ISSN 0365-4729

UNIVERSITÀ DI PISA

ANNALI

DELLA
FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA DI PISA

Volume LIII – 2000

EDIZIONI PLUS
Università di Pisa

ACIDI GRASSI DELLA SERIE OMEGA-3 NELLA DIETA DEI RIPRODUTTORI E CAPACITÀ DI APPRENDIMENTO DEI GIOVANI PULCINI

INFLUENCE OF FATTY ACIDS OF THE YOLK ON LEARNING PERFORMANCE OF DAY-OLD CHICKS

MARCO BAGLIACCA [1], VIVIANA GERVASIO [2], DANIELA RIVATELLI [3], WERNER BESSEI [3]

RIASSUNTO

Poiché i grassi sono la componente principale del tuorlo delle uova degli uccelli e la composizione acidica, in particolare il contenuto in PUFA n-3 e n-6, è di importanza fondamentale nell'embrione per lo sviluppo del cervello, dei tessuti della retina e per la neurotrasmissione, abbiamo controllato la composizione acidica di alcuni alimenti utilizzati dai *fasianidae* selvatici e studiato l'effetto che la variazione della composizione dei lipidi ingeriti dai riproduttori, determina nella capacità di apprendimento dei pulcini di un giorno.

Sono stati analizzati sei alimenti comunemente utilizzati dai *fasianidae* selvatici: adulti di *Helix pomatia, aphidae, formicidae e Rhynchota;* larve di *formicidae e Pieris brassicae.* Sono state quindi formulate quattro diete fornite ciascuna a 10 galline per 15 giorni: **CO** = dieta di controllo sfarinato a base di mais-soia, **PO** = dieta di controllo + 4,5% di olio di palma, **FO** = dieta di controllo + 4,5% di olio di pesce, **AO** dieta di controllo + 4,5% di olio di Alghe. Le uova, prodotte dalle galline inseminate artificialmente, sono state incubate e la capacità di apprendimento dei pulcini di un giorno è stata studiata mediante un test di apprendimento.

I risultati preliminari hanno mostrato che: il contenuto in acidi grassi polinsaturi a catena lunga può essere molto differente tra l'alimentazione naturale e quella di allevamento, i pulcini schiusi dalle uova arricchito con gli acidi grassi polinsaturi (PO e FO) sembrano mostrare una capacità di apprendimento maggiore dei pulcini di controllo (CO).

Parole chiave: Pulcini, acidi grassi polinsaturi, capacità di apprendimento.

[1] Dipartimento di Produzioni Animali – Direttore Prof. Dario Cianci.

[2] Collaboratore esterno.

[3] Institute of Animal Husbandry and Animal Breeding – University of Stuttgart – Director Prof. Werner Bessei.

SUMMARY

Lipids are important nutritional component of the avian egg. Fatty acid content of the eggs is influenced by the feed fat composition. The composition of fatty acid (n-3 and n-6 PUFA) is of fundamental importance for the development of brain, retinal tissues and the development of the neurotransmission in embrio. Starting from this knowledge, we analyzed the composition of some natural wild avian feed and, then we fed four different oil-supplemented diets to ten hens each, with the aim to manipulate tissue levels of n-3 fatty acids in eggs, consequently in their progeny, and to study the learning ability of day old chicks.

Six common wild pheasant feed (adults of: *Helix pomatia*, *aphidae* spp., *formicidae* spp *and Rhynchota* spp.; larvae of: *formicidae spp and Pieris brassicae*) were analyzed by gas chromatography and 40 hens were fed different formulated diets for 15 days: **1)** control diet (**CO**) a mixture, mais-soia based for laying hens (3.49% fat); **2)** Palm oil diet (**PO**) the same mixture supplemented with 4,5% of Palm oil); **3)** Fish oil diet (**FO**) control diet supplemented with 4,5% of Fish oil; **4)** Algae oil diet (**AO**) control diet supplemented with 4,5% of Algae oil. The eggs, produced after hens artificial insemination, were artificially incubated and the chicks' memory performance of day olds were laboratory tested in pairs by one-trial-passive-avoidance-task.

