

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

***Baccharis dracunculifolia* NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

EVERTON MORENO MURO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP  
Janeiro, 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

***Baccharis dracunculifolia* NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

EVERTON MORENO MURO  
*Zootecnista*

Orientador: Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato  
Co-orientador: Dr. Vitor Barbosa Fascina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP  
Janeiro, 2015

Do fundo desta noite que persiste  
A me envolver em breu - eterno e espesso,  
A qualquer deus - se algum acaso existe,  
Por mi' alma insubjugável agradeço.

Nas garras do destino e seus estragos,  
Sob os golpes que o acaso atira e acerta,  
Nunca me lamentei - e ainda trago  
Minha cabeça - embora em sangue - ereta.

Além deste oceano de lamúria,  
Somente o Horror das trevas se divisa;  
Porém o tempo, a consumir-se em fúria,  
Não me amedronta, nem me martiriza.

Por ser estreita a senda - eu não declino,  
Nem por pesada a mão que o mundo espalma;  
Eu sou dono e senhor de meu destino;  
Eu sou o comandante de minha alma.

*Invictus*

William Ernest Henley

*Dedico*

À minha mãe, Maria Aparecida Moreno, pelo apoio incondicional e encorajamento no dia-a-dia.

*Ofereço*

Ao meu irmão, Evandro Moreno Muro, e meu pai, Aloisio Martins Muro, pela amizade e compreensão desde sempre e pelo apoio e incentivo aos meus projetos.

Aos meus avós, Hilda Maria Moreno e Aparecido Moreno Ocete, pela base de formação de caráter que baliza minhas decisões, exemplos de honestidade e humildade.

À minha namorada, Ana Carolina Batista Bolfarini, pelo carinho, amor, paciência, companheirismo e tempo dedicados a nós.

### **Agradecimentos Especiais**

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, pela confiança depositadas em mim e ao meu projeto, pela dedicação, paciência, competência e pelos ensinamentos durante a execução dos experimentos e convívio no dia-a-dia.

Ao prof. Dr. José Roberto Sartori, pela dedicação, sugestões, ensinamentos e pela amizade em todos esses anos de Laboratório de Nutrição de Aves.

Ao meu co-orientador e grande amigo Dr. Vitor Barbosa Fascina, o Vitão, pela dedicação a estes experimentos como se fossem próprios, pelos muitos anos de amizade e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo dados.

### **Agradecimentos**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão das bolsas de estudo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, todos os seus funcionários e professores, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado, e pelo esforço e dedicação à excelência na formação de seus alunos.

À Ciclofarma Indústria Química pela parceria e interesse em minha pesquisa, pelo auxílio financeiro à condução do projeto e doação de insumos.

Aos pesquisadores e funcionários da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Regional de Brotas, Érika Saldanha e Nilson, pela oportunidade de parceria e ajuda fundamental na condução do primeiro experimento deste Mestrado.

Aos professores do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e Departamento de Produção Animal por gentilmente compartilharem seu conhecimento, colaborando assim para a devida execução dessa pesquisa.

Aos professores do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais pela colaboração no enriquecimento deste trabalho, e aos funcionários e pós-graduandos pela orientação e auxílio nas análises isotópicas.

Ao professor Dr. Roberto de Oliveira Roça e à pós-graduanda e amiga Carolina Toledo Santos pela colaboração e auxílio fundamentais à preparação de amostras;

Aos amigos e funcionários da Fábrica de Rações da FMVZ pelo serviço fundamental à execução do projeto;

À toda a equipe de pós-graduandos e estagiários do Laboratório de Nutrição de Aves: Guilherme Aguiar, Mônica Megumi, Amanda Lapa, Natani Cruz, Juliana Rezende, Paola Serpa, Francine Vercese, Ivan Mailinch, Jéssica Russo e Mariana Maruno pela ajuda e amizade inestimável, pela confiança no meu trabalho, bem como por sua dedicação à realização deste projeto e pela paciência nos momentos difíceis de coletas.

Ao querido amigo de tantos anos e funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves, Vanderlei Thiago da Silva, que me acompanha desde a época de estagiário com alegria, palavras e opiniões fortes e sinceras.

Aos queridos amigos e companheiros de república, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho (*Revoltado*), Letícia Rocha Inamassu (*Purê*), João Fernando Albers Koch (*Johnny*), Felipe Tenório Cintra (*Bahia*) e Negão, pela amizade insubstituível, momentos de descontração e de compartilhamento de ideias.

Às amigas de pós-graduação, Daniella Aparecida Berto (*Amapô*), pelo exemplo de humildade e suavidade na liderança, Nathália Martins Guerra Causso (*Mc*) e Janaína Matias (*Xaninha*) pela amizade e carinho; à todas pela ajuda em momentos difíceis da vida, dos experimentos e pelo incentivo quando tudo parecia mais difícil.

Aos queridos amigos de Santo André que, mesmo à distância, sempre apoiaram minhas decisões nestes quase dez anos de ausência.

À todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente a este trabalho e injustamente foram esquecidos neste momento.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	2
1. Introdução.....	2
2. Revisão Bibliográfica .....	5
2.1. Morfologia intestinal e absorção.....	5
2.2. Microbiota intestinal e sua regulação .....	7
2.3. Aditivos Fitogênicos .....	9
2.3.1. Fatores que afetam os metabólitos secundário das plantas .....	13
2.3.2. <i>Baccharis dracunculifolia</i> .....	14
3. Justificativa e Objetivo .....	19
4. Referências Bibliográficas.....	22
<b>CAPÍTULO II</b> .....	30
<i>Baccharis dracunculifolia</i> NA LAIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE.....	31
Resumo .....	31
Abstract.....	32
1. INTRODUÇÃO.....	33
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1. Experimento I .....	35
2.1.1. Variáveis Analisadas .....	37

2.1.1.1. Desempenho .....	37
2.1.1.2. Títulos de Anticorpos Contra Doença de NewCastle .....	37
2.1.1.3. Peso Relativo de Órgãos .....	37
2.1.1.4. Histomorfometria de Intestino .....	37
2.1.1.5. Histomorfometria da bursa de Fabrícus .....	37
2.1.2. Análise Estatística .....	39
2.2. Experimento II .....	39
2.2.1. Análise dos Dados .....	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
3.1. Experimento I .....	45
3.2. Experimento II .....	54
4. CONCLUSÃO .....	68
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	70
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>74</b>
1. Implicações.....	75



## LISTA DE FIGURAS

**CAPÍTULO II – *Baccharis dracunculifolia* NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

- Figura 1.** Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade.....56
- Figura 2.** Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade.....58
- Figura 3.** Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade. ....60
- Figura 4.** Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade. ....62
- Figura 5.** Curvas de crescimento exponencial de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade. ....64
- Figura 6.** Curvas de crescimento exponencial de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade. ....65

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – *Baccharis dracunculifolia* na alimentação de frangos de corte

<b>Tabela 1.</b> Composição centesimais e nutricionais das dietas experimentais. ....	36
<b>Tabela 2.</b> Composição centesimais e nutricionais das dietas experimentais. ....	41
<b>Tabela 3.</b> Distribuição dos grupos experimentais. ....	42
<b>Tabela 4.</b> Desempenho de frangos de corte recebendo dietas contendo diferentes níveis extrato hidroalcoólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> e AMD. ....	46
<b>Tabela 5.</b> Peso relativo de órgãos <sup>1</sup> (%) de frangos de corte recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> aos 21 e 42 dias de idade. ....	50
<b>Tabela 6.</b> Percentual de área de cortical da Bursa de Fabrícus e valores de títulos de anticorpos (Ac) de frangos de corte vacinados contra o vírus da Doença de NewCastle, (expresso em Log <sub>2</sub> ) recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> aos 21 e 42 dias de idade.....	51
<b>Tabela 7.</b> Altura das vilosidades (AV), profundidade de cripta (PC) e relação vilosidade/cripta (VC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 21 dias de idade. ....	53
<b>Tabela 8.</b> Altura das vilosidades (AV), profundidade de cripta (PC) e relação vilosidade/cripta (VC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade. ....	54
<b>Tabela 9.</b> Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 0 a 21 dias na mucosa intestinal de frangos de corte. ....	55
<b>Tabela 10.</b> Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 21 a 49 dias na mucosa intestinal de frangos de corte. ....	57

