULO	1	0,32819220	0,32819220	0,30	0,5872
CLA*ESTIMULO	2	0,57793154	0,28896577	0,27	0,7681

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	HB LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	10,5940000	0,3290339	<,0001	1

1	10,0712500	0,3489931	<,0001	2
2	10,4150000	0,3290339	<,0001	3

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

Dependent Variable: HB

i/j	1	2	3
1		0,2871	0,7040
2	0,2871		0,4808
3	0,7040	0,4808	

ESTIMULO	HB LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	10,4668333	0,2796250	<,0001	0,5872
PBS	10,2533333	0,2686550	<,0001	

CLA	ESTIMULO	HB LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	10,8780000	0,4653242	<,0001	1
0	PBS	10,3100000	0,4653242	<,0001	2
1	LPS	10,1625000	0,5202482	<,0001	3
1	PBS	9,9800000	0,4653242	<,0001	4
2	LPS	10,3600000	0,4653242	<,0001	5
2	PBS	10,4700000	0,4653242	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: HB

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,3970	0,3160	0,1856	0,4392	0,5414
2	0,3970		0,8345	0,6208	0,9401	0,8101
3	0,3160	0,8345		0,7961	0,7797	0,6636
4	0,1856	0,6208	0,7961		0,5692	0,4641
5	0,4392	0,9401	0,7797	0,5692		0,8687
6	0,5414	0,8101	0,6636	0,4641	0,8687	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: HEM

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	3,77824897	0,75564979	1,55	0,2147
Error	23	11,23722000	0,48857478		
Corrected Total	28	15,01546897			

Source	R-Square	Coeff Var	Root MSE	HEM Mean	
	0,251624	11,61298	0,698981	6,018966	
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F

CLA	2	0,40192674	0,20096337	0,41	0,6676
ESTIMULO	1	3,16656684	3,16656684	6,48	0,0181
CLA*ESTIMULO	2	0,20975538	0,10487769	0,21	0,8084

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	0,52658000	0,26329000	0,54	0,5906
ESTIMULO	1	3,16489680	3,16489680	6,48	0,0181
CLA*ESTIMULO	2	0,20975538	0,10487769	0,21	0,8084

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	HEM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	5,93800000	0,22103728	<,0001	1
1	6,23250000	0,23444544	<,0001	2
2	5,94200000	0,22103728	<,0001	3

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

Dependent Variable: HEM

i/j	1	2	3
1		0,3702	0,9899
2	0,3702		0,3766
3	0,9899	0,3766	

ESTIMULO	HEM LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	6,36900000	0,18784557	<,0001	0,0181
PBS	5,70600000	0,18047618	<,0001	

CLA	ESTIMULO	HEM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	6,36600000	0,31259392	<,0001	1
0	PBS	5,51000000	0,31259392	<,0001	2
1	LPS	6,57500000	0,34949062	<,0001	3
1	PBS	5,89000000	0,31259392	<,0001	4
2	LPS	6,16600000	0,31259392	<,0001	5
2	PBS	5,71800000	0,31259392	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: ERITR

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0652	0,6600	0,2928	0,6552	0,1562
2	0,0652		0,0328	0,3989	0,1514	0,6424
3	0,6600	0,0328		0,1576	0,3921	0,0806
4	0,2928	0,3989	0,1576		0,5386	0,7008
5	0,6552	0,1514	0,3921	0,5386		0,3214
6	0,1562	0,6424	0,0806	0,7008	0,3214	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2

ESTIMULO 2 LPS PBS
 Number of observations HEMATO 29
 17:01 Sunday, January 21, 2001 80

The GLM Procedure

Dependent Variable: VGM

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	117,4545112	23,4909022	1,39	0,2655
Error	23	389,2248750	16,9228207		
Corrected Total	28	506,6793862			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	VGM Mean
0,231812	6,746117	4,113736	60,97931

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	38,93417732	19,46708866	1,15	0,3341
ESTIMULO	1	38,18000427	38,18000427	2,26	0,1467
CLA*ESTIMULO	2	40,34032962	20,17016481	1,19	0,3217

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	44,85811885	22,42905942	1,33	0,2852
ESTIMULO	1	39,98226420	39,98226420	2,36	0,1379
CLA*ESTIMULO	2	40,34032962	20,17016481	1,19	0,3217

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	VGM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	62,2920000	1,3008774	<,0001	1
1	59,2152500	1,3797889	<,0001	2
2	61,0620000	1,3008774	<,0001	3

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

Dependent Variable: VCM

i/j	1	2	3
1		0,1183	0,5104
2	0,1183		0,3403
3	0,5104	0,3403	

ESTIMULO	VGM LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	59,6781667	1,1055332	<,0001	0,1379
PBS	62,0346667	1,0621620	<,0001	

CLA	ESTIMULO	VGM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	60,2080000	1,8397185	<,0001	1
0	PBS	64,3760000	1,8397185	<,0001	2
1	LPS	57,2925000	2,0568678	<,0001	3
1	PBS	61,1380000	1,8397185	<,0001	4
2	LPS	61,5340000	1,8397185	<,0001	5
2	PBS	60,5900000	1,8397185	<,0001	6

The GLM Procedure
 Least Squares Means

Least Squares Means for effect CLA*ESTIMULO
 Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)
 Dependent Variable: VGM

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,1228	0,3017	0,7240	0,6151	0,8846
2	0,1228		0,0172	0,2258	0,2860	0,1591
3	0,3017	0,0172		0,1768	0,1379	0,2443
4	0,7240	0,2258	0,1768		0,8804	0,8350
5	0,6151	0,2860	0,1379	0,8804		0,7200
6	0,8846	0,1591	0,2443	0,8350	0,7200	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: CHCM

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	33,8346359	6,7669272	0,96	0,4627
Error	23	162,2378400	7,0538191		
Corrected Total	28	196,0724759			

R-Square 0,172562 Coeff Var 9,321551 Root MSE 2,655903 CHCM Mean 28,49207

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	10,99503364	5,49751682	0,78	0,4704
ESTIMULO	1	13,48242068	13,48242068	1,91	0,1801
CLA*ESTIMULO	2	9,35718154	4,67859077	0,66	0,5247

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	11,50610462	5,75305231	0,82	0,4548
ESTIMULO	1	12,92832000	12,92832000	1,83	0,1890
CLA*ESTIMULO	2	9,35718154	4,67859077	0,66	0,5247

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	CHGM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	28,9230000	0,8398702	<,0001	1
1	27,5380000	0,8908168	<,0001	2
2	28,8870000	0,8398702	<,0001	3

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

Dependent Variable: CHCM

i/j	1	2	3
1		0,2696	0,9761
2	0,2696		0,2819
3	0,9761	0,2819	

ESTIMULO	CHGM LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	27,7793333	0,7137524	<,0001	0,1890

CLA	ESTIMULO	CHCM LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
		29,1193333	0,6857511	<,0001	
0	LPS	28,7040000	1,1877558	<,0001	1
0	PBS	29,1420000	1,1877558	<,0001	2
1	LPS	27,2100000	1,3279513	<,0001	3
1	PBS	27,8660000	1,1877558	<,0001	4
2	LPS	27,4240000	1,1877558	<,0001	5
2	PBS	30,3500000	1,1877558	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: CHGM						
i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,7966	0,4103	0,6226	0,4538	0,3373
2	0,7966		0,2894	0,4552	0,3171	0,4793
3	0,4103	0,2894		0,7161	0,9054	0,0913
4	0,6226	0,4552	0,7161		0,7948	0,1528
5	0,4538	0,3171	0,9054	0,7948		0,0949
6	0,3373	0,4793	0,0913	0,1528	0,0949	