Preliminary results showed that the content in long chain fatty acid might be very different between wild feed and farm feed. Chicks hatched from eggs enriched with the n-3 and n-6 fatty acids contained in **PO** and **FO** diets seem to show higher learning ability with respect to the **CO**.

Key words: Poultry, Polyunsaturated Fatty acid, and behavior avoidance tasks.

INTRODUZIONE

La prassi comune di reintegrare le popolazioni naturali di fagiano utilizzando giovani animali provenienti da allevamento spesso si è risolta in parziali o totali fallimenti. Innumerevoli sono i fattori che rendono difficile la vita in natura ai fagiani provenienti dagli allevamenti. Se si esclude la possibile differenziazione genetica fra le popolazioni allevate e quelle selvatiche, tutte le cause di mortalità post-rilascio sono tuttavia riconducibili a due grandi problematiche: l' imprinting-training e l'alimentazione. Da lungo tempo si conosce il ruolo fondamentale che l'alimentazione riveste nello sviluppo morfo-funzionale dei pulcini (Ewing, 1963), ma solo recentemente è stato studiato nell'avifauna l'effetto negativo che possono avere diete rispondenti ai fabbisogni (Bagliacca e coll., 1998). Altrettanto conosciute sono le conseguenze che errori alimentari perpetrati sui riproduttori posso avere sullo sviluppo embrionale e post embrionale delle uova

(Speake e coll., 1998), ma non sono stati valutati gli effetti che errori alimentari perpetrati sui genitori possono avere sull'adattabilità della progenie. A tale riguardo recenti studi hanno dimostrato come, oltre alla funzione energetica, gli acidi grassi polinsaturi essenziali, linoleico, linolenico e arachidonico insieme anche all'acido docoesanoico, svolgano un ruolo fondamentale nello sviluppo neurale dei pulcini entrando nella formazione delle sinapsi nonché nella biosintesi degli acidi grassi (soprattutto della famiglia ω-3 a catena lunga) presenti nella massa cerebrale ed anche dei fotorecettori retinali. Questi effetti si fanno risalire alle particolari proprietà di flessibilità e compressibilità proprie di questi acidi grassi, fondamentali per l'estensione dei neuroni (Wiseman, 1984; Neuringer e coll., 1988; Speake e coll., 1998). Conseguentemente è stato supposto che tali grassi siano indispensabili per un corretto sviluppo neurale nelle specie aviarie. Come è noto i grassi sono contenuti nella frazione lipidica, che è la componente fondamentale del tuorlo delle uova (oltre il 90% dell'energia necessaria allo sviluppo dell'embrione è apportata dai lipidi del tuorlo). La composizione acidica del tuorlo varia però in funzione dell'alimentazione delle ovaiole (Speake e coll., 1998) e l'integrazione della dieta con fonti lipidiche particolarmente ricche di acidi grassi polinsaturi (presenti soprattutto in alcuni oli di origine vegetale e nell'olio di pesce e di alghe) modifica grandemente i rapporti tra gli stessi (Cherian e Sim, 1991-92-97; Meluzzi e coll., 1998a, 1998b). In condizioni normali di allevamento il tenore in acidi grassi polinsaturi ω-3 della dieta dei riproduttori non viene preso in considerazione fra gli elementi da calcolare per la corretta formulazione del mangime, conseguentemente la dieta fornita dagli allevatori può discostarsi notevolmente dall'effettivo fabbisogno degli animali e determinare una riduzione dello sviluppo neurale dei pulcini. Tale elemento, che può essere secondario nei soggetti destinati al macello, è fondamentale per gli animali il cui fine ultimo è la liberazione in natura e per i quali la sopravvivenza dipende dalla velocità e dalla capacità di apprendimento. In particolare nel caso dei *fasianidae*, i soggetti allevati possono essere alimentati con mangimi grassati con miscele di oli e grassi, la cui composizione può essere molto lontana da quella che gli uccelli possono reperire allo stato naturale (Lachlan e Bray, 1973; Berardelli e coll., 1987).