<b>Tabela 11.</b> Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 0 a 21 dias no fígado de frangos de corte. ....	59
<b>Tabela 12.</b> Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 21 a 49 dias no fígado de frangos de corte.....	61
<b>Tabela 13.</b> Constantes de turnover tecidual ( $k + m$ ), taxa de crescimento ( $k$ ) e taxa metabólica ( $m$ ) do Carbono-13 na mucosa intestinal de frangos de corte em diferentes fases de crescimento e recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> . ....	66
<b>Tabela 14.</b> Constantes de turnover tecidual ( $k + m$ ), taxa de crescimento ( $k$ ) e taxa metabólica ( $m$ ) do Carbono-13 no fígado de frangos de corte em diferentes fases de crescimento e recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de <i>Baccharis dracunculifolia</i> . ....	66

## CAPÍTULO I

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### 1. Introdução

O Brasil figura entre os maiores produtores mundiais de carne de frango, com a terceira colocação, atrás de Estados Unidos e China, em 2013, segundo a União Brasileira de Avicultura, a produção da carne de frangos em 2013 chegou a 12,30 milhões de toneladas e o consumo per capita de carne de frango foi de 41,8 quilogramas por pessoa (UBA, 2014), números que, embora menores que dos dois anos anteriores, ainda mantém a boa colocação do país no cenário avícola mundial com a primeira colocação entre os exportadores, embarcando 3,918 milhões de toneladas, à frente de Estados Unidos e dos países que compõe a União Europeia, para mercados tão diversificados e exigentes quanto Oriente Médio, Ásia e Europa. Vale ressaltar que, em 2014, o Brasil completa uma década à frente da liderança nas exportações, cenário que deve se manter, uma vez que novas fronteiras de mercado se abrem ao país, como a China (UBA, 2014).

Esse crescimento expressivo do setor avícola nos últimos anos se deu, sobretudo, pela maior abrangência no mercado internacional. A evolução na produtividade e no processo agroindustrial, determinados pelos avanços na genética, manejo, nutrição, sanidade e instalações, possibilitaram redução do custo de produção e melhoria na qualidade do produto final. A manutenção dos resultados comerciais da atividade no país se deve principalmente pela sua competitividade econômica, qualidade e adaptabilidade as mais diversas exigências do mercado consumidor.

Atualmente, devido ao rápido desenvolvimento das linhagens comerciais as aves são mais susceptíveis a distúrbios entéricos que as criadas nas décadas de 70 e 80. Patógenos causadores das enfermidades têm aumentado a preocupação da indústria, devido à perda de produtividade, aumento da mortalidade e contaminação de produtos destinados ao consumo humano. Do ponto de vista nutricional e sanitário, a utilização de antibióticos como

melhoradores de desempenho (AMD), utilizados frequentemente nos últimos 60 anos, impedem o desenvolvimento de doenças e maximizam o desempenho animal.

Estudos indicam que os AMD proporcionam diminuição do número de bactérias patogênicas aderidas à mucosa intestinal reduzindo a competição por nutrientes com o hospedeiro, diminuem toxinas e amônia produzidas por estes patógenos, melhoram a absorção dos nutrientes, e conseqüentemente promovem diminuição das células inflamatórias na parede intestinal e da renovação das vilosidades intestinais (ARMSTRONG, 1986; HENRY *et al.*, 1987; IZAT; THOMAS; ADAMS, 1989).

Porém, alguns mercados consumidores internacionais têm limitado o uso destes antimicrobianos a partir da década de 1990, alguns mercados como, por exemplo, a União Europeia, baniram o uso de qualquer antimicrobiano como melhorador de desempenho na produção animal, sendo permitida a utilização de antibióticos e quimioterápicos somente com finalidade curativa a partir de 2006 (COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2003).

Como justificativa, são alegados riscos para saúde humana pela presença de resíduos destes nos produtos de origem animal, e por possível indução de resistência bacteriana.

O surgimento de algumas linhagens bacterianas mais resistentes aos antibióticos de uso humano, decorrentes, possivelmente, de resistência cruzada, alertou, principalmente, países da Comunidade Europeia e, culminou no banimento de AMD na alimentação animal (DORMAN; DEANS, 2000) forçando as indústrias a intensificarem pesquisas por produtos alternativos, principalmente aqueles obtidos de fontes consideradas naturais.

Existem vários indícios de que o uso rotineiro de AMD em rações de animais de produção pode diminuir a capacidade destas drogas de curar infecções em pessoas e animais, pois essa prática pode ser responsável pela emergência e manutenção de bactérias patogênicas multirresistentes aos antibióticos (MANIE *et al.*, 1998; GRADY, 1999).

Um exemplo claro é a bactéria *Escherichia coli*, considerada saprófita da flora intestinal de bovinos e aves, como uma população dinâmica, observando-se, ultimamente, uma contínua renovação da população por tipos cada vez mais resistentes, inclusive a antibióticos, havendo uma troca da microbiota original por cepas de resistência múltipla (HINTON; HEDGES; LINTON, 1985).

Um dos maiores desafios para profissionais envolvidos na cadeia avícola é adequar o sistema produtivo à não utilização dos tradicionais AMD e, desde então, diversas alternativas aos antimicrobianos têm sido estudadas. Tais alternativas incluem probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas e extratos de plantas.

Atualmente, a busca por aditivos alternativos aos AMD, tem se voltado não apenas ao efeito antimicrobiano que estes proporcionam, mas também aos efeitos imunoestimulante, antioxidantes e estimulantes de enzimas que produtos extraídos de plantas possam proporcionar. Esses produtos ainda buscam atender à demanda de qualidade de mercados internacionais, proporcionar segurança alimentar com respeito ao meio ambiente, permitindo a continuidade ao destaque do Brasil em produção, exportação e conquista de novos investidores.

Os altos níveis zootécnicos na produção de frangos dependem, dentre outros fatores, diretamente do sistema imune. Estando o sistema imune ativo e desenvolvido, o animal apresenta melhores defesas contra patógenos aos quais estão expostos diariamente; portanto, é de extrema importância que este sistema esteja atuando de forma adequada e eficiente para impossibilitar a introdução de doenças no organismo da ave e, conseqüentemente, impedir a diminuição do desempenho produtivo (MORGULIS, 2002).

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1. Morfologia intestinal e absorção**

O desempenho zootécnico ótimo das aves depende da capacidade de digestão e absorção adequada de todos os nutrientes da dieta. Para tal, o sistema digestório deve apresentar características estruturais que possibilitem não somente a ingestão, mas a passagem correta do alimento pelo trato para que ocorram as alterações físicas e químicas necessárias para a absorção dos produtos da digestão. Além disso, o epitélio intestinal atua como uma barreira contra agentes patogênicos presentes no lúmen intestinal e é importante para prevenção e controle de enfermidades entéricas (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002).

O intestino das aves é representado por duas partes distintas: o intestino delgado, que é composto por três segmentos (duodeno, jejuno e íleo), os quais apresentam diferenças funcionais e morfológicas e o intestino grosso que é relativamente pequeno nas aves e compreende os cecos, cólon e cloaca. Os processos de absorção de nutrientes são totalmente dependentes dos mecanismos e reações da mucosa intestinal, de maneira que a integridade dos enterócitos é fundamental para a absorção dos mesmos (MACARI; FURLAN, 2005).

A maioria dos processos digestivos e de absorção ocorre no intestino delgado. A quebra das moléculas se faz no lúmen do intestino devido à ação de enzimas digestivas. Entretanto, parte da digestão ocorre na superfície das vilosidades, que são formadas por enterócitos, e pela ação das enzimas de membrana (BOARO, 2009). Os vilos são constituídos por três tipos de células, morfológica e funcionalmente distintas: enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas. Os enterócitos são células que respondem pela digestão final do alimento e pelo transporte transepitelial dos nutrientes provenientes do lúmen. O processo de maturação e diferenciação destas células ocorre durante o processo de migração da cripta (base) para o ápice do vilos, e é dependente de estímulos variados (BOARO, 2009).



O tamanho dos vilos depende do número de células que o compõem. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilos, e conseqüentemente, maior a área de absorção de nutrientes. Porém, a absorção somente se efetivará quando houver integridade funcional das células formadoras dos vilos, tanto na membrana luminal quanto na membrana basolateral. A quantidade de microvilos existente na membrana dos enterócitos ainda é relevante para a eficiência da absorção de nutrientes, uma vez que eles atuam ampliando a área de absorção de nutrientes, e são projeções membrana luminal do enterócitos (BOARO, 2009).