APÊNDICE 19. Observações experimentais: leucograma

Tratamento			LEUC	NEUT	LINF	MON	EOS	BAST	BASO
CLA (%)	LPS	REP	(/µL)	(/µL)	(/µL)	(/µL)	(/µL)	(/µL)	(/µL)
0	-	1	12800	3072	9472	128	128	0	0
0	-	2	10300	2884	6798	515	103	0	0
1	+	1	5800	406	5162	174	58	0	0
0	+	1	3000	1080	1590	270	60	0	0
0	+	2	3600	828	2340	360	72	0	0
1	-	1	16900	11661	4394	676	169	0	0
1	-	2	8500	3485	4250	510	255	0	0
2	-	1	16400	2460	12136	1640	164	0	0
2	+	1	17600	10208	4576	1408	176	1232	0
2	-	2	17400	4524	11658	870	174	0	174
1	+	2	9800	294	8918	588	0	0	0
0	+	3	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	-	3	16700	6179	9018	835	668	0	0
1	-	3	11900	3451	7021	833	595	0	0
0	+	4	8000	640	6000	1120	240	0	0
2	-	3	20500	5535	11890	2050	410	615	0
0	-	4	35300	4236	28946	1765	353	0	0
2	+	2	19700	1182	14184	3743	591	0	0
1	-	4	8900	2759	5429	534	178	0	0
2	-	4	19800	3762	14652	1188	198	0	0
1	+	3	2500	1150	1200	100	50	0	0
1	+	4	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	+	5	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
0	-	5	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs	s/obs
2	-	5	11900	5831	5236	714	119	0	0
2	+	3	1700	374	1190	85	51	0	0
1	+	5	3100	558	2418	93	0	31	0
1	-	5	13500	5400	7020	540	540	0	0
0	-	6	10100	4848	4343	505	404	0	0
0	+	6	8200	6560	1394	82	164	0	0
2	+	4	5300	1961	3021	318	0	0	0
2	+	5	2300	644	1495	161	0	0	0

REP=repetição; LEUC=leucócitos; NEUT=neutrófilos; LINF=linfócitos;
 MON=monócitos; EOS=eosinófilos, BAST=neutrófilos em bastão;
 BASO=basófilos; s/obs=sem observação

APÊNDICE 20. Análise estatística: leucograma
 LEUC=leucócitos; NEUT=neutrófilos; LINF=linfócitos; MON=monócitos;
 EOS=eosinófilos, BAST=neutrófilos em bastão; BASO=basófilos

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 23 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 29

The GLM Procedure

Dependent Variable: LEUCO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	688980000	137796000	3,52	0,0165
Error	23	900480000	39151304		
Corrected Total	28	1589460000			

R-Square 0,433468
 Coeff Var 55,86697
 Root MSE 6257,100
 LEUC Mean 11200,00

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	86486111,1	43243055,6	1,10	0,3483
ESTIMULO	1	567236927,4	567236927,4	14,49	0,0009
CLA*ESTIMULO	2	35256961,5	17628480,8	0,45	0,6430

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	101334500,0	50667250,0	1,29	0,2934
ESTIMULO	1	555036480,0	555036480,0	14,18	0,0010
CLA*ESTIMULO	2	35256961,5	17628480,8	0,45	0,6430

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	LEUC LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	11130,0000	1978,6689	<,0001	1
1	8620,0000	2098,6952	0,0004	2
2	13260,0000	1978,6689	<,0001	3

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

Dependent Variable: LEUC

i/j	1	2	3
1		0,3932	0,4543
2	0,3932		0,1213
3	0,4543	0,1213	

ESTIMULO	LEUC LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	6613,3333	1681,5452	0,0007	0,0010

PBS		15393,3333	1615,5764	<,0001	
CLA	ESTIMULO	LEUC LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	5220,0000	2798,2603	0,0749	1
0	PBS	17040,0000	2798,2603	<,0001	2
1	LPS	5300,0000	3128,5502	0,1038	3
1	PBS	11940,0000	2798,2603	0,0003	4
2	LPS	9320,0000	2798,2603	0,0029	5
2	PBS	17200,0000	2798,2603	<,0001	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: LEUC

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0066	0,9850	0,1030	0,3109	0,0060
2	0,0066		0,0102	0,2103	0,0634	0,9681
3	0,9850	0,0102		0,1273	0,3482	0,0094
4	0,1030	0,2103	0,1273		0,5145	0,1968
5	0,3109	0,0634	0,3482	0,5145		0,0585
6	0,0060	0,9681	0,0094	0,1968	0,0585	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: NEUT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	65545287,3	13109057,5	1,78	0,1590
Error	22	162179383,6	7371790,2		
Corrected Total	27	227724670,9			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NEUT Mean
0,287827	79,21364	2715,104	3427,571

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	831653,73	415826,87	0,06	0,9453
ESTIMULO	1	50873403,97	50873403,97	6,90	0,0154
CLA*ESTIMULO	2	13840229,55	6920114,78	0,94	0,4062

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	2153013,82	1076506,91	0,15	0,8650
ESTIMULO	1	52541240,89	52541240,89	7,13	0,0140
CLA*ESTIMULO	2	13840229,55	6920114,78	0,94	0,4062

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	NEUT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	3260,40000	910,67359	0,0017	1

1	2976,60000	910,67359	0,0035	2
2	3648,10000	858,59130	0,0003	3

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

Dependent Variable: NEUT

i/j	1	2	3
1		0,8276	0,7597
2	0,8276		0,5970
3	0,7597	0,5970	

ESTIMULO	NEUT LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	1917,60000	757,20635	0,0190	0,0140
PBS	4672,46667	701,03686	<,0001	

CLA	ESTIMULO	NEUT LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2277,00000	1357,55204	0,1076	1
0	PBS	4243,80000	1214,23146	0,0020	2
1	LPS	602,00000	1357,55204	0,6618	3
1	PBS	5351,20000	1214,23146	0,0002	4
2	LPS	2873,80000	1214,23146	0,0272	5
2	PBS	4422,40000	1214,23146	0,0014	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: NEUT

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,2919	0,3924	0,1056	0,7463	0,2514
2	0,2919		0,0581	0,5257	0,4335	0,9181
3	0,3924	0,0581		0,0161	0,2254	0,0477
4	0,1056	0,5257	0,0161		0,1632	0,5940
5	0,7463	0,4335	0,2254	0,1632		0,3769
6	0,2514	0,9181	0,0477	0,5940	0,3769	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: LINF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	323545683,7	64709136,7	2,34	0,0757
Error	22	608319383,0	27650881,0		

Corrected Total 27 931865066,7

R-Square Coeff Var Root MSE LINF Mean
 0,347202 75,21570 5258,411 6991,107

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	48190724,0	24095362,0	0,87	0,4323
ESTIMULO	1	207487538,1	207487538,1	7,50	0,0120
CLA*ESTIMULO	2	67867421,6	33933710,8	1,23	0,3124

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	44522465,8	22261232,9	0,81	0,4598
ESTIMULO	1	204474734,8	204474734,8	7,39	0,0125
CLA*ESTIMULO	2	67867421,6	33933710,8	1,23	0,3124

The GLM Procedure
 Least Squares Means

CLA	LINF LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	7273,20000	1763,72450	0,0004	1
1	5023,65000	1763,72450	0,0093	2
2	8003,80000	1662,85541	<,0001	3

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

Dependent Variable: LINF

i/j	1	2	3
1		0,3769	0,7659
2	0,3769		0,2319
3	0,7659	0,2319	

ESTIMULO	LINF LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	4049,56667	1466,50062	0,0114	0,0125
PBS	9484,20000	1357,71575	<,0001	

CLA	ESTIMULO	LINF LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	2831,0000	2629,2053	0,2933	1
0	PBS	11715,4000	2351,6327	<,0001	2
1	LPS	4424,5000	2629,2053	0,1065	3
1	PBS	5622,8000	2351,6327	0,0258	4
2	LPS	4893,2000	2351,6327	0,0493	5
2	PBS	11114,4000	2351,6327	0,0001	6

The GLM Procedure
 Least Squares Means

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

Dependent Variable: LINF

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,0196	0,6724	0,4371	0,5648	0,0283
2	0,0196		0,0507	0,0805	0,0523	0,8582
3	0,6724	0,0507		0,7373	0,8955	0,0711
4	0,4371	0,0805	0,7373		0,8284	0,1129
5	0,5648	0,0523	0,8955	0,8284		0,0748
6	0,0283	0,8582	0,0711	0,1129	0,0748	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class Levels Values

```

LEITAO          28   1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA              3   0 1 2
ESTIMULO        2   LPS PBS
    
```

Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: MON

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	3692982,90	738596,58	1,23	0,3289
Error	22	13218394,35	600836,11		
Corrected Total	27	16911377,25			

R-Square Coeff Var Root MSE MON Mean
 0,218373 99,53595 775,1362 778,7500

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3127589,594	1563794,797	2,60	0,0967
ESTIMULO	1	501192,694	501192,694	0,83	0,3710
CLA*ESTIMULO	2	64200,612	32100,306	0,05	0,9481

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	3285423,314	1642711,657	2,73	0,0870
ESTIMULO	1	518303,633	518303,633	0,86	0,3631
CLA*ESTIMULO	2	64200,612	32100,306	0,05	0,9481

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	MONO2 LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	603,80000	259,98858	0,0299	1
1	428,67500	259,98858	0,1134	2
2	1217,70000	245,11958	<,0001	3

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

Dependent Variable: MON

i/j	1	2	3
1		0,6386	0,0998
2	0,6386		0,0380
3	0,0998	0,0380	

ESTIMULO	MON LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	613,250000	216,175154	0,0096	0,3631
PBS	886,866667	200,139303	0,0002	

CLA	ESTIMULO	MON LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	458,00000	387,56809	0,2499	1
0	PBS	749,60000	346,65144	0,0417	2
1	LPS	238,75000	387,56809	0,5442	3
1	PBS	618,60000	346,65144	0,0881	4
2	LPS	1143,00000	346,65144	0,0033	5
2	PBS	1292,40000	346,65144	0,0012	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: MON

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,5806	0,6930	0,7603	0,2013	0,1228
2	0,5806		0,3366	0,7918	0,4309	0,2802
3	0,6930	0,3366		0,4728	0,0960	0,0550
4	0,7603	0,7918	0,4728		0,2964	0,1831
5	0,2013	0,4309	0,0960	0,2964		0,7634
6	0,1228	0,2802	0,0550	0,1831	0,7634	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: EOS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	335653,657	67130,731	2,09	0,1046
Error	22	705265,200	32057,509		
Corrected Total	27	1040918,857			

R-Square Coeff Var Root MSE EOS Mean
0,322459 84,68397 179,0461 211,4286

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	15010,5349	7505,2675	0,23	0,7932
ESTIMULO	1	233621,0351	233621,0351	7,29	0,0131
CLA*ESTIMULO	2	87022,0871	43511,0436	1,36	0,2781

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	12146,6951	6073,3476	0,19	0,8287
ESTIMULO	1	247299,2308	247299,2308	7,71	0,0110
CLA*ESTIMULO	2	87022,0871	43511,0436	1,36	0,2781

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	EOS LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	232,600000	60,053891	0,0008	1
1	187,200000	60,053891	0,0050	2
2	188,300000	56,619351	0,0031	3

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

Dependent Variable: EOS
i/j 1 2 3

1		0,5983	0,5968
2	0,5983		0,9895
3	0,5968	0,9895	

ESTIMULO	EO2 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	108,200000	49,933574	0,0413	0,0110
PBS	297,200000	46,229507	<,0001	

CLA	ESTIMULO	EOS LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	134,000000	89,523054	0,1486	1
0	PBS	331,200000	80,071854	0,0004	2
1	LPS	27,000000	89,523054	0,7658	3
1	PBS	347,400000	80,071854	0,0003	4
2	LPS	163,600000	80,071854	0,0532	5
2	PBS	213,000000	80,071854	0,0143	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: EOS

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0,1148	0,4071	0,0894	0,8076	0,5175
2	0,1148		0,0190	0,8875	0,1530	0,3079
3	0,4071	0,0190		0,0141	0,2676	0,1357
4	0,0894	0,8875	0,0141		0,1188	0,2479
5	0,8076	0,1530	0,2676	0,1188		0,6669
6	0,5175	0,3079	0,1357	0,2479	0,6669	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS

Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: BAST

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	253489,907	50697,981	0,73	0,6051
Error	22	1517559,950	68979,998		
Corrected Total	27	1771049,857			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	BAST Mean
0,143130	391,5832	262,6404	67,07143

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	215287,5349	107643,7675	1,56	0,2324
ESTIMULO	1	15277,6751	15277,6751	0,22	0,6425

CLA*ESTIMULO	2	22924,6971	11462,3486	0,17	0,8480
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	213840,3771	106920,1886	1,55	0,2345
ESTIMULO	1	13231,0173	13231,0173	0,19	0,6657
CLA*ESTIMULO	2	22924,6971	11462,3486	0,17	0,8480

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	BAST LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	0,000000	88,092280	1,0000	1
1	3,875000	88,092280	0,9653	2
2	184,700000	83,054198	0,0367	3

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

Dependent Variable: BAST

i/j	1	2	3
1		0,9755	0,1414
2	0,9755		0,1495
3	0,1414	0,1495	

ESTIMULO	BAST LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1= LSMean2 Pr > t
LPS	84,7166667	73,2469176	0,2598	0,6657
PBS	41,0000000	67,8134685	0,5516	

CLA	ESTIMULO	BAST LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	0,000000	131,320217	1,0000	1
0	PBS	0,000000	117,456373	1,0000	2
1	LPS	7,750000	131,320217	0,9535	3
1	PBS	0,000000	117,456373	1,0000	4
2	LPS	246,400000	117,456373	0,0476	5
2	PBS	123,000000	117,456373	0,3064	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: BAST

i/j	1	2	3	4	5	6
1		1,0000	0,9671	1,0000	0,1759	0,4924
2	1,0000		0,9653	1,0000	0,1522	0,4668
3	0,9671	0,9653		0,9653	0,1893	0,5198
4	1,0000	1,0000	0,9653		0,1522	0,4668
5	0,1759	0,1522	0,1893	0,1522		0,4654
6	0,4924	0,4668	0,5198	0,4668	0,4654	

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
LEITAO	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 13 14 15 16 17 18 19 20 21 25 26 27 28 29 30 31 32
CLA	3	0 1 2
ESTIMULO	2	LPS PBS
		Number of observations 28

The GLM Procedure

Dependent Variable: BASO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	4973,91429	994,78286	0,90	0,4964
Error	22	24220,80000	1100,94545		
Corrected Total	27	29194,71429			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	BASO Mean
0,170370	533,9390	33,18050	6,214286

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1946,314286	973,157143	0,88	0,4273
ESTIMULO	1	1089,936000	1089,936000	0,99	0,3306
CLA*ESTIMULO	2	1937,664000	968,832000	0,88	0,4289

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CLA	2	1937,664000	968,832000	0,88	0,4289
ESTIMULO	1	931,569231	931,569231	0,85	0,3676
CLA*ESTIMULO	2	1937,664000	968,832000	0,88	0,4289

The GLM Procedure
Least Squares Means

CLA	BASO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	0,0000000	11,1290774	1,0000	1
1	0,0000000	11,1290774	1,0000	2
2	17,4000000	10,4925948	0,1114	3

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

Dependent Variable: BASO

i/j	1	2	3
1		1,0000	0,2675
2	1,0000		0,2675
3	0,2675	0,2675	

ESTIMULO	BASO2 LSMEAN	Standard Error	H0:LSMEAN=0 Pr > t	H0:LSMean1=LSMean2 Pr > t
LPS	0,0000000	9,2535988	1,0000	0,3676
PBS	11,6000000	8,5671678	0,1895	

CLA	ESTIMULO	BASO LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
0	LPS	0,0000000	16,5902491	1,0000	1
0	PBS	0,0000000	14,8387699	1,0000	2
1	LPS	-0,0000000	16,5902491	1,0000	3
1	PBS	0,0000000	14,8387699	1,0000	4
2	LPS	0,0000000	14,8387699	1,0000	5
2	PBS	34,8000000	14,8387699	0,0284	6

The GLM Procedure
Least Squares Means

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

Dependent Variable: BASO

i/j	1	2	3	4	5	6
1		1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,1322
2	1,0000		1,0000	1,0000	1,0000	0,1114
3	1,0000	1,0000		1,0000	1,0000	0,1322