Per questa ragione abbiamo ritenuto opportuno determinare il

tenore in acidi grassi di alcuni alimenti che vengono normalmente utilizzati in natura dai riproduttori di avifauna stanziale durante la primavera (Hill & Robertson, 1988) e parallelamente studiare l'effetto che una variazione del contenuto in acidi grassi nella dieta dei riproduttori può determinare sulla capacità di apprendimento dei pulcini.

MATERIALI E METODI

Determinazione del contenuto in acidi grassi di alcuni alimenti presenti nella dieta dei fagiani

Durante la stagione primaverile sono state raccolte una dozzina di chiocciole della dimensione di 4-5 mm (*Helix pomatia*) e 5-10 g di insetti appartenenti alle seguenti categorie: *aphis spp.*, *formicidae spp* (larve e femmine sterili), *Rhynchota* e *Lepidoptera (Pieris brassicae)*. Ciascuna categoria di animali è stata congelata nel proprio barattolo di raccolta quindi ogni campione è stata suddiviso in due parti. Un sottocampione è stato utilizzato per la determinazione della sostanza secca mentre l'altro sottocampione è stato sottoposto ad idrolisi acida e successiva estrazione dei grassi in corrente di etere. L'estratto raccolto è stato quindi saponificato, metilato ed iniettato in una colonna gas cromatografica a 13 PSI (T1=160°C, t1=1'; R=3°C; T2=200°C t2=34').

Studio del comportamento dei pulcini nati da riproduttori alimentati con diete differenziate per il contenuto in acidi grassi della serie ω–3

Per lo studio degli effetti comportamentali dell'alimentazione sono state impiegate quaranta riproduttrici appartenenti ad una linea femminile di parents (Isabrown Warrer), 10 soggetti per tesi. Sono state quindi formulate quattro differenti diete caratterizzate da diversa composizione acidica e costituite sulla base di una miscela comune per riproduttori modificata tramite l'aggiunta del 4,5% in peso di olio di differente origine: palma, pesce o alghe. La composizione chimica della dieta di controllo è riportata nella Tabella I mentre la composizione acidica degli oli impiegati è riportata nella Tabella II.

Ciascuno dei quattro gruppi sperimentali di riproduttori è stato alimentato con una delle quattro diete per quindici giorni dopodiché le galline sono state inseminate artificialmente con seme di uno stesso riproduttore appartenente alla linea maschile dei parents. Le uova prodotte, dal secondo giorno successivo alla inseminazione, sono state

Tab. I. Ingredienti e composizione centesimale del mangime basale di controllo.

Ingredienti (in ordine decrescente):
mais, frumento, farina di estrazione di soia tostata e decorticata, crusca e cruschello di frumento tenero, farina di sottoprodotto di cavolo riccio, olio di soia, fosfato bicalcico, mono-fosfato di sodio, cloruro di sodio, integratore vitaminico, metionina, colina cloruro, carofil giallo e carofil rosso, BHT. (Vitamina E 32.00mg/kg).

Composizione chimica (%):	
Sostanza secca	88,00
Proteina greggia	17,24
Grassi greggi	3,49
Cellulosa greggia	3,31
Ceneri gregge	12,39
Estrattivi Inazotati	51,57

Tab. II. Composizione acidica degli oli.

		Palma *	**Pesce** **	**Alga** ***
C14:0	%		13,1	
C16:0	%	43,7	15,4	29,3
C16:1	%		11,7	
C18:0	%	4,4	2,8	1,1
C18:1	%	39,9	14,7	1,1
C18:2 ω-6	%	10,3	12,5	1,9
C18:3 ω-3	%		1,2	2,7
C20:4 ω-6	%		13,1	
C22:6 ω-3	%		8,5	25,3

* Palm Oil Research Institute of Malaysia; ** Louis Arkson Inc., Santa Fe Sprongs, USA *** Wood-Tenent Laboratories Inc., Dos Moines, Iowa, USA.