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, processo que decorre primariamente de dois eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas nas criptas e ao longo dos vilos, e perdas de células, que ocorre normalmente no ápice dos vilos (UNI; PLATIN; SKLAN, 1998; MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2002; BOARO, 2009).

O equilíbrio entre esses dois processos determina um *turnover* (proliferação - migração - extrusão) constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos. Se algum agente estressor provoca reação da mucosa intestinal e desbalanço nesse equilíbrio ocorrem modificações na altura dos vilos. Assim, se ocorrer aumento na taxa de proliferação (mitose) com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá haver aumento no número de células e, conseqüentemente, aumento na altura dos vilos. Se o estímulo levar ao aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição da taxa de proliferação, o intestino deverá responder com uma redução na altura dos vilos. O desenvolvimento da mucosa intestinal depende ainda da ação de fatores tróficos e de reguladores hormonais (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2002; BOARO, 2009).

O comprimento e o diâmetro do intestino variam de acordo com diversos fatores, tais como, o tipo de dieta, a presença de aditivo alimentar ou promotor de crescimento adicionado

à ração e ainda à presença de microbiota bacteriana, incidência de doenças entéricas e intensidade de desenvolvimento corporal na fase inicial até 14 dias de idade (ITO *et al.*, 2004).

Nos estudos realizados por Van Leeuwen *et al.* (2004) sobre as características morfológicas da mucosa do intestino delgado em frangos, ainda foi demonstrado que a orientação das vilosidades difere nos diversos segmentos intestinais devido à idade, presença de aditivos na dieta e microbiota do intestino, e que isso afeta o desempenho zootécnico do frango de corte.

O adequado ganho de peso por parte das aves está diretamente relacionado com a nutrição das mesmas, sendo imprescindível que se estabeleçam critérios de manejo que mantenham a integridade dos diferentes tipos celulares que compõem e caracterizam os órgãos do sistema digestório e o controle das enfermidades entéricas que diminuem a eficiência do sistema em questão (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002). Bem como prezar por dietas de qualidade que não proporcionem aumento na extrusão de células da mucosa por ação irritante e com aditivos que permitam desenvolvimento adequado ou estímulo à proliferação celular no intestino.

## **2.2. Microbiota intestinal e sua regulação**

A manutenção da integridade do trato gastrointestinal não só proporciona desenvolvimento e desempenho ótimo dos animais mas também impede a fixação e multiplicação de agentes patogênicos na mucosa intestinal, prevenindo desta forma o desenvolvimento de distúrbios entéricos e, conseqüentemente, melhorando o desempenho, diminuindo a mortalidade e a contaminação dos produtos de origem animal (EDENS, 2003).

A microbiota intestinal também possui grande importância no desenvolvimento das aves, ela aumenta a resistência à instalação de patógenos intestinais e contribui para maior absorção de nutrientes no intestino delgado.

Antes da eclosão, o trato gastrointestinal das aves apresenta pequena quantidade de bactérias da microbiota (FULLER, 1992). Após a eclosão, o trato é rapidamente colonizado por microrganismos anaeróbios facultativos, particularmente coliformes e estreptococos. Nos primeiros sete dias de vida, o trato gastrointestinal apresenta desenvolvimento alométrico cinco vezes maior que o resto do corpo com aumento do comprimento das microvilosidades e do número de enterócitos, evidenciando assim forte correlação entre o crescimento do trato gastrointestinal e a taxa de crescimento da ave (NITSAN; DUNNUNGTTON; SIEGEL, 1991).

O ecossistema intestinal possui comunidades com grande diversidade de bactérias que influenciam o hospedeiro (RUTZ *et al.*, 2006). A microbiota intestinal promove maturação dos enterócitos, possui efeito benéfico na manutenção da integridade intestinal e age de maneira antagônica contra patógenos por exclusão competitiva e efeito imunomodulador (LAN *et al.*, 2005). Além disso, a regulação fisiológica da microbiota se torna importante devido à prevenção dos efeitos patológicos de bactérias indesejáveis.

Os fatores responsáveis pela regulação da microflora intestinal, segundo Dionízio (2007), são: as secreções normais de ácido clorídrico, que causam destruição dos microrganismos, prevenindo a colonização no trato digestivo posterior; o peristaltismo intestinal impedindo que os microrganismos multipliquem em determinadas regiões do trato gastrointestinal; a camada de células e mucopolissacarídeos e imunoglobulinas, denominada de barreira mucosa, que impede a invasão e aderência das bactérias patogênicas na parede intestinal; a presença de imunoglobulina A (IgA) responsável pela eliminação de patógenos específicos; a influência da dieta na colonização de bactérias intestinais; os agentes antibacterianos de origem endógena como os ácidos biliares que possuem capacidade de inibir crescimento bacteriano e, os agentes exógenos como os AMD e demais aditivos alternativos.

### 2.3. Aditivos Fitogênicos

A pressão das indústrias químicas, que ganharam grande importância pela síntese de substâncias de alta pureza, tem reprimido o uso da fitomedicina por anos. Entretanto a busca por tratamentos alternativos, de menor agressividade, e a possível seleção de bactérias resistentes a diversos tipos de antibióticos tem trazido forte tendência do retorno desta área da medicina.

Existem diferentes princípios ativos nas plantas com características medicinais. Estes são moléculas de baixo peso molecular provenientes de metabolismo secundário das plantas. Dentre eles estão: glicosídeos, compostos fenólicos que são responsáveis pelas propriedades antibacterianas; hidrocarbonos; substâncias sulfurosas; terpenos que se dividem em monoterpenos (carvacrol, timol, mentol), sesquiterpenos e di e triterpenos; compostos polifenólicos como quinonas, flavonas taninos e cumarinas; saponinas; flavanóides e mucilagens (MARTINS *et al.*, 2000; WENDLER, 2006).

Aos compostos ativos de plantas, presentes em extratos e/ou óleos essenciais, têm sido atribuídos efeitos de inibição da síntese de colesterol, diminuição da pressão arterial e prevenção de coagulação sanguínea (UHL, 2000). Os flavanóides presentes em algumas ervas, podem ser liberados quando em contato com água quente, possuem propriedades antioxidantes e imunoestimulantes (XIAO; BAO; HU, 2009). Segundo Ceylan e Fung (2004), os extratos vegetais possuem outras atividades biológicas como inseticida, anti-helmíntica, antiviral, antifúngica, antimicrobiana, além de atuarem como anticoccidianos.

A maioria das substâncias fenólicas presentes em grande quantidade nos extratos de plantas pode ser classificada em dois principais grupos: os ácidos carboxílicos fenólicos e os flavonoides, sendo os flavonoides derivados do 2-fenil-benzopireno e classificados como o grupo mais importante (BITSCH, 1996) e os principais subgrupos são as catequinas e proantocianidinas, as antocianidinas e os flavonóis ou flavonas (HERRMANN, 1994). Alguns

componentes da classe dos flavonoides que ocorrem em gêneros alimentícios, como as antocianinas (uva, vinho, cerejas e casca de berinjela), flavonóis (cebola, brócolis, couve, casca de maçã, chá e uvas), flavonas (limões, azeitona, aipo, pimentão vermelho e salsa) e flavanonas (frutas cítricas e pele de tomate) possuem atividade antioxidante (RICE-EVANS; NICHOLAS; PAGANGA, 1996; HOLLMAN; KATAN, 1997).

Vários flavonoides isolados de diferentes plantas apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* (JENSEN *et al.*, 1998; ALCERITO *et al.*, 2001; PENNA *et al.*, 2001; PANIZZI *et al.*, 2002). Estes possuem capacidade de formar complexos com proteínas solúveis e com a parede celular das bactérias, além disso, flavonóides polimetoxilados podem romper membrana microbiana (COWAN, 1999) e, exibir efeito inibitório contra diversos vírus pela indução da produção de interferon gama derivado de linfócitos Th1 pelas células mononucleares do sistema periférico sanguíneo (NAIR *et al.*, 2002).

A ação dos aditivos fitogênicos pode ocorrer, não só diretamente sobre os microrganismos, mas também estimulando o organismo a aumentar suas defesas contra esses patógenos, com maior atividade de macrófagos e imunoglobulinas. A *Momordica cochinchinensis*, planta originária da China aumenta a concentração de imunoglobulina G (IgG) contra o vírus da Doença de NewCastle em frangos de corte (XIAO; BAO; HU, 2009). O achyranthan, polissacarídeo de baixo peso molecular, extraído da *Achyranthes bidentata*, planta de origem asiática, aumenta a atividade de macrófagos e a resposta imunológica, aumentando o desenvolvimento da bursa de Fabrícus, sem prejuízos ao desempenho das aves (CHEN *et al.*, 2003).