4	1,0000	1,0000	1,0000		1,0000	0,1114
5	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000		0,1114
6	0,1322	0,1114	0,1322	0,1114	0,1114	

APÊNDICE 21. Resultados das análises de matéria seca, proteína bruta e energia bruta das dietas experimentais. Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (Faculdade de Agronomia, UFRGS)

DIETA	Matéria Seca (%)	Proteína bruta (%)	Energia Bruta (kcal/kg)
PRÉ INICIAL 0% CLA	90,03	21,81	4118
PRÉ INICIAL 1% CLA	89,69	21,81	4203
PRÉ INICIAL 2% CLA	89,81	22,21	4179
INICIAL 0% CLA	89,23	24,76	4021
INICIAL 1% CLA	88,59	26,24	4065
INICIAL 2% CLA	89,57	26,51	4098

APÊNDICE 22. Normas para a publicação de artigos científicos no Journal of Animal Science

INSTRUCTIONS TO AUTHORS *Journal of Animal Science* (REVISED 2011)

The Instructions for Authors to the *Journal of Animal Science (JAS)* is divided into 2 sections:

- (I) Manuscript Preparation, which gives the Style and Form to be used by authors in the preparation of manuscripts; and
- (II) Policies and Procedures of *JAS*, which provides details concerning the mission of *JAS*, contact information, care and use of animals, the types of articles accepted by *JAS*, submitting manuscripts to *JAS* (including copyright policies), the review procedures and policies, and papers in press, author proofs, and publication charges.

I. MANUSCRIPT PREPARATION (STYLE AND FORM)

The most important thing you can do as you prepare your manuscript is to consult a recent issue of *JAS* in terms of the acceptable format for headings, title page, Abstract, Key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (or combined Results and Discussion), Literature Cited, and tables and figures (including figure captions), which are described in more detail below. **Failure to adhere to the style and form will result in immediate rejection of the manuscript.**

General. Papers must be written in English and must use the American spelling and usage as well as standard scientific usage, as given in the following on-line resources:

- For general style and form, authors should follow that recommended in *Scientific Style and Format. The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 7th ed. Council of Science Editors, Reston, VA.
- For American English spelling and usage: *Merriam-Webster OnLine* (<http://www.m-w.com/>).
- For numbers usage, consult the Policies Regarding Number Usage later in this document.
- For SI units, the following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>
- For capitalization and spelling of plants, consult the USDA Plants website (<http://plants.usda.gov>).
- For anatomical nomenclature, consult the current *Nomina Anatomica Veterinaria* (http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2005.pdf).

Manuscripts should be prepared double-spaced in Microsoft Word, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points. Special characters (e.g., Greek and symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex equations should be entered using Math-Type or an equation editor. Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript (not placed in the text). Authors should prepare their manuscript in Microsoft Word and upload the manuscripts using the fewest files possible to facilitate the review and editing processes.

Manuscripts should contain the following sections (Appendices or On-Line Only Data Supplements, described below, are optional), in this order:

Title Page. The title page includes a running head (the first word only and any proper nouns capitalized and no more than 45 characters plus spaces); the title (only the first word and any proper nouns capitalized, as brief as possible, and including the species involved); names of authors (e.g., T. E. Smith; no title, positions, or degrees) and institutions, including the city, state or country (all with first letters capitalized), and ZIP or postal code. Affiliations are footnoted using the symbols *, †, ‡, §, #, ||, ¶ and are placed below the author names. Footnotes on the first page (present address, and e-mail address of the corresponding author) are referenced by superscript numbers. Acknowledgments, including acknowledgements of grants, experiment station, or journal series number, are given as a footnote to the title. Authors who hold patents related to the research presented in the manuscript should include a statement in a footnote.

Abstract. The abstract consists of no more than 2,500 keystrokes (characters plus spaces) in one paragraph and summarizes the pertinent results (with statistical evidence; i.e., *P*-values) in a brief but understandable form, beginning with a clear statement of the objective and ending with the conclusions, with no references cited. Abbreviations in the abstract that are not Standard *JAS* abbreviations must be defined at first use.

Key Words. List up to 6 key words or phrases including the species, variables tested, and the major response criteria. The first letter of each key word is lowercase (unless a proper noun); key words are separated by commas and presented in alphabetical order; and no abbreviations should be used. Because major words in the title are not used for the subject index, which is published in the last issue of each volume of *JAS*, appropriate words from the title (or synonyms) should be listed as key words.

Introduction. The Introduction must not exceed 2,000 keystrokes (characters plus spaces) and briefly justifies the research, specifies the hypotheses to be tested, and gives the objective(s). Extensive discussion of relevant literature should be included in the Discussion.

Materials and Methods. A clear description or specific original reference is required for all biological, analytical, and statistical procedures. All modifications of procedures must be explained. Diets, dates of experimental activities if appropriate, animals [breed, sex, age, body weight, and weighing conditions (i.e., with or without restriction of feed and water)], surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Appropriate statistical methods should be used, although the biology should be emphasized. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. A statement of the results of the statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. Measurements on the same experimental unit over time also are not independent and should not be considered as independent experimental units. Provide a validation for assays [e.g., mean and CV for repeated analysis of a sample (both between and within-assay if available) and the sensitivity (minimum amount or concentration detectable)]. Also, provide a publication reference for the methodology used in kits. Centrifugal force should be provided in $\times g$, not rpm, and duration and temperature of centrifugation must be included. Include volume of blood collected, container used, and amount of preservative or anticoagulant (e.g., heparin).

Results. The results are presented in the form of tables or figures when feasible. If data are discussed in the text but not presented in the tables or figures, specify "data not shown" in the text. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached (including significance level; i.e., *P*-value), should be presented to allow the reader to interpret the results of the experiment. Reporting the actual *P*-value is preferred to the use of the terms *significant* and *highly significant*. Thus, the observed significance level (e.g., $P = 0.027$) should be presented, thereby allowing the reader to decide what to reject. Other probability (α) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled (e.g., trends in the data).

Discussion. The discussion should interpret the results clearly and concisely in terms of biological mecha-

nisms and significance and also should integrate the research findings with the body of previously published literature to provide the reader with a broad base on which to accept or reject the hypotheses tested. A stand-alone Discussion section should not refer to any tables or figures, nor should it include *P*-values (unless citing a *P*-value from another work).

Results and Discussion. In *JAS*, authors have the option of combining the results and discussion into one section.

Literature Cited. To be listed in the Literature Cited section, papers must be published or accepted for publication ("in press"). Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section. See the Literature Cited Guidelines later in this document.

Tables and Figures. Tables and figures must be prepared so they stand alone. Author-defined abbreviations must be defined (or redefined) in each table and figure. Manufacturer name and location should be provided for any proprietary product appearing in a table or figure.

Tables must be created using the table feature in MS Word (for instructions, see Guidelines for Creating Tables in Microsoft Word; <http://jas.fass.org/misc/ifora.shtml>). Refer to a recent issue of *JAS* for examples of table construction. When possible, tables should be organized to fit across the page without running broadside. Each column must have a heading (e.g., Item, Ingredient, Trait, Fatty acid). Units should be separated from headings by a comma. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. In the body of the table, references to footnotes should be numerals. Each footnote should begin on a new line. To indicate significant differences among means within a row or column, superscript lowercase letters are used; the preferred statement in the footnotes is: "Within a row (or column), means without a common superscript differ ($P < 0.05$)."

Figures should be placed at the end of the manuscript and should follow the Quality Guidelines for *JAS* Figures (<http://jas.fass.org/misc/ifora.shtml>). Each figure should be placed on a separate page (separated by section breaks) and identified by the manuscript number and figure number. Figure captions should be typed double spaced on a separate page. The use of color in figures should be avoided unless it is essential to understanding the figure. There is an additional fee for color figures that are printed in the journal (see Color Charge Agreement at <http://jas.fass.org/misc/ifora.shtml>).