raccolte giornalmente, conservate e quindi incubate. I pulcini nati (178 nati, da un totale di 257 uova) sono stati quindi opportunamente marcati per poter risalire alla riproduttrice e sottoposti al *One-trial Passive Learning Avoidance Task* (PAL). Per ciascuna tesi è stato utilizzato un minimo di 40 pulcini (20 coppie). A ciascuna coppia (ventiquattro ore di età), proveniente direttamente dalla camera di schiusa, sono stati presentati due differenti stimoli rappresentati prima da sfere incolori quindi da sfere rosse e sfere blu del diametro di 4 mm. Tutte

le sfere sono state preventivamente immerse in acqua, poste all'estremità di bacchette metalliche e presentate ai pulcini per un tempo di 10". Successivamente la sfera rossa è stata ripresentata ai pulcini per 10", dopo essere stata intinta nel metil antranilato (Marples & Roper, 1997). Dopo 30' dal termine della presentazione sono state ripresentate ai pulcini le due sfere di colore diverso, la rossa e la blu (vedi schema operativo).

Schema operativo del One Trial Passive Avoidance Learning Task (Andrew, 1991).

Fase del test	**Attività**	**Stimolo**	**tempo (minuti)**
Fase 1	Formazione coppie pulcini	Ambientazione	30
Fase 2	1° Pre-training	Sfera cromata (2mm ∅) + acqua	20
	2° Pre-training	Sfera cromata (2mm ∅) + acqua	20
Fase 3	3° Pre-training	Sfera rossa (4mm ∅) + acqua	6
	4° Pre-training	Sfera blu (4mm ∅) + acqua	30
Fase 4	Learning	Sfera rossa (4mm ∅) + MeA	30
Fase 5	1° Test	Sfera rossa (4mm ∅)	6
	2° Test	Sfera blu (4mm ∅)	6

Per ogni animale sono stati misurati, con l'ausilio di un cronometro centesimale, i seguenti dati:

- Tempo di Latenza = il tempo, espresso in secondi, che intercorreva tra la presentazione della sfera e la prima beccata;
- Numero di Beccate = numero totale di volte che il pulcino beccava una determinata sfera nel tempo prestabilito riportato a 60";

e sono stati calcolati i seguenti parametri:

- Rapporto di Discriminazione (**DR**) = numero di beccate verso la sfera blu diviso il numero di beccate totali (verso la sfera rossa e la sfera blu).
- Velocità di Beccata = numero medio di beccate diviso il tempo intercorso fra la prima e l'ultima beccata.

Analisi statistica

I dati sono stati sottoposti al test non parametrico di Kruskal-Wallis quindi, in caso di differenze significative, ad U test di Mann-Whitney. I pulcini che non avevano beccato la pallina trattata durante il periodo di learning, sono stati eliminati dall'analisi. Tutti i tempi di latenza sono stati trasformati in valori inversi considerando l'assenza di beccata come latenza infinita, quindi, 1/infinito = 0.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Contenuto in acidi grassi di alcuni alimenti presenti nella dieta dei fagiani

Poiché gli alimenti utilizzati dai fagiani nel periodo primaverile sono rappresentati sia da alimenti vegetali (erba, foglie, radici, semi) che da alimenti animali (in massima parte insetti, chiocciole e anellidi) ed il contenuto in acidi grassi degli alimenti vegetali è ridotto seppur ricco in grassi poli insaturi, in questa fase preliminare ci siamo limitati alla raccolta di alcuni degli alimenti di origine animale più facilmente reperibili dall'avifauna durante la primavera (larve di formica, formiche adulte, afidi, coleotteri, emitteri e chiocciole).

I risultati dell'analisi (Tab. III) hanno confermato che la composizione acidica di questi particolari alimenti è alquanto ricca di acidi grassi poli insaturi (Gilbert, 1967; Novelli & Bracchi, 2000) e, conseguentemente, l'alimento che gli uccelli selvatici utilizzano in natura può discostarsi molto da quello che normalmente viene utilizzato dagli stessi animali negli allevamenti, dove ricevono mangimi sbriciolati o pellettati quasi sempre grassati con sego bovino o comunque con miscele di oli e grassi saturi (Berardelli e coll., 1987).