A *Curcuma longa* L., planta originária da Índia e é utilizada no sistema de medicina tradicional deste país, tem como princípio ativo a curcumina. Srinivasan e Sambaiah (1991), avaliando enzimas retiradas dos tecidos hepáticos de ratos, verificaram que a atividade da enzima colesterol-7-a-hidroxilase, enzima envolvida no metabolismo do colesterol, aumentou

em ratos tratados com curcumina, sendo também potente eliminador de espécies reativas de oxigênio, protegendo a hemoglobina de oxidação induzida por nitrito e inibindo a peroxidação lipídica. Yarru *et al.* (2009), avaliando o efeito da mesma planta sobre a expressão de genes hepáticos associados ao sistema imunológico, e também sobre o sistema antioxidante de frangos de corte desafiados com aflatoxina, observaram melhora no desempenho, peso do fígado e na expressão dos genes que codificam enzimas antioxidantes, a superóxido dismutase hepática, glutathione peroxidase e epóxido hidrolase. Segundo estes autores, a suplementação de cúrcuma nas rações pode prevenir ou reduzir os efeitos deletérios da aflatoxina nas aves. Além disso, a curcumina atua como anti-inflamatório, reduzindo a secreção das enzimas collagenase, elastase e hialuronidase em macrófagos ativados (JOE; LOKESH, 1997).

Um composto polifenólico, encontrado principalmente em sementes de uva, considerado um importante bioativo, exibindo uma forte capacidade antioxidativa em remover oxigênio livre e radicais lipídicos, é o resveratrol (RUBIOLO; VEGA, 2008). O resveratrol mantém a glutathione num estado reduzido, inibindo desse modo o dano celular produzido por radicais livres (HUNG; CHEN; HUANG, 2000). O resveratrol e seus derivados exibem propriedades antioxidantes e antibacterianas, e impede a proliferação de células cancerosas (WOLTER; STEIN, 2002; YANG; MARTINSON; LIU, 2009). Recentemente foi demonstrado que o resveratrol protege o DNA de danos oxidativos (YAN *et al.*, 2012).

Na nutrição animal, a suplementação de resveratrol em dietas de codornas japonesas proporcionou menor concentração de proteína Hsp70 no fígado destas aves (SAHIN *et al.*, 2010), a Hsp70 é amplamente produzida em resposta à hipertermia e estresse oxidativo, essa família de chaperonas tem importante papel na manutenção estrutural das proteínas e, conseqüentemente, na função normal das mesmas. A diminuição na concentração de Hsp70 no fígado é forte indício de manutenção da função normal das células hepáticas.

Liu *et al.* (2014), investigando efeitos da suplementação de resveratrol em dietas de galinhas da linhagem Xuefeng (aves de ossos negros) submetidas ao estresse por calor, observaram que, o aumento dos níveis de resveratrol na dieta (0, 200, 400 ou 600 mg/kg) provocou aumento linear no consumo de ração e peso corporal; aumento nos níveis de glutathione peroxidase sérica, hormônio de crescimento, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; e aumento nas atividades de superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase.

Autores sugerem que aditivos fitogênicos podem estimular a produção de enzimas digestivas e melhorar a utilização dos nutrientes pelos animais (WILLIAMS; LOSA, 2001).

Fascina *et al.* (2012), também verificaram melhora na digestibilidade dos nutrientes da dieta de frangos de corte quando suplementadas com óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, extrato de cúrcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva e ácidos orgânicos isolados ou associados.

Jang *et al.* (2007) relataram maior atividade de tripsina pancreática e maltase intestinal em aves alimentadas com dieta suplementada com óleos essenciais (timol como principal princípio ativo) em relação ao grupo controle e grupo alimentado com dieta contendo AMD, e maior atividade da enzima amilase pancreática em relação ao grupo controle.

A suplementação de dietas de frangos de corte com mistura de óleos essenciais de orégano, canela e pimenta melhorou as características de desempenho e digestibilidade dos nutrientes (GARCÍA *et al.*, 2007).

Devido às propriedades aromáticas, vários aditivos fitogênicos têm potencial para estimular o consumo de ração (ERTAS *et al.*, 2005), porém especula-se que o aumento no consumo possa ser consequência de melhor digestão e não da maior palatabilidade (APPLEGATE *et al.*, 2010).

### 2.3.1. Fatores que afetam os metabólitos secundário das plantas

Para que as substâncias quimicamente ativas das plantas possuam efeitos farmacológicos é necessário que fatores que as influenciam estejam em concordância e contribuam para uma síntese de compostos químicos específicos e de qualidade para efetivar a ação medicinal esperada. Os pontos relevantes são intrínsecos e ambientais (JORGE, 2009).

Segundo Nascimento *et al.* (2008), a variação da disponibilidade hídrica pode influenciar no metabolismo de elementos químicos, no equilíbrio da turgescência e estabilização osmótica

A biodiversidade, complexidade do lençol freático e códigos genéticos interferem na metabolização de ativos químicos produzidos em plantas (FRANÇA *et al.*, 2008).

A quantidade de princípios ativos de plantas pode ser alterada por radiação, temperatura, ventos, precipitação pluviométrica, variação climática, composição do solo, estado de desenvolvimento da planta e agentes estressores físicos. Aspectos adicionais inerentes à qualidade da água como presença de poluentes ou defensivos agrícolas podem influenciar no metabolismo de fármacos nas plantas (LIMA; KAPLAN; CRUZ, 2003).

Os metabólitos secundários responsáveis por atividades farmacológicas podem oscilar ainda segundo a radiação ultravioleta, ritmo circadiano, temperatura, índice pluviométrico, fatores nutricionais, atmosfera e presença de poluentes, ação de predadores e idade da planta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). A cobertura do solo na qual a planta se encontra, enredamento da adubação e o sistema solo-planta-atmosfera formam uma organização que congregam fatores que podem alterar a síntese de alguns ativos (LANNA *et al.*, 2010).

O processo de evaporação, massa volumar da cultura e o sistema de plantio aliado com a fisiologia da planta influenciam no teor de elementos químicos disponibilizados, contudo o fator que mais interfere na saúde das plantas é o potencial hídrico de qualidade. A salinidade no substrato do solo, pH e exposição ao sol no processo de germinação das plantas dificultam



a concentração química (MESQUITA *et al.*, 2006). A variabilidade genética e as condições naturais influem na qualidade da planta (GASPARI-PEZZOPANE *et al.*, 2005). Assim como a sazonalidade, estágio de desenvolvimento, pós-coleta e armazenamento também influenciam na qualidade das gramíneas (MORAIS, 2009). Esses fatores influem diretamente a produção de compostos com ação farmacológica e, conseqüentemente, que podem influenciar o desempenho e saúde dos animais.

### **2.3.2. *Baccharis dracunculifolia***

Dentro desse contexto surgem como alternativa as plantas da família Asteraceae, plantas estas herbáceas ou arbustos (QUEIROGA; FUKAI; MARSAIOLI, 1990), amplamente distribuídas nas regiões tropicais e montanhosas da América do Sul (NAVARRO *et al.*, 1996; WILLIAMS *et al.*, 1998). Dentro dessa família o gênero *Baccharis* é representado por mais de 500 espécies distribuídas no Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México (QUEIROGA; FUKAI; MARSAIOLI, 1990). O gênero apresenta grande valor socioeconômico, com ampla distribuição nos estados de São Paulo, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, onde são usadas na medicina alternativa (NUNES *et al.*, 2003; AGRA; FRANÇA; BARBOSA-FILHO, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A espécie *Baccharis dracunculifolia* DC (De Candolle), é popularmente conhecida como vassoura ou alecrim-do-campo, é amplamente utilizada na medicina popular. A forma de infusão de suas folhas é empregada para problemas hepáticos, disfunções estomacais e como anti-inflamatório. Estudos de literatura relatam o uso medicinal e religioso do “alecrim-do-campo” comercializado em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro (AZEVEDO; SILVA, 2006), assim como a utilização das folhas para feridas (FREISE, 1933) e o uso dos ramos, em decocto, como antifebril (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

É uma planta dióica com as inflorescências masculinas e femininas, cujo arbusto cresce em quase todo o Brasil, apresenta propriedades antiulcerogênica (LEMOS *et al.*, 2007), imunomoduladora (MISSIMA *et al.*, 2007), citotóxica e anticariogênica (LEITÃO *et al.*, 2004).