Appendices. To provide readers with numerical examples or give extensive detail of analytical procedures, an appendix or appendices can be included. However, if the supplemental material is of interest only to a limited number of *JAS* readers, it should not be included as an appendix. Instead, mention that supplemental information is available on request from the author;

addresses for websites with appropriate supplemental information are acceptable. If extensive, the data may be included as an e-supplement to the manuscript (see Online-Only Data Supplements). Appendices should follow the Literature Cited section and be introduced by a major heading.

Online-Only Data Supplements. Authors can present material online that cannot physically be displayed in the print journal (e.g., Excel files, video), that might be cost-prohibitive (e.g., color figures), or that provides data sets too detailed for publication in print. A note will appear in the print version that more material can be found online. Material posted online only must go through the review process, and consequently should be in a format easily accessible by most reviewers and readers.

Additional Usage Notes

Numbers. See *JAS* Policies Regarding Number Usage later in this document.

Abbreviations. Abbreviations in the text that are not standard *JAS* abbreviations must be defined at first use. Authors should not use standard *JAS* abbreviations (e.g., t = metric ton and cannot be used as an abbreviation for temperature). In addition, authors should not use abbreviations accepted by *JAS*, such as abbreviations for elements (e.g., S = sulfur and C = carbon and cannot be used as author-defined abbreviations). Once defined, author-identified abbreviations should always be used, except to begin a sentence. Author-identified abbreviations need to be redefined in the abstract, at first use in the body of the paper, in each table, and in each figure. See Standard *JAS* abbreviations later in this document, which includes standard abbreviations for physical units, units of time, statistical symbols and abbreviations, and others. Standard *JAS* abbreviations should always be used except to begin a sentence or unless otherwise contraindicated (e.g., units of time should only be abbreviated when used with a number).

Gene and Protein Names. Because there is no universally accepted style for gene and protein names that applies to all species, the *Journal of Animal Science* asks the authors to assume the responsibility of using the convention appropriate for the particular species. Some general guidelines can be found in the *CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers* (7th ed., 2006). For example, the gene that codes for the protein p53 is *TP53* in humans and *Trp53* in mice (note that, by convention, gene names are italicized; also note that protein names are generally not italicized).

Quantitative Trait Loci and DNA Markers and Microarray Data. Papers that publish quantitative trait loci (QTL) or DNA marker association results for livestock are strongly encouraged to make their data available in an electronic form to one of the publicly available livestock QTL databases *after the manuscript appears in publication* [the date on which the paper is posted

to the *JAS*-Papers in Press website (<http://jas.fass.org/papbyrecent.dtl>) represents the official publication date]. Current QTL databases for livestock include, but may not be limited to, the Animal QTL database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>) and the Bovine QTL database (<http://bovineqtl.tamu.edu/>). Similarly, for microarray data we request that all authors using microarray data analysis in their research submit a complete data set to 1 of 3 databases before submission of a manuscript: the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo/>), the EMBL-EBI ArrayExpress repository (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>), or the Center for Information Biology Gene Expression (CIBEX) database (<http://cibex.nig.ac.jp/index.jsp>).

Commercial Products. The use of names of commercial products should be minimized. When a commercial product is used as part of an experiment, the manufacturer name, and location (city and state if in the United States; city and country otherwise) or a website address should be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures. The generic name should be used subsequently. No TM or [®] symbols should be used.

General Usage.

- Note that “and/or” is not permitted; choose the more appropriate meaning or use “x or y or both.”
- Report time using the 24-h system (e.g., 1410 h rather than 2:10 p.m.).
- Use italics to designate genus and species (*Bos taurus*) and botanical varieties (*Medicago sativa* var. Potomac). Designations for botanical cultivars should be preceded by “cv.” or enclosed in single quotes (e.g., *Festuca arundinacea* cv. Kentucky 31 or *Festuca arundinacea* ‘Kentucky 31’).
- Specify the basis (as-fed or dry matter) for dietary ingredient and chemical composition data listed in text or in tables. Similarly, specify the basis for tissue composition data (e.g., wet or dry basis).
- Calculations of efficiency should be expressed as output divided by input (i.e., gain:feed, not feed:gain). This avoids the spurious positive and negative infinity values when body weight gain is zero or negative. It also avoids the confusion associated with discussing an improvement as being a decrease.
- A diet is a feedstuff or a mixture of feedstuffs; a ration is the daily allotment of the diet.
- Restrict the use of “while” and “since” to meanings related to time. Appropriate substitutes include “and,” “but,” or “whereas” for “while” and “because” or “although” for “since.”
- The words “Table” and “Figure” are capitalized and not abbreviated when used in the text to refer to a specific table or figure. Experiment and equation should be abbreviated to Exp. and Eq., respectively, when preceding a numeral.
- Avoid jargon unfamiliar to scientists from other disciplines. Do not use the term “head” to refer to

- an animal or group of animals. Instead, use animal, sow, ewe, steer, heifer, cattle, etc.
- Avoid bi- as a prefix because of its ambiguity; bi-weekly means twice per week *and* once every 2 weeks.
 - Breed and variety names should be capitalized (Landrace, Hereford). Trademarked or registered names should be capitalized, but no TM or [®] symbols should be used.

II. POLICIES AND PROCEDURES OF JAS (return to Style and Form)

The mission of the American Society of Animal Science (ASAS) is to foster communication and collaboration among individuals and organizations associated with animal science research, education, industry, or administration "To discover, disseminate, and apply knowledge for sustainable use of animals for food and other human needs." The *Journal of Animal Science* (JAS), which is published monthly by ASAS, accepts manuscripts presenting information for publication with this mission in mind. The editorial policies of JAS are established by the editor-in-chief, managing editor, division and associate editors, and editorial board, subject to review by the publications committee, board of directors, and the membership of ASAS. The views expressed in papers published in JAS represent the opinions of the author(s) and do not necessarily reflect the official policy of the institution with which the author is affiliated, the ASAS, or the editor-in-chief. It is the responsibility of the authors to ensure the accuracy of collection, analysis, and interpretation of data in manuscripts and ultimately to guarantee the veracity of the contents of articles published in JAS.

The JAS is one of the most frequently cited, peer-reviewed, agriculturally oriented research journals in the world, based on statistics published by ISI Inc. (Philadelphia, PA). Its high ranking in several ISI categories, including impact factor, attests to the quality standards maintained by the JAS editorial board, editors, and staff and by authors who submit manuscripts for publication.

Contact Information

For information on the scientific content of the journal, contact the Editor-in-Chief, Dr. Steven A. Zinn, Department of Animal Science, University of Connecticut, Storrs, CT 06269-4040; phone: 860-486-0861; FAX: 860-486-4375; e-mail: steven.zinn@uconn.edu.

For other information or to submit a paper, contact Susan Pollock, Managing Editor and Director of Editorial and Production, Headquarters Office, American Society of Animal Science, 2441 Village Green Place, Champaign, IL 61822; telephone 217-356-7641; FAX 217-378-4083; journals@assochoq.org.

For assistance with author proofs, contact Lisa Krohn, Technical Editor, Headquarters Office, 2441

Village Green Place, Champaign, IL 61822; telephone 217-239-3319; FAX 217-378-4083; lisak@assochoq.org.

For assistance with Manuscript Central, Manuscript Submission/Copyright forms, publication charge invoices, or offprint orders, contact Jennifer Gavel, Manuscript Central Coordinator and Editorial Assistant, Headquarters Office, 2441 Village Green Place, Champaign, IL 61822; telephone 217-356-2426 ext. 139; FAX 217-378-4083; jennig@assochoq.org.

Care and Use of Animals

All manuscripts submitted to JAS must be accompanied by a manuscript submission form certifying that any research that involves animals has followed established standards for the humane care and use of animals and must specify which standards were used. Only investigations that have followed high standards for the humane care and use of animals in research will be reported in JAS.

The manuscript must include a statement of institutional animal care and use committee (IACUC) (or equivalent) approval of all animal procedures. The IACUC statement should appear as the first item in the Materials and Methods. The manuscript should discuss anesthetics, analgesics, tranquilizers, and care taken to minimize pain and discomfort during preoperative, operative, and postoperative procedures. If research requires discomfort to the animals or stressful conditions, justification for these conditions must be evident in papers published in JAS.