Comportamento dei pulcini nati da riproduttori alimentati con diete differenziate per il contenuto in acidi grassi della serie ω–3

Per ottenere l'uniformità genetica sperimentalmente necessaria per poter operare in condizioni di uniformità su un ristretto numero di soggetti in questa prima fase non abbiamo utilizzato pulcini di avifauna ma abbiamo scelto pulcini di *gallus gallus* che, per la loro omogeneità genetica, meglio si prestano ad evidenziare anche piccole variazioni nella capacità di apprendimento indotta da variazioni della dieta nei riproduttori.

Tab. III. Analisi chimica di alcuni alimenti naturali utilizzati dai fagiani nel periodo primaverile-estivo.

	Afidi	Formiche *Formicidae spp*		Rhynchoti	Chiocciole	Larve di Lepidottero
	Aphis spp.	larve	Femmine sterili Adulte	*Nazara viridula L*	*Helix pomatia*	*Pieris brassicae*
Umidità	68,9	71,4	66,8	66,8	79,9	66,5
Estratto etereo	~~31,1~~ 32,5	~~28,6~~ 18,4	~~33,2~~ 4,9	~~33,2~~ 15,3	~~20,2~~ 0,7	~~33,5~~ 15,9
C14:0	42,7	1,7	4,0	0,8	0,4	1,0
C14:1	3,1	0,1	0,5		0,2	0,0
C16:0	30,2	8,1	28,4	10,8	10,3	18,0
C16:1	1,6	1,0	6,2	0,9	0,4	2,1
C18:0	2,4	3,8	3,8	9,9	14,3	4,9
C18:1	5,0	31,6	53,1	24,6	16,9	22,1
C18:2 ω-6	11,4	40,8	0,8	31,8	20,4	14,3
C18:3 ω-3	2,1	3,9	2,1	18,4	1,7	33,7
C20:2 ω-6	0,5	0,8	0,3	1,4	14,0	0,3
C20:3 ω-6	1,0	2,2	0,4	0,7	1,2	2,1
C20:4 ω-6	0,2	3,4	0,2	0,3	17,4	1,0
C20:5 ω-3	0,1	2,6	0,2	0,5	2,9	0,5
Σ Saturi	75,2	13,6	36,2	21,5	25,1	23,9
Σ Monoinsaturi	9,6	32,7	59,8	25,5	17,4	24,2
Σ Polinsaturi ω-3	2,2	6,5	2,3	18,9	4,5	34,2
Σ Polinsaturi ω-6	13,1	47,2	1,7	34,2	53,0	17,7
Σ Polinsaturi	15,2	53,7	4,0	53,1	57,5	51,9

Nota: gli acidi grassi sono espressi come percentuale del loro totale

I risultati del test comportamentale hanno permesso di determinare la capacità dei pulcini di associare le caratteristiche dello stimolo con il suo sapore e quindi la capacità di discernere tra stimolo positivo e stimolo negativo (la sostanza dal cattivo sapore, il metilantranilato, posta sulla pallina rossa alla seconda presentazione).

In particolare è stato osservato quanto segue relativamente ai diversi parametri misurati:

1. *Numero di Beccate.* Dall'analisi del numero totale di beccate nelle fasi antecedenti la presentazione dello stimolo negativo (sfera rossa intinta nel metilantranilato), i pulcini hanno mostrato una certa

preferenza verso il colore rosso (Tab. IV) in quanto gli uccelli riescono a vedere molto meglio questo colore e normalmente lo preferiscono ad altri (Okano, 1995). Successivamente, dopo aver beccato la sfera rossa intinta nel metilantranilato, la preferenza si è nettamente spostata verso il colore non rosso (blu). Non è stata però riscontrata alcuna differenza significativa tra i dati riportati dai differenti gruppi.

2. *Tempo di Latenza.* il tempo di latenza verso il rosso è più basso rispetto a quello verso il blu nelle fasi pre-metilantranilato. Successivamente, dopo il metilantranilato, tutti i pulcini mostrano un'inversione di tendenza ($p<0,05$). Va rilevato però che il tempo di latenza relativo verso la pallina rossa aumenta significativamente ($p<0,05$). dopo il metilantranilato in tutte le tesi sperimentali (PO, FO e AO) (Fig. 1).

3. *Rapporto di Discriminazione.* Questo valore viene preso come misura della capacità di apprendimento (Andrew, 1991). Un valore di DR uguale a 0,5 significa che l'animale non mostra alcuna preferenza verso uno dei due colori. Un valore prossimo allo 0 indica, una totale preferenza verso il rosso e un valore prossimo a 1 indica una totale preferenza verso il blu. La preferenza verso il colore rosso durante le prime fasi è stata chiaramente confermata dal rapporto di discriminazione che ha sempre mostrato valori significativamente minori di 0,5, da 0.33 a 0,45 (Fig. 2).

Dopo aver beccato il metilantranilato, i pulcini evitano maggiormente la sfera rossa: il DR rispetto alla sfera di colore blu è molto alto e mostra una chiara preferenza verso quest'ultima ($p<0,01$). Le diete PO e FO mostrano un DR rispettivamente di 0.83 e 0.82, significativamente superiore a quello rilevato per CO ma anche ad AO. Ciò sembra indicare un aumento della capacità di apprendimento. In ogni caso è bene notare che dopo aver beccato il metilantranilato, i pulcini che si sono rifiutati di beccare sia il rosso sia il blu sono stati molto numerosi (Fig. 3). Questo potrebbe far supporre che molti pulcini associno il cattivo sapore della fonte di stimolo negativo alla forma sferica piuttosto che al colore delle sfere. Dall'esame della figura si può facilmente notare come il maggior numero di rifiuti totali si siano avuti nei gruppi CO ed PO, mentre il gruppo FO e AO presentano una percentuale di rifiuti più bassa.

Tab. IV. Numero medio di beccate per ciascun gruppo di pulcini durante le varie fasi del test.

	Sfera cromata (2mm ∅)		Sfera rossa (4mm ∅)			Sfera blu (4mm ∅)	
Tesi	**Pre-training 1**	**Pre-training 2**	**Pre-training 3**	**Training**	**Test 1**	**Pre-training 4**	**Test 2**
CO	7,9	4,5	2,7	1,3	0,3	1,6	1,6
PO	9,7	7,2	3,7	1,8	0,8	4,3	3,4
FO	7,1	4,1	2,4	2,0	0,8	2,7	2,6
AO	8,8	5,1	3,4	1,9	1,0	2,7	2,6
TOTALE	8,4	5,2	3,0	1,7	0,7	2,8	2,5

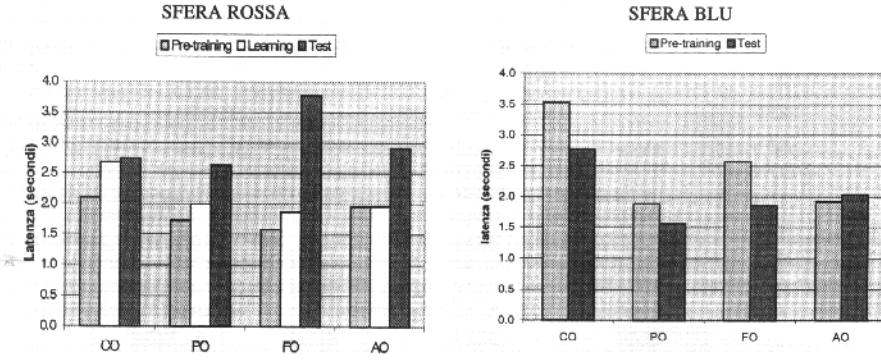

Fig. 1. Tempo di latenza verso le sfere rosse e blu rilevato nelle diverse fasi del test.