Sua ação química se dá principalmente pela ocorrência de flavonoides, diterpenos e triterpenos, sendo observadas grandes quantidades de flavonas, flavonóis e diterpenos clerodano e lambdano (BARROSO, 1976; QUEIROGA; FUKAI; MARSAIOLI, 1990; FULLAS *et al.*, 1994; FERRACINI *et al.*, 1995; BORELLA; FONTOURA, 2002; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; BORELLA *et al.*, 2006; MENDES; MACHADO; FALKENBERG, 2006).

Os flavonóides são os compostos de maior ocorrência no gênero *Baccharis* e, embora a maioria dos efeitos biológicos são ligados aos terpenos, são de reconhecida eficácia biológica como redutores da oxidação lipídicas de tecidos pela neutralização de radicais livres como o superóxido e o radical hidroxil, prevenindo a propagação de processos oxidativo e, como consequência dessa propriedade, temos a ação anti-carcinogênica. Atuam também como anti-inflamatórios, e imunoestimulantes (DEWICK, 2002).

Os terpenos, como diterpeno e triterpeno, predominantes em *B. dracunculifolia*, possuem ação antibacteriana, anti-inflamatória, anti-carcinogênica e são precursores de vitamina K e vitamina E, importantes para os sistemas imunológico e antioxidante. Contudo, apesar do grande número de compostos dessas classes isolados e identificados, ainda pouco se sabe sobre o efeito e modo de ação dos mesmos (SAMUELSSON; BOHLIN, 2010).

A função antimicrobiana desses compostos se dá principalmente pela característica lipofílica destes, que acumulam na membrana celular do microrganismo, danificando-a, desnaturando e coagulando proteínas. Isso altera a permeabilidade da membrana, causando um desequilíbrio nas concentrações dos íons hidrogênio e potássio, o que resulta, por perda de controle quimiosmótico, na interrupção das funções normais da célula, como transporte de

elétrons e reações dependentes de enzimas, por exemplo, levando à morte celular (DEWICK, 2002).

A atividade inibitória do crescimento de células da leucemia (L 1210) dos compostos isolados foi testada e três terpenos fenólicos e cinco álcoois sesquiterpênicos exibiram forte atividade citotóxica (FUKUDA *et al.*, 2006).

O extrato de *B. dracunculifolia* mostrou a presença de germacreno-D, biciclogermacreno, assim como derivados prenilados do ácido coumarínico. Germacreno-D e o biciclogermacreno (14%) estão entre os principais compostos do óleo essencial em conjunto com o delta-cadineno (13%) e germacrona (5%) (LOAYZA *et al.*, 1995).

Silva Filho *et al.* (2004) através do fracionamento cromatográfico das folhas, usando diversas técnicas, isolou os compostos isosakuranetina, aromadendrin-4'-metileter, ácido ferúlico, ácido diidrocinâmico, 3-prenil-4-(diidrocinamoiloxi)- ácido cinâmico e friedelanol. Um sesquiterpeno novo, baccharisketona, e um monoterpeneo novo, acetato de p-metoxitímol, foi isolado das folhas de *B. dracunculifolia* junto com dezessete compostos conhecidos.

Com base nas evidências fitoquímicas, a *B. dracunculifolia* foi identificada como a principal fonte vegetal das própolis produzidas nos estados de São Paulo e Minas Gerais (ALENCAR *et al.*, 2005), sendo a fonte botânica mais importante para produção da própolis verde (PARK *et al.*, 2002; KUMAZAWA *et al.*, 2003), a qual são atribuídas atividades biológicas antimicrobiana e imunoestimulante. Uma característica dos compostos fenólicos das própolis analisadas e da espécie vegetal de *B. dracunculifolia* foi a alta proporção de artepilina C e outros derivados do ácido cinâmico.

Funari; Ferro e Mator (2007), concluíram que a *B. dracunculifolia* é a principal fonte botânica da própolis do estado de São Paulo, o perfil cromatográfico da própolis, caracterizado na maior parte por flavonóides e por ácidos aromáticos, demonstrou ser qualitativamente similar ao da *B. dracunculifolia*.

Os extratos aquosos da própolis de *B. dracunculifolia* e de partes da planta contêm o ácido 3,4-di-O-ácido-cafeoilquinico, ácido-3.5-di-O-cafeoilquinico e o ácido clorogênico. Além disso, 27 compostos incluindo os diterpenos labdânicos, compostos prenilatedos, flavonóides e outros fenólicos que foram isolados previamente da própolis, foram identificados também no extrato metanólico de *B. dracunculifolia*. Entre eles, 24 compostos foram detectados nas gemas, indicando que deve ser uma fonte importante da própolis. A origem botânica de 19 componentes foi pela primeira vez estabelecida para *B. dracunculifolia* (KADOTA *et al.*, 2003).

A própolis é um produto natural que pode prevenir cárie dentária desencadeada por *Streptococcus mutans*. Leitão *et al.* (2004) observaram que tanto o extrato de própolis verde brasileira quanto extrato de *B. dracunculifolia* produziram um efeito bacteriostático nas culturas de *S. mutans* a uma concentração de 0,40 mg/mL. Estes resultados demonstraram que uma lavagem foliar de *B. dracunculifolia* e extratos de própolis verde têm semelhantes efeitos inibitórios sobre os fatores cariogênicos de *Streptococcus mutans* avaliados e sugerem que as folhas de *B. dracunculifolia* podem ser uma fonte potencial de produtos farmacêuticos utilizados para este fim.

Orsi *et al.* (2005) investigaram os efeitos da própolis do Brasil e Bulgária sobre a atividade bactericida de macrófagos contra *Salmonella* Typhimurium. Os macrófagos desempenham um papel importante na fase inicial de infecção por Salmonela. Os dois tipos de própolis aumentaram a atividade bactericida de macrófagos, dependendo da sua concentração. A própolis brasileira, cuja fonte principal é *B. dracunculifolia*, ainda se mostrou mais eficiente que a própolis búlgara, cuja fonte principal de resinas é o broto do álamo.

Guimarães *et al.* (2012) demonstraram grande eficácia do extrato glicólico de *B. dracunculifolia* na prevenção de estresse oxidativo em mitocôndrias de células hepáticas de ratos. O extrato glicólico foi preparado por percolação fraccionada usando propilenoglicol

como solvente. Os fenóis e flavonóides, substâncias com ação antioxidante reconhecida, foram quantificadas e a análise fitoquímica foi realizada por HPLC. O extrato exibiu atividade sequestrante de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) significativo, ânions superóxido dependendo da concentração, e também uma atividade quelante de  $Fe^{2+}$ . O extrato também reduziu a geração de peróxido de hidrogênio basal e a produção de espécies reativas de oxigênio induzida por  $Fe^{2+}$  ou terc-butil hidroperóxido em mitocôndrias isoladas. Oxidação lipídica das membranas mitocondriais, grupos tiol proteicos e oxidação de glutathione também foram prevenidas. Demonstrando a potente atividade antioxidante de *B. dracunculifolia*, protegendo as mitocôndrias hepáticas contra danos oxidativos. Tal ação provavelmente contribui para o efeito antioxidante e hepatoprotetor da própolis verde.

Resende *et al.* (2007) confirmaram seu potencial efeito anti-mutagênico no extrato de *B. dracunculifolia* obtido em acetato de etila. A análise do extrato por cromatografia líquida de alta eficiência permitiu a identificação dos compostos fenólicos: ácido cafeico, ácido p-coumárico, éter de aromadendrina-4'-O-metil, ácido 3-prenil-p-coumárico, 3,5-diprenil-p-coumárico (artepilina C) e baccharina.

Park *et al.* (2004) investigaram os perfis cromatográficos dos exsudatos resinosos de gemas das folhas, das folhas não expandidas e expandidas, e da própolis de *B. dracunculifolia* na forma de extratos alcoólicos. Os materiais mostraram similaridade, mas as folhas não expandidas diminuíram quantitativamente em constituintes químicos em comparação às gemas da folha. No caso das folhas expandidas, todos os constituintes químicos decresceram severamente ou desapareceram. A Artepilina C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), composto antimicrobiano identificado na própolis brasileira (AGA *et al.*, 1994), foi identificado na própolis e nos exsudatos resinosos; e os extratos etanoicos das resinas e da própolis continham as concentrações mais elevadas de Artepilina C em comparação aos outros constituintes químicos.