Types of Articles

Articles published in JAS encompass a broad range of research topics in animal production and fundamental aspects of genetics, nutrition, physiology, and preparation and utilization of animal products. Articles typically report research with beef cattle, companion animals, goats, horses, pigs, and sheep; however, studies involving other farm animals, aquatic and wildlife species, and laboratory animal species that address fundamental questions related to the biology of livestock, companion animals, and other managed animals will be considered for publication. Manuscripts that report research on production issues in animals other than those constituting the main focus of the journal should be submitted to other journals.

The preceding paragraph is not meant to exclude manuscripts but, rather, is a clarification of the focus of the journal. If there are any questions concerning the appropriateness of a manuscript for the journal, please contact the editor-in-chief.

Research Articles. Results of work contained in manuscripts submitted to JAS must not have been published or submitted previously in a refereed scientific journal. Previous presentation at a scientific meeting or the use of data in field day reports or similar documents, including press publications or postings to personal or departmental websites, does not

preclude the publication of such data in *JAS*. Articles simultaneously posted to websites and submitted to *JAS* should carry a disclaimer on the website that this version of the paper has not undergone *JAS* peer-review and is not to be considered the final published form of the article. If the article is published in *JAS*, the author should post the PDF (reprint) version of the article to the website so proper credit can be given to *JAS* as the publisher of the article. Because *JAS* holds the copyright to articles it publishes, posting altered *JAS* articles that are represented as exact duplicates of the published version constitutes copyright violation.

Review Articles. The journal publishes board-invited review articles each year; these reviews are identified by the editor-in-chief in consultation with the editors. Occasionally proposals for review articles to be published in *JAS* may be solicited by division editors, after consultation with the editor-in-chief; the authors will be responsible for publication charges for these articles. Unsolicited review articles will not be considered.

Special Topics. Papers will be considered for publication in this division that present Biographical or Historical Sketches, or that present viewpoints dealing with Contemporary Issues or Teaching in the animal sciences, or Perspectives that put a particular current topic into context in terms of its relationship or important to an entire area.

Biographies and Histories are part of the Special Topics Division but will be published only on the ASAS website (http://www.asas.org/pub_biohist.asp). The frequency of publication depends on the availability of the prepared sketches. See http://jas.fass.org/misc/JAS_Biographical_Sketch_Instruct_10.pdf for more information.

Contemporary Issues include topics such as environmental concerns, legislative proposals, systems analysis, and others. Teaching papers may discuss innovative pedagogical methods, philosophy of education, or solutions to teaching problems in animal science. Although Contemporary Issues or Teaching papers do not have to include original data, whenever appropriate the stated assertions should be substantiated by references to established information from credible published sources.

Special Topics papers will be subject to peer review in a manner similar to other submissions. Because of the nature of these papers, their format may vary from that of standard scientific articles.

Technical Notes. A technical note is a vehicle to report a new method, technique, or procedure of interest to *JAS* readers. When possible, a technical note should include a comparison of results from the new method with those from previous methods, using appropriate statistical tests. The advantages and disadvantages of the new procedure should be discussed. When typeset, a technical note shall not exceed 6 pages (9 typed man-

uscript pages), including tables and figures. The words "Technical note" shall be the first words of the title of such manuscripts. The review process for a technical note will be the same as that for other manuscripts.

Letters to the Editor. Letters judged suitable for publication will be printed in a "Letters to the Editor" section of *JAS*. The purpose of this section is to provide a forum for scientific exchange relating to matters published in *JAS*. To be acceptable for publication, letters must adhere to the following guidelines: 1) Only letters that address matters of science and relate to information published in *JAS* will be considered. In general, letters should not exceed 5,000 characters plus spaces and should contain no more than 5 citations; 2) Letters should provide supporting evidence based on published data for the points made or must develop logical scientific hypotheses; letters based on conjecture or on unsubstantiated claims will not normally be published. No new data may be presented in the letters; 3) Letters will be considered by the editor-in-chief and if deemed appropriate for publication, the author(s) of original paper(s) will be invited to write a letter of response. Normally both letters will be published together; and 4) All letters will be subject to acceptance and editing by the editor-in-chief and editing by the technical editor.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically at <http://mc.manuscriptcentral.com/jas>. Authors who have questions about using the electronic manuscript submission system should contact Jennifer Gavel, Manuscript Central coordinator and editorial assistant at: jennig@assoq.org. Authors who are unable to submit electronically should contact Jennifer Gavel (jennig@assoq.org) for assistance; include your manuscript as an attachment (saved as a Microsoft Word file). Staff at ASAS headquarters will post manuscripts by proxy, but authors should be aware that delays might occur in the review process.

Copyright Agreement

Authors shall complete the Manuscript Submission and Copyright Release form for each new manuscript submission; faxed copies are acceptable. The form is available online at <http://jas.fass.org/misc/ifora.shtml>. The copyright agreement is included in the Manuscript Submission and Copyright Release form and **must be completed by all authors before publication** can proceed. The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of coauthors. Persons unable to sign copyright agreements, such as federal employees, must indicate the reason for exemption on the form. The copyright to material published in *JAS* is held by ASAS. Persons who wish to reproduce material in *JAS* must request written permission to reprint copyrighted information from the managing editor.

Likewise, authors of *JAS* manuscripts who include material (usually tables or figures) taken from other copyrighted sources must secure permission from the copyright holders and provide evidence of this permission at the time the manuscript is submitted to *JAS* for review. Tables or figures reproduced from the work of others must include an acknowledgment of the original source in a footnote or legend.

REVIEW OF MANUSCRIPTS

General Procedures. The suitability of all manuscripts for publication in *JAS* is judged by the reviewers and associate editors, division editors, and the editor-in-chief. All communications regarding a submitted manuscript should maintain confidentiality. Associate editors handle correspondence with the author and promptly advise the division editor whether a manuscript should be rejected or accepted. The division editor's decision to reject or accept is based on the associate editor's recommendation and his or her own review of the manuscript. The division editor forwards document files for accepted manuscripts to the editor-in-chief for further review and editing, after which the editor-in-chief forwards the document file(s) to the technical editors. Note that most manuscripts that are eventually published are first returned by the associate editor to the author for revision, and in addition, the division editor may ask for changes before acceptance. The editor-in-chief is the final arbiter regarding acceptance or rejection of manuscripts submitted for publication.

Rejections. There are 3 main grounds for rejection of manuscripts. First, manuscripts that are not written clearly, concisely, and coherently or that do not conform to *JAS* style and form guidelines will be rejected without review. Authors whose first language is not English are urged to have their paper reviewed by an editing service. Second, the substance of the manuscript may not meet *JAS* standards: the work may be incomplete, the evidence may not support the conclusions, the experimental approach may be poorly conceived, or the work may repeat established fact or represent no advance of existing knowledge. Third, although the work may be sound and the results valid, the paper may be better suited for publication elsewhere.

Appeals. If a manuscript is rejected, as a first course of action the author may discuss the matter with the associate editor or division editor responsible for the manuscript. Decisions must be appealed to the editor-in-chief if the author(s) believe(s) that the judgment was erroneous or unfair. A letter presenting the reasons for the appeal should be sent to the editor-in-chief. The editor-in-chief will review the author's reasons, as well as all materials related to the manuscript and, after consulting with the editors who reviewed the manuscript, will render a decision whether to accept or deny the appeal. A rejected manuscript may be resubmitted for publication in another division of *JAS* only if

this course of action has been specifically recommended by the associate editor or division editor originally assigned to the manuscript and the transfer has been approved by the editor-in-chief.

Revisions. Most manuscripts that are eventually published are returned to the author(s) for revision. Normally, the revised manuscript must be returned to the associate editor via *JAS* Manuscript Central within 6 weeks from the date of receipt by the author or the manuscript will be withdrawn. Extenuating circumstances must be communicated to the technical editing staff, who will consult with the editor-in-chief before granting an extension. A Revision Checklist (<http://jas.fass.org/misc/ifora.shtml>) is sent with requests for revision to assist the authors.