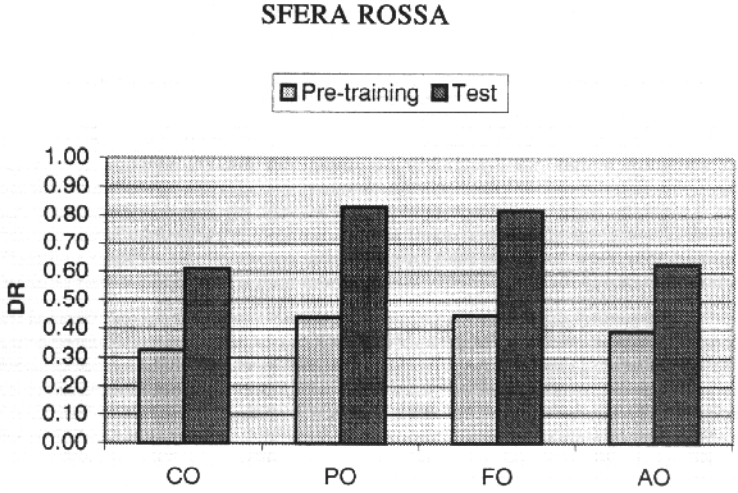

Fig. 2. Rapporto di discriminazione rilevato prima e dopo la presentazione della sfera trattata con il metilantranilato.

4. *Velocità di Beccata.* L'analisi della velocità di beccata (Fig. 4), conferma quanto emerso finora. È ben evidente come questo valore, che abbiamo utilizzato per poter valutare una preferenza assoluta di colore a prescindere dal tempo di latenza, subisca, per il colore rosso, un continuo decremento durante l'intera durata del PAL. Una riduzione molto meno accentuata si nota nei confronti del blu. Anche dall'analisi della velocità di beccata, vediamo che i pulcini mostrano una netta riduzione della preferenza verso il colore rosso dopo aver provato il metil antranilato, mentre la preferenza verso il blu sembrereb-

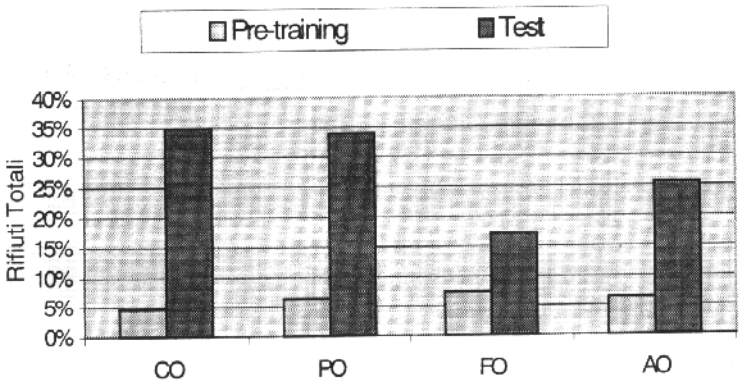

Fig. 3. Percentuale dei pulcini che non hanno beccato nessuna delle due sfere.

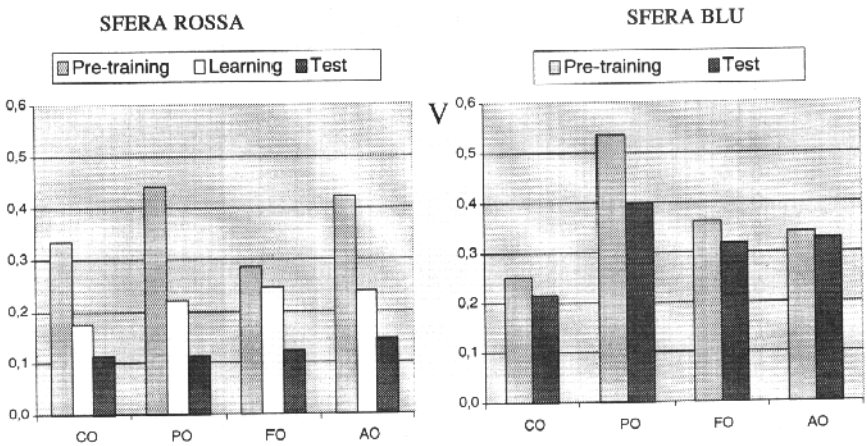

Fig. 4. Velocità di beccata verso le sfere rosse e blu rilevata nelle diverse fasi del test.

be più o meno la stessa. Nessuna differenza scientificamente valida si evidenzia però fra le tesi sperimentali.

CONCLUSIONI

Il presente studio preliminare ha evidenziato come il contenuto di acidi grassi poliinsaturi possa essere molto diverso nell'alimentazione naturale e nell'alimentazione industriale delle specie aviarie di inte-

resse faunistico-venatorio. La variazione del contenuto in acidi grassi poliinsaturi nella dieta dei riproduttori avicoli sembra poter modificare la capacità di apprendimento dei pulcini di un giorno, schiusi dalle uova deposte da tali riproduttori.

I risultati dello studio preliminare, condotto su pulcini di *Gallus gallus,* per l'opportunità di uniformità genetica sperimentale, sono quindi di particolare interesse e indicano l'opportunità di proseguire gli studi di questo particolare aspetto dell'alimentazione dell'avifauna allevata, al fine di meglio conoscere la composizione acidica degli alimenti utilizzati dai riproduttori in natura e di studiare l'effetto che la diversa formulazione acidica della dieta dei riproduttori di allevamento può avere sulla capacità di apprendimento e di adattamento dei giovani nati destinati alla liberazione.

BIBLIOGRAFIA

ANDREW R.I. (1991). Neural and behavior plasticity: the use of domestic chiks as a model. Chapter one. Oxford: University Press.

BAGLIACCA M., CALZOLARI G., MARZONI M., SANTILLI F., FOLLIERO M., MANI P. (1998). Effetto del contenuto di fibra nella dieta di accrescimento sulla sopravvivenza dei fagiani da ripopolamento. Atti LII Cong. SIS Vet, Silvi Marina (TE): 511-512.

BERARDELLI C., BENASSI M.C., GUBBELLINI M. (1987). Indagine sulle caratteristiche dei mangimi commerciali per volatili di interesse faunistico venatorio. Riv. di Avicoltura, 56: 29-36.

CHERIAM G., SIM J.S. (1991). Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of egg, embryos and newly hatched chicks. Poultry Sci., 70: 917-922.

CHERIAN G., SIM J.S. (1992). Preferential accumulation of n-3 fatty acids in the brain of chicks from eggs enriched with n-3 fatty acids. Poultry Sci., 71: 1658-1668.

CHERIAN G., SIM J.S. (1997). Egg yolk polyunsaturated fatty acids and vitamin E content alters the tocopherol status of hatched chicks. Poultry Sci., 76: 1753-1759.

EWING R.W. (1963). Poultry Nutrition. Pasadena CA: Hoffman-LaRoche Inc. Editors.

GHILBERT I.L. (1967). Advances in insect physiology. Vol. 4. London-NewYork: Academic Press.

HILL D., ROBERTSON P. (1988). The pheasant: ecology, management and conservation. Oxford: BSP Professional books.

LACHLAN C., BRAY R.P. (1973). A study of an unmanaged pheasant population at Brownsea Island. Dorset, England Actes du X Congres Union International des Biologistes du Gibier: 609-615.

MARPLES N.M., ROPER T.J. (1997). Response of domestic chicks to Methyl anthranilate odour. Anim. Behav., 53: 1263-1270.

MELUZZI A., TALLARICO N., SIRRI F., FRANCHINI A. (1998a). Arricchimento delle uova con acidi grassi n-3. Riv. di Avicoltura, 67 (5): 28-34.

MELUZZI A., TALLARICO N., SIRRI F., FRANCHINI A. (1998b). PUFA n-3, effetti su produzione e qualità dell'uovo. Arricchimento delle uova con acidi grassi n-3. Riv. di Avicoltura, 67 (5): 34-37.

NEURINGER, M., ANDERSON, G.J., CONNOR, W.E. (1988). The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. Annual Review of Nutrition, 8:517-541.

NOVELLI E., BRACCHI P.G. (2000). Indagine sul valore nutrizionale delle lumache. Confronto fra specie raccolte in natura e allevate. Elicicoltura, (53) 3: 1-5.

OKANO T., FUKADA Y., YASHIZAWA, T. (1995). Molecular basis for tetrachromatic color vision. Comp. Biochem. Physiol., 112B, 405-414.

SPEAKE B.K., NOBLE R.C., MURRAY A.M.B. (1998). The utilization of yolk lipids by the chick embryo. World's Poultry Science J., 50: 319-333.

WISEMAN J. (1984). Fats in animal nutrition. London: Butterwoths.