Menezes (2005) avaliou a atividade anti-inflamatória do extrato aquoso desta planta utilizando o modelo de pleurisia induzida por zimozan em camundongos. Os resultados indicaram que o extrato bruto aquoso de *B. dracunculifolia* possui atividade anti-inflamatória.

Lemos *et al.* (2007), testaram a eficiência do extrato da planta contra úlceras gástricas. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência da composição química do extrato de *B. dracunculifolia* usado neste estudo revelou a presença principalmente de derivados ácidos e de flavonoides cinâmicos. As doses de 50, 250 e 500 mg/kg do extrato de *B. dracunculifolia* e de controles positivos (omeprazol ou cimetidina) diminuíram significativamente o índice da lesão, a área total da lesão e a porcentagem da lesão causada pelas úlceras comparados com os grupos de controle negativos. Em relação à secreção gástrica, as reduções no volume do suco gástrico e a acidez total foram observados, assim como o aumento no pH gástrico. Estes resultados foram similares aos resultados dos estudos realizados com extrato verde da própolis. Embora mais investigações sejam necessárias, os resultados sugerem que *B. dracunculifolia* tem potencial para ser usado como um preparado fitoterápico para o tratamento da úlcera gástrica.

Sabe-se que o aumento da produção avícola, as mudanças climáticas e desafios sanitários têm levado a prejuízos nos resultados zootécnicos, além de redução das repostas imunológicas e aumento do estresse fisiológico, o que pode resultar em prejuízos para a saúde das aves.

### **3. Justificativa e Objetivo**

Frente à crescente proibição da utilização de antibióticos melhoradores de desempenho e visando segurança do alimento, sustentabilidade, responsabilidade ambiental e financeira, adequação dos sistemas produtivos e manutenção da produtividade, torna-se necessária a busca e pesquisa de compostos alternativos seguros e eficazes aos AMD tradicionalmente utilizados na produção avícola.

Atualmente, encontra-se vasta quantidade de estudos sobre aditivos alternativos aos AMD na alimentação de frangos de corte disponíveis na literatura, no entanto, a maioria destes visa apenas à verificação do desempenho animal.

A utilização de extratos e/ou óleos de plantas na nutrição animal traz benefícios para o sistema imune e desempenho das aves; entretanto, é necessário melhor entendimento dos benefícios destes extratos na saúde dos animais, bem como, quais os melhores extratos a serem utilizados e seus efeitos no metabolismo das aves. Enquanto países dos blocos desenvolvidos sempre repousaram a base de sua produção animal em compostos químicos sintéticos para promover a produção e saúde de seus animais, países dos blocos em desenvolvimento sempre utilizaram, mesmo que em escala reduzida, métodos naturais para alcançar a produtividade animal, entretanto, essas práticas necessitam de documentação, pesquisa e padronização, o que coloca o Brasil na linha de frente de pesquisa de novas alternativas à produção animal.

A *B. dracunculifolia* se insere nesse contexto, apresentando utilização na medicina tradicional, mas necessitando de estudos para sua utilização em escala industrial, suas vantagens e limitações, níveis de inclusão, bem como esclarecer seus efeitos e mecanismos de ação nos organismos antes de ser recomendada como alternativa eficaz e segura na produção animal.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* adicionado às dietas de frangos de corte como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho sobre o desempenho zootécnico, parâmetros imunológicos, morfometria de órgãos e histomorfometria de intestino e Bursa de Fabrícus, bem como o efeito sobre o *turnover* da mucosa intestinal e fígado determinado pela técnica de isótopos estáveis.

O Capítulo II, intitulado “*Baccharis dracunculifolia* na alimentação de frangos de corte”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na **Revista Brasileira de**

**Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science**, sob responsabilidade editorial da *Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas*. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* em dietas de frangos de corte.



#### 4. Referências Bibliográficas

AGA, H.; SHIBUYA, T.; SUGIMOTO, T.; KURIMOTO, M.; NAKAJIMA, S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 58, p. 945-946, 1994.

AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 17, p. 114-140, 2007.

ALCERITO, T.; BARBO, F. E.; NEGRI, G.; SANTOS, D. Y. A. C.; MEDA, C. L.; YOUNG, M. C. M.; CHÁVEZ, D.; BLATT, C. T. T. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, Nova Iorque, v. 30, p. 677-83, 2001.

ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES-GUZMÁN, J.; PARK, Y. K. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, p. 909-915, 2005.

APPLEGATE, T. J., STEINER, T.; GANNER, A.; SCHATZMAYR, G. Probiotics and phytotherapies for poultry: Myth or reality? **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 19, p. 194-210, 2010.

ARMSTRONG, D.G. Gut-active growth promoters. In: BUTERY, P.J.; LINSAY, D.B.; HAYNES, N.B. Ed(s). *Control and manipulation of animal growth*. Londres: Butterworths, 1986. p. 21-37.

AZEVEDO, S.K.S. DE; SILVA, I.M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, Belo Horizonte, v. 20, n. 1, p. 185-194, 2006.

BARROSO, G. M. Compositae - Subtribo Baccharidinae Hoffmann. Estudo das Espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 1, p. 235-246, 1976.

BITSCH, R. Pflanzenphenole und ihre gesundheitliche Wirkung. *Naturwissenschaftliche Rundschau*, Stuttgart, v. 49, n. 2, p. 47-51, 1996.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2009, Porto Alegre. Anais... Campinas: Facta, p. 262-274, 2009.

BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Ed(s). *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: Funep, 2002. p.75-95.

BORELLA, J. C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A. G.; MENEZES, J. R. A.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P. A. S.; VENEZIANI, R. C. S.; LOPES N. P.; Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 16, p. 557-561, 2006.

BORELLA, J. C.; FONTOURA, A. Avaliação do perfil cromatográfico e do teor de flavonóides em amostras de *Baccharis trimera* (Less) DC. Asteraceae (carqueja) comercializadas em Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 12, p. 63-67, 2002.

CEYLAN, E.; FUNG, D. Y. C. Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, Hoboken, v. 12, p. 1-55, 2004.

CHEN, H. L.; LI, D. F.; CHANG, B. Y.; GONG, L. M.; DAI, J. G.; YI, G. F. Effects of chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broilers. *Poultry Science*, Champaign, v. 82, n. 3, p. 364-370, 2003.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs, 2003. Disponível em: <<http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st06/st06120en03.pdf>>. Acesso em: 15 Jun. 2011.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington DC, v. 12, p. 564-82, 1999.

DEWICK, P.M. Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. 2nd ed., Chichester: John Wiley & Sons, 2002. 550p.

DIONÍZIO, M.A. Microbiota Intestinal do Neonato. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007, Santos. *Anais...* Campinas: Facta, p. 329-342, 2007.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 83, n. 2, p. 308-316, 2000.

EDENS, F.W. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Campinas, v. 5, n. 2, p. 75-97, 2003.

ERTAS, O. N.; GÜLER, T.; ÇİFTÇİ, M.; DALKILIÇ, B.; SIMSEK, Ü, G. The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, Faisalabad, v. 4, n. 11, p. 879-884, 2005.

FASCINA, V. B.; SARTORI, J. R.; GONZALES, E.; CARVALHO, F. B.; SOUZA, I. M. G. P.; POLYCARPO, G. V.; STRADIOTTI, A. C.; PELÍCIA, V. C. Phytogenic additives and organic acids in broiler chicken diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.41, n.10, p.2189-2197, 2012.

FRANÇA, I. S. X., SOUZA, J. A.; BAPTISTA, R. S.; BRITTO, V. R. S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 61, n. 2, 2008.

FREISE, F.W. Plantas medicinaes brasileiras. *Boletim de Agricultura*, v. 34, p.252-494, 1933.

FERRACINI, V. L.; PARAIBA, L. C.; LEITAO FILHO, H. F.; SILVA, A. G.; NASCIMENTO, L. R.; MARSAIOLI, A.; 1995. Essential oil of seven Brazilian *Baccharis* species. *Journal of Essential Oil Research*, Wheaton, v.7, p.355-367.

FUKUDA, M.; OHKOSHI, E.; MAKINO, M.; FUJIMOTO, Y. Studies on the constituents of the leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) and their cytotoxic activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Tokyo, v.54. n.10, p.1465-1468, 2006.

FULLAS, F.; HUSSAIN, R. A.; CHAI, H.; PEZZUTO, J. M.; SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic Constituents of *Baccharis gaudichaudiana*. *Journal of Natural Products*, Washington DC, v.56, p.801-807, 1994.

FULLER, R. *Probiotics the Scientific Basis*. 1 ed. London: Chapman & Hall, 1992. 398p.

FUNARI, C.S., FERRO, V. O.; MATHOR, M. B. Analysis of propolis from *Baccharis dracunculifolia* DC. (Compositae) and its effects on mouse fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, Laussane, v.4, p.206-12, 2007.

GARCÍA, V.; CATALÁ-GREGORI, P.; HERNÁNDEZ, F.; MEGÍAS, M. D.; MADRID, J. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, Athens, v. 16, p. 555-562, 2007.

GASPARI-PEZZOPANE, C.; MEDINA FILHO, H. P.; BORDIGNON, R.; SIQUEIRA, W. J.; AMBRÓSIO, L. A.; MAZZAFERA, P. Influências ambientais no rendimento intrínseco do café. *Bragantia*, Campinas, v. 64, n. 1, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabolitos secundários. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRADY, D. EUA vai rever uso de antibiótico para animais. *Estado de São Paulo*, São Paulo, p.A13, 9 mar. 1999.

GUIMARÃES, N. S. S.; MELLO, J. C.; PAIVA, J. S.; BUENO, P. C. P.; BERRETTA, A. A.; TORQUATO, R. J.; NANTES, I. L.; RODRIGUES, T. *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. *Food and Chemical Toxicology*, Nova Iorque, v. 50, n. 3-4, p. 1091-1097, mar.-abr. 2012.

HENRY, P.R., AMMERMAN, C.B., CAMPBELL, D.R.; MILES, R. D. Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks. *Poultry Science*, Champaign, v. 66, n. 6, p.1014-1018, jun., 1987.

HERRMANN, K. Pflanzlichen Lebensmitteln vorkommende Flavonoide als Antioxidantien. *Gordian*, Hamburg, v. 93, n.7-8, p. 108-111, 1994.

HINTON, M.; HEDGES, A. J.; LINTON, A. H. The ecology of *Escherichia coli* in market calves fed a milk-substitute diet. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, v.58, p.27-35, 1985.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN M. B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Paris, v.51, n.8, p.305-310, 1997.

HUNG, L. M.; CHEN, J. K.; HUANG; S. S. Cardioprotective effect of resveratrol, a nature antioxidant derived from grapes. *Cardiovascular Research*, Oxford, v. 7, p. 549-555, 2000.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. Saúde gastrointestinal, manejos e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. *Produção de frangos de corte*. Campinas: Facta, 2004. cap.13, p.207-215.

IZAT, A. L., THOMAS, R. A., ADAMS, M. H. Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. *Poultry Science*, Champaign, v. 68, n. 5, p. 651-655, mai., 1989.

JANG, I. S.; KO, Y. H.; KANG, S. Y.; LEE, C. Y. Effect of a comercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technolgy*, v. 134, p. 304–315, 2007.

JENSEN, P. R.; JENJINS, K. M.; PORTER, D.; FENICAL, W. Evidence that a new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *Thalassia testudinum* against zoosporic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.64, p.1490-1496, 1998.

JOE, B.; LOKESH, B. R. Effect of curcumin and capsaicin on arachidonic acid metabolism and lysosomal enzyme secretion by rat peritoneal macrophages. *Lipids*, Chicago, v. 32, p. 1173-1180, 1997.

JORGE, S. S. A. Plantas Mediciniais: Coletânea de Saberes. Disponível em: <[http://www.fazendadocerrado.com.br/fotos\\_noticias/1280/Livro.pdf](http://www.fazendadocerrado.com.br/fotos_noticias/1280/Livro.pdf)>. acesso em: 29 ago. 2014.

KADOTA, S.; MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A.; TEZUKA, Y.; MATSUSHIGE, K. Buds of *Baccharis dracunculifolia*: potent source of biologically active caffeoylequinic acids and labdane-type diterpenes of Brazilian propolis. *Journal of Traditional Medicines*, v.20, n.5, p.187-194, 2003.

KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Tóquio, v.51, n.6, p.740-742, 2003.

LAN, Y.; VERSTEGEN, M. W. A.; TAMMINGA, S.; WILLIAMS, B. A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, Londres, v. 61, n. 1, p. 95-104, 2005.

LANNA, A. C., SILVEIRA, P. M.; SILVA, M. B.; FERRARESI, T. M.; KLIEMANN, H. J. Atividade de urease no solo com feijoeiro influenciada pela cobertura vegetal e sistemas de plantio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, vol. 34, n.6. 2010.

LEITÃO, D.P.S.; DA SILVA FILHO, A.A.; POLIZELLO, A.C.M.; BASTOS, J.K.; SPADARO, A.C.C. Comparative evaluation of *in-vitro* Brazilian green propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, Tóquio, v.27, n.11, p.1834-1839, 2004.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. *Floresta e Ambiente*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 71-77, 2003.

LIU, L. L.; HE, J. H.; XIE, H. B.; YANG, Y. S.; LI, J. C.; ZOU, Y. Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens. *Poultry Science*, Champaign, v. 93, n.1, p. 54-62, 2014.

LOAYZA, I.; ABUJDER, D.; ARANDA, R.; JAKUPOVIC, J.; COLLIN, G.; DESLAURIERS, H; JEAN, F.I. Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. *Phytochemistry*, Oxford, v.38, n.2, p.381-389, 1995.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais...* Campinas: Facta, 2005, p.53-71.

MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Ed(s). *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: Funep, 2002. cap. 8, p.113-123.

MANIE, T., KHAN, S., BROZEL, V.S; VEITH, W. J.; GOUWS, P. A. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South America. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, v. 26, n. 4, p.253-258, 1998.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D.C. DIAS, J. E. Plantas Medicinais. Viçosa: UFV, 2000. 220p.

MENDES, B. G.; MACHADO, M. J.; FALKENBERG, M. Triagem de glicolipídios em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, Curitiba, v.16, p.568-575, 2006.

MENEZES, H. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). In: 18 RAIB. São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo: Instituto Biológico, 2005. v. 72. p. 33-33, 2005.

MESQUITA, A. C., OLIVEIRA, L. E. M.; CAIRO, P. A. R.; VIANA, A. A. M. Sazonalidade da produção e características do látex de clones de seringueira em Lavras, MG. *Bragantia*, Campinas, vol. 65, n.4, 2006.

MISSIMA, F.; DA SILVA FILHO, A. A.; NUNES, G. A.; BUENO, P. C. P.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Effect of *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae) extracts and its isolated compounds on macrophage activation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Londres, v. 59, n.3, p.463-468, 2007.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, Botucatu, vol.27, n. 2, 2009.

MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. Eds. *Fisiologia aviária aplicada a frango de corte*. Jaboticabal: Funep, 2002. 375 p.

NAIR, N.; MAHAJAN, S.; CHAWDA, R.; KANDASWAMI, C.; SHANAHAN, T.C.; SCHWARTZ, S. Grape Seed Extract Activates Th1 Cells In Vitro. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Washington DC, v.9, p.470-476, 2002.

NASCIMENTO, M.N.; ALVES, J. D.; SOARES, A. M.; CASTRO, E. M.; MAGALHÃES, M. M.; ALVARENGA, A. A.; SILVA, G.H. Alterações bioquímicas de plantas e morfológicas de gemas de café associadas a eventos do florescimento em resposta a elementos meteorológicos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 5, 2008.

NAVARRO, V.; VILLARREAL, M. L.; ROJAS, G.; LOYOLA, X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, Lausanne, v.53, p.143-147, 1996.

NITSAN, Z.; DUNNUNGTTON, E.; SIEGEL, P. Organ growth and digestive enzyme levels to 15 days of age in lines of chickens differing in body weight. *Poultry Science*, Champaign, v. 70, n. 10, p. 2040-2048, 1991.

NUNES, G. P.; SILVA, M. F.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognósia*, Curitiba, v.13, p.83-92, 2003.

OLIVEIRA, F. Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Revista Brasileira de Farmacognósia*, Curitiba, v.17, p.466-476, 2007.

ORSI, R. O.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C; BANKOVA, V. Effects Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against *Salmonella Typhimurium*. *International immunopharmacology*, Amsterdam, v.5, p.359-68, 2005.

PANIZZI, L.; CAPONI, C.; CATALANO, S.; CIONI P.L.; MORELLI, I. - In Vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacology*, Laussane, v.79, p.165-8, 2002.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.50, n.9, p.2502-2506, 2002.

PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of Southeastern Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.52, p.1100–1103, 2004.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M. C.; MUÑOZ, J. D.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, Laussane, v. 77, n. 1, p. 37- 40, 2001.

QUEIROGA, C. L.; FUKAI, A.; MARSAIOLI, A. Composition of the essential oil of vassoura. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Campinas, v.1, p.105-109, 1990.

RESENDE, F. A.; ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; SENEDESE, J. M.; SOUSA, J. P.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by *Baccharis dracunculifolia*. *Mutation Research*, Amsterdam, v.30, 2007.

RICE-EVANS, C.A.; NICHOLAS, J.M.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande –Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, n.1, p.102-123, 2001.

RUBIOLO, J. A.; VEGA, F. V. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against necrosis induced by reactive oxygen species. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Paris, v. 62, p. 606–612, 2008.

RUTZ, F.; FERKET, P. R.; SANTOS, A. A.; OVIEDO-RONDON, E. Antimicrobianos nas rações de aves e suínos. In: 43ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006, João Pessoa. *Anais...* Paraíba, 2006.

SAHIN, K.; AKDEMIR, F.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; HAYIRLI, A.; SAHIN, N. Effects of dietary resveratrol supplementation on egg production and antioxidant status. *Poultry Science*, Champagn, v.89, n. 6, p. 1190-1198, 2010.

SAMUELSSON, G.; BOHLIN, L. *Drugs of Natural Origin: A Treatise of Pharmacognosy*. 6th ed. Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press, 2010. 776p.

SILVA FILHO, A.A.; PIRES BUENO, P. C.; GREGÓRIO, L. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; ALBUQUERQUE, S.; BASTOS, J. K. In vitro trypanocidal activity evaluation of crude extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Londres, v.56, n.9; p.1195-1199, 2004.

SRINIVASAN, K.; SAMBAIAH, K. The effect of spices on cholesterol levels 7 $\alpha$ -Hidroxilase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v. 61, p. 364-369, 1991.

UBA – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2013. Disponível em:<<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>> Acesso em: 10 Mai. 2014.

UHL, S. Spices: tools for alternative or complementary medicine. *Food Technology*, Londres, v. 54, n. 5, p. 61-62, 2000.

UNI, Z.; PLATIN, R.; SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *Journal of Comparative Physiology*, Berlin, v.168, n. 4, p.241-247, 1998.

VAN LEEUWEN, P.; MOUWEN, J. M.; VAN DER KLIS, J. D.; VERSTEGEN, M. W. Morphology of the small intestinal mucosal surface of broilers in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. *British Poultry Science*, Londres, v. 45, n. 1, p. 41-48, 2004.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. O gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova*, São Paulo, v.28, p.85-94, 2005.

WENDLER, K. R. Botânicos, da medicina tradicional a melhoradores de desempenho na produção animal. In: III CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 2006, Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu, p. 213-224, 2006.

WILLIAMS, P.; LOSA, R. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, Londres, v. 17, p. 14–15, 2001.

WILLIAMS, L. R.; STOGKLEY, J. K.; YAN, W.; HOME, V. N. Essential oils with high antimicrobial activity for therapeutic use. *International Journal of Aromatherapy*, v. 8, p. 30-40, 1998.

WOLTER, F.; STEIN, J. Biological activities of resveratrol and its analogues. *Drugs of the Future*, Barcelona, v. 27, p. 949–959, 2002.

XIAO, C.; BAO, G.; HU, S. Enhancement of immune responses to Newcastle disease vaccine by a supplement of extract of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. Seeds. *Poultry Science*, Champaign, v. 88, n. 11, p. 2293-2297, 2009.

YAN, Y., J. Y. YANG, Y. H. MOU, L. H. WANG, Y. N. ZHOU, AND C. F. WU. Differences in the activities of resveratrol and ascorbic acid in protection of ethanol-induced oxidative DNA damage in human peripheral lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, p. 168–174, 2012.

YANG, J.; MARTINSON, T. E.; LIU, R. H. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chemistry*, v. 116, p. 332–339, 2009.

YARRU, L. P.; SETTIVARI, R. S.; GOWDA, N. K. S.; ANTONIOU, E.; LEDOUX, D. R.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. *Poultry Science*, Champaign, v. 88, p. 2620-2627, 2009.



## **CAPÍTULO II**

### ***Baccharis dracunculifolia* na alimentação de frangos de corte**

**Resumo.** A presente pesquisa objetivou avaliar a inclusão de extrato alcoólico de *Baccharis dracunculifolia* (EBD) em dietas de frangos de corte sobre o desempenho e saúde das aves. Foram realizados dois estudos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos: dieta controle (DC) sem inclusão de antibiótico melhorador de desempenho (AMD) e EBD; DC + 0,1% EBD; DC + 0,2% EBD; DC + 0,3% EBD; DC + 0,4% EBD e DC+AMD. No primeiro ensaio foram utilizados 1080 frangos de corte machos, cada tratamento com seis repetições, para avaliação do desempenho, peso relativo de órgãos, título de anticorpos contra doença de NewCastle e histomorfometria de intestino e Bursa de Fabrícus. No segundo experimento foram utilizados 720 frangos de corte machos para avaliação do efeito do EBD sobre o turnover da mucosa intestinal e fígado. No primeiro experimento, aos 21 dias de idade, foi observada queda na viabilidade e aumento na profundidade de cripta do duodeno no tratamento DC+0,2% EBD, aos 35 dias foi observada queda no ganho de peso e consumo de ração nos tratamentos DC+0,2% EBD e DC+0,4% EBD e, aos 42 dias, foi observado aumento na área cortical de Bursa no tratamento DC+0,2% EBD. No segundo experimento foram observadas, aos 21 dias, diminuição da meia-vida e aumento da taxa metabólica da mucosa intestinal do tratamento DC+0,2% EBD. A inclusão de EBD, em quaisquer níveis estudados não resultou em melhora no desempenho e saúde em comparação ao AMD.

**Palavras-chave:** aditivo fitogênico, extrato de planta, histologia, imunidade, isótopos estáveis, taxa metabólica.

### ***Baccharis dracunculifolia* in the feed of broilers**

**Abstract.** This study aimed to evaluate the inclusion of *Baccharis dracunculifolia*'s alcoholic extract (BDE) in broiler diets on performance and health of birds. Two studies in a completely randomized design with six treatments were performed: control diet (CD) without inclusion of performance enhancing antibiotic (PEA) and BDE; DC+0.1% BDE; DC+0.2% BDE; DC+0.3% BDE; DC+0.4% BDE and DC+PEA. In the first experiment were used 1080 male broilers, with six replicates per treatment, to evaluate the performance, relative organ weight, antibody titer against Newcastle disease and histomorphometry of intestine and Bursa of Fabricius. In the second experiment were used 720 broilers males to evaluate the effect of EBD on the turnover of the intestinal mucosa and liver. At 21 days of age, in treatment DC+0.2% BDE, decrease in viability and an increase in duodenal crypt depth were observed; at 35 days of age decrease in weight gain and feed intake was observed in treatments DC+0.2% BDE and DC+0.4% BDE and at 42 days, an increase was observed in the cortical area of Bursa in treatment DC+0.2% BDE. In the second experiment were observed, at 21 days, decreased half-life and increased metabolic rate of the intestinal mucosa of the DC+0.2% BDE treatment. The inclusion of BDE in any levels studied did not result in improved health and performance compared to PEA.

**Key words:** phytogenic additive, plant extract, histology, immunity, metabolic rate, stable isotopes.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho (AMD) tem sido frequente nos últimos 60 anos com grande eficácia na melhora dos índices produtivos e redução no desafio bacteriano, principalmente pela diminuição do número de bactérias, o que reduz a competição por nutrientes com o hospedeiro, diminuição da produção de toxinas bacterianas e amônia que reduzem absorção de nutrientes, e diminuição das células inflamatórias na parede intestinal e do grau de descamação e renovação das vilosidades intestinais (Armstrong, 1986; Henry *et al.*, 1987; Izat *et al.*, 1989).

No entanto, há relatos que o uso rotineiro de antibióticos como melhoradores de desempenho (AMD) em rações de animais pode diminuir a capacidade dessas drogas de curar infecções em pessoas e animais, pois essa prática pode ser responsável pela emergência e manutenção de bactérias patogênicas multirresistentes aos antibióticos.

Ainda, há uma forte demanda por novos produtos que se enquadrem dentro do conceito de segurança alimentar e bem-estar animal, em outras palavras