PAPERS IN PRESS, AUTHOR PROOFS, AND PUBLICATION CHARGES

Papers in Press. To facilitate earlier dissemination, accepted manuscripts will be assigned a digital object identifier (DOI) and posted to the *JAS* Papers in Press site (<http://jas.fass.org/papbyrecent.dtl>) in the form in which they are accepted; because this does not represent the final, published form of the manuscript, the authors bear the primary responsibility for the content of manuscripts posted to the publish-ahead-of-print site.

Author Proofs. Accepted manuscripts are forwarded by the editor-in-chief to the editorial office for technical editing and typesetting. At this point, the technical editor may contact the authors for missing information or figure revisions. The manuscript is then typeset, figures reproduced, and author proofs prepared. Correspondence concerning the accepted manuscript should be directed to the technical editor.

Proofs of all manuscripts will be provided to the corresponding author and should be read carefully and checked against the typed manuscript; accuracy of the galley proof is the author's responsibility. Corrections may be returned by fax, mail, or e-mail. For faxed or mailed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. If extensive correction is required, changes should be provided on a separate sheet of paper with a symbol indicating location on the proof. Changes sent by e-mail to the technical editor must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Editor queries should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay publication. Excessive author changes made at the proof stage may result in a \$250 surcharge.

Publication Charges and Reprints. The journal has 2 options available for publication: open access (OA) and conventional page charges. For the OA option, authors will pay the OA fee when proofs are returned to the editorial office so that their paper will become freely available upon publication in an online

issue. Charges for OA publication are \$2,500 per article, if at least one author is a current professional member of ASAS; the charge is \$3,250 when no author is an ASAS member. For conventional publication, the charge is \$85 per printed page in *JAS* if at least one author is an ASAS member; the page charge is \$170 when no author is a member of ASAS. Reprints may be ordered at an additional charge. When the galley proof is sent, the author is asked to complete a reprint order form requesting the number of reprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges. Authors who submit articles containing color illustrations are responsible for paying the additional charge for color printing, including the printing of any reprints they order.

STANDARD JAS ABBREVIATIONS (return to Style and Form)

The following abbreviations should be used without definition in *JAS*; plural abbreviations do not require a final "s". Use of 3-letter abbreviations for amino acids (e.g., Ala) and use of standard abbreviations for elements (e.g., S) are acceptable in *JAS*. For chemical units and abbreviations, refer to the *ACS Style Guide* (published by the American Chemical Society, Washington, DC).

Physical units

Item	Unit
Bq	becquerel
°C	degree Celsius
cal	calorie
Ci	curie
cM	centimorgan (spell out morgan if used without a prefix)
Da	dalton
Eq	equivalent (only can be used with a prefix)
g	gram
ha	hectare
Hz	hertz
IU	international unit
J	joule
L	liter
lx	lux
m	meter
<i>M</i>	molar (concentration; preferred over mol/L)
mol	mole
<i>N</i>	normal (concentration)
Pa	pascal
rpm	revolutions/minute (not to be used to indicate centrifugal force)
t	metric ton (1,000 kg)
V	volt
W	watt

Units of time

Item	Unit
s	second(s)
min	minute(s)
h	hour(s)
d	day(s)
wk	week(s)
mo	month(s)
yr	year(s)

Statistical symbols and abbreviations

Item	Term
ANOVA	analysis of variance
CV	coefficient of variation
df	degree(s) of freedom (spell out if used without units)
<i>F</i>	<i>F</i> -distribution (variance ratio)
LSD	least significant difference
<i>n</i>	sample size (used parenthetically or in footnotes)
<i>P</i>	probability
<i>r</i>	simple correlation coefficient
<i>r</i> ²	simple coefficient of determination
<i>R</i>	multiple correlation coefficient
<i>R</i> ²	multiple coefficient of determination
<i>s</i> ²	variance (sample)
SD	standard deviation (sample)
SE	standard error
SED	standard error of the differences of means
SEM	standard error of the mean
<i>t</i>	<i>t</i> - (or Student) distribution
α	probability of Type I error
β	probability of Type II error
μ	mean (population)
σ	standard deviation (population)
σ^2	variance (population)
χ^2	chi-squared distribution

Others

Item	Term
AA	amino acid(s)
ACTH	adrenocorticotrophic hormone
ADF	acid detergent fiber (assumed sequential unless designated otherwise)
ADFI	average daily feed intake (not to be confused with DMI)
ADG	average daily gain
ADIN	acid detergent insoluble nitrogen
ADL	acid detergent lignin
ADP	adenosine diphosphate
AI	artificial insemination
AIA	acid insoluble ash

Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

ARS	Agricultural Research Service	IGFBP	insulin-like growth factor-binding protein(s)
ATP	adenosine triphosphate	IL	interleukin
avg	average (use only in tables, not in the text)	IVDMD	in vitro dry matter disappearance
BCS	body condition score	kb	kilobase(s)
BLUE	best linear unbiased estimate	KPH	kidney, pelvic, heart fat
BLUP	best linear unbiased prediction	L	levo-
bp	base pair	LD ₅₀	lethal dose 50%
BSA	bovine serum albumin	LH	luteinizing hormone
BTA	<i>Bos taurus</i> chromosome	LHRH	luteinizing hormone-releasing hormone
BW	body weight (used for live weight)	LM	longissimus muscle
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid	ME	metabolizable energy
C/EBP	CAAT-enhancer binding protein	MP	metabolizable protein
cfu	colony-forming unit	mRNA	messenger ribonucleic acid
CIE	International Commission on Illumination (Commission Internationale d'Éclairage)	MUFA	monounsaturated fatty acid
CLA	conjugated linoleic acid	NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
CoA	coenzyme A	NADH	reduced form of NAD
Co-EDTA	cobalt ethylenediaminetetraacetate	NDF	neutral detergent fiber
CP	crude protein (N × 6.25)	NDIN	neutral detergent insoluble nitrogen
D	dextro-	NE	net energy
diam.	diameter	NE _g	net energy for gain
DE	digestible energy	NE _l	net energy for lactation
DEAE	(dimethylamino)ethyl (as in DEAE-cellulose)	NE _m	net energy for maintenance
DFD	dark, firm, and dry (meat)	NEFA	nonesterified fatty acid
DM	dry matter	No.	number (use only in tables, not in the text)
DMI	dry matter intake	NPN	nonprotein nitrogen
DNA	deoxyribonucleic acid	NRC	National Research Council
EBV	estimated breeding value(s)	o.d.	outside diameter
eCG	equine chorionic gonadotropin	OM	organic matter
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid	PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
EFA	essential fatty acid	PBS	phosphate-buffered saline
EIA	enzymeimmunoassay	PCR	polymerase chain reaction
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	PG	prostaglandin
EPD	expected progeny difference(s)	PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin
Eq.	Equation(s)	PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor
Exp.	experiment (always followed by a numeral)	PSE	pale, soft, and exudative (meat)
FFA	free fatty acid(s)	PUFA	polyunsaturated fatty acid(s)
FSH	follicle-stimulating hormone	QTL	quantitative trait locus (loci)
<i>g</i>	gravity	RDP	ruminally degradable protein
GE	gross energy	REML	restricted maximum likelihood
G:F	gain-to-feed ratio	RFLP	restriction fragment length polymorphism
GLC	gas-liquid chromatography	RIA	radioimmunoassay
GLM	general linear model	RNA	ribonucleic acid
GnRH	gonadotropin-releasing hormone	RQ	respiratory quotient
GH	growth hormone	RUP	ruminally undegradable protein
GHRH	growth hormone-releasing hormone	rRNA	ribosomal ribonucleic acid
hCG	human chorionic gonadotropin	SAS	Statistical Analysis System
HCW	hot carcass weight	SDS	sodium dodecyl sulfate
HEPES	<i>N</i> -(2-hydroxyethyl)piperazine- <i>N'</i> -2-ethanesulfonic acid	SFA	saturated fatty acid
HPLC	high-performance (pressure) liquid chromatography	SNP	single nucleotide polymorphism
i.d.	inside diameter	spp.	species
Ig	immunoglobulin (when used to identify a specific immunoglobulin)	ssp.	subspecies
IGF	insulin-like growth factor	SSC	<i>Sus scrofa</i> chromosome
		ST	somatotropin
		TDN	total digestible nutrients

Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

TLC	thin layer chromatography
Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane
tRNA	transfer ribonucleic acid
TSAA	total sulfur amino acids
USDA	US Department of Agriculture
UV	ultraviolet
VFA	volatile fatty acid(s)
vol	volume
vol/vol	volume/volume (used only in parentheses)
vs.	versus
wt	weight (use only in tables, not in the text)
wt/vol	weight/volume (used only in parentheses)
wt/wt	weight/weight (used only in parentheses)

LITERATURE CITED GUIDELINES FOR JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

Citations in the Text. In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires that the authors' names be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1993). When there are more than 2 authors of an article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. More than 1 article listed in the same sentence or parentheses must be in chronological order first and alphabetical order for 2 publications in the same year. Published articles, and not abstracts, should be cited whenever possible; if the work was originally described in an abstract, the author(s) should use a literature search to determine if the work has been published as a peer-reviewed article.

Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as "J. E. Jones (institution, city, and state or country, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section.

Literature Cited Section. To be listed in the Literature Cited section, papers must be published or accepted for publication ("in press"). In the Literature Cited section, references are listed alphabetically by the author(s)' last name(s), and then chronologically. The year of publication follows the authors' names. As with text citations, 2 or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. All authors' names must appear in the Literature Cited section. Journals shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>). A list of standard abbreviations for frequently cited journals

and abbreviations used in citations is available at http://www.asas.org/jas/journal_abbrevs.pdf. One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided.

Sample references are as follows:

1. Books and articles within edited books:

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- NRC. 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Robinson, P. H., E. K. Okine, and J. J. Kennelly. 1992. Measurement of protein digestion in ruminants. Page 121 in *Modern Methods in Protein Nutrition and Metabolism*. S. Nissen, ed. Academic Press, San Diego, CA.

2. Handbooks, technical bulletins, theses, and dissertations

- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Sigma. 1984. Total hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in whole blood at 530–550 nm. Tech. Bull. No. 525. rev. ed. Sigma Chemical, St. Louis, MO.
- Ward, J. D. 1995. Effects of copper deficiency on performance and immune function of cattle. PhD Diss. North Carolina State Univ., Raleigh.

3. Journal articles and abstracts

- Cleale, R. M., IV, R. A. Britton, T. J. Klopfenstein, M. L. Bauer, D. L. Harmon, and L. D. Satterlee. 1987a. Induced non-enzymatic browning of soybean meal. II. Ruminant escape and net portal absorption of soybean protein treated with xylose. *J. Anim. Sci.* 65:1319–1326.
- Hall, J. B., R. B. Staigmiller, R. E. Short, R. A. Bellows, S. E. Bartlett, and D. A. Phelps. 1993. Body composition at puberty in beef heifers as influenced by nutrition and breed. *J. Anim. Sci.* 71(Suppl. 1):205. (Abstr.)

4. Conference proceedings

- NMC. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. Pages 82–92 in *Natl. Mastitis Counc. Reg. Meet. Proc.*, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis Counc., Arlington, VA.
- Talmant, A., X. Fernandez, P. Sellier, and G. Monin. 1989. Glycolytic potential in longissimus dorsi muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. Page 1129 in *Proc. 35th Int. Congr. Meat Sci. Technol.*, Copenhagen, Denmark.
- Van der Werf, J. H. J. 1990. A note on the use of conditional models to estimate additive genetic variance in selected populations. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Edinburgh, Scotland XIII:476–479.

5. Electronic Publications

- FDA. 2001. Effect of the use of antimicrobials in food-producing animals on pathogen load: Systematic review of the published literature. Accessed Dec. 14, 2001. <http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/PathRpt.PDF>.
- Huntington, G. B., D. L. Harmon, N. B. Kristensen, K. C. Hanson, and J. W. Spears. 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.01.012
- Le Neindre, P., C. Terlouw, X. Boivin, A. Boissy, and J. Lensink. 2001. Behavioral research and its application to livestock transport and policy: A European perspective. *J. Anim. Sci.* 79(E-Suppl.) Accessed Oct. 7, 2001. <http://www.asas.org/jas/jas0905.pdf>.

POLICIES REGARDING NUMBER USAGE FOR *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE*

In 2006, *JAS* adopted the proposed changes for number style by the Council of Science Editors for the seventh edition of their *Scientific Style and Format*. The greatest change is more widespread use of numerals for single-digit numbers. A full description of the new number style is available in *Scientific Style and Format*.

A summary of the CSE number style policies is as follows:

- All cardinal numbers are written as numerals except when they begin a sentence or appear in a title, when 2 numerals are adjacent in a sentence (spell out the number most easily expressed in words; e.g., two 10-kg samples), or when a number is used as a figure of speech.
- Numbers less than 1 are written with a preceding (leading) zero (e.g., 0.75).
- A comma separator is used in numbers greater than 999.
- Numerals should be used to designate ratios and multiplication factors (e.g., 2:1, 3-fold increase).
- If a number is spelled out at the beginning of a sentence, its associated unit is also spelled out (e.g., Ten milliliters of fluid . . ., not Ten mL of fluid . . .).
- Units of measurement not associated with a number should be spelled out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically.
- Single-digit ordinals are spelled out (i.e., first through ninth); larger ordinals are expressed in numeric form. Single-digit ordinals may be expressed numerically when they form part of a

series (e.g., 1st, 3rd, 10th, 20th, not first, third, 10th, 20th).

General number usage policies of *JAS* are as follows:

- Measures must be presented in the metric system (SI or *Système International d'Unités*; see: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/introduction.html>, or <http://physics.nist.gov/Pubs/SP330/sp330.pdf>).
- When a term must be expressed in nonmetric units for clarity (e.g., bushel weight), give such values in parentheses after the metric value.
- Use “to” instead of a hyphen to indicate a numerical range in text.
- Avoid the use of multiplying factors (e.g., $\times 10^6$) in table columns or rows, or in figure axis labels because of the uncertainty whether the data are to be, or already have been, converted by the factor.
- Avoid ambiguity by stating units (e.g., numbers of spermatozoa, millions/mL).
- Do not use more than one slant line (for “per”) in a single expression (e.g., use 5 mg/(g·d) or 5 mg·g⁻¹·d⁻¹ instead of 5 mg/g/d). Mathematically, “per” implies division; when 2 “per” occur consecutively, it is unclear precisely what is being divided by what.
- Dietary energy may be expressed in calories or in joules; the standard SI unit for energy is the joule.
- Hyphenate units of measure used as preceding adjectives (e.g., 5-kg sample). Hyphens are not used with percent or degree signs.
- Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation (=, −, +, ×, >, or <, etc.) when these signs occur between 2 values.
- Convert “mg %” to other units, such as mg/L or mg/mL; use “mol/100 mol” rather than “molar percent.”

VITA

Mariana Lemos de Moraes, filha de Uraci Terezinha Lemos de Moraes e José Luiz de Moraes, nasceu em 12 de abril de 1985 em Porto Alegre.

Cursou ensino fundamental e médio no Colégio Marista Nossa Senhora do Rosário em Porto Alegre.

Ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul no segundo semestre de 2003 e obteve o título da graduação em dezembro de 2008. No período entre março de 2006 e dezembro de 2008, foi bolsista de iniciação científica no Laboratório de Ensino Zootécnico, onde acompanhou vários projetos de pesquisa em nutrição de aves e suínos e apresentou trabalho em três edições do Salão de Iniciação Científica da UFRGS. Durante o período de graduação, também estagiou na Nutron Alimentos Ltda, no setor de Nutrição do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS e no Hospital do Jockey Club de Porto Alegre.

Em março de 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, área de concentração em Produção Animal e linha de pesquisa em Nutrição e Alimentação de Não-Ruminantes, com término em fevereiro de 2011. Durante o mestrado, participou de projetos de pesquisa em nutrição de aves e suínos,

participou de congressos com apresentação de trabalhos, publicou artigos como autora e co-autora, foi co-autora de um capítulo de livro.

Em agosto de 2009 ingressou no MBA em Gestão Ambiental da Fundação Getúlio Vargas com término previsto para julho de 2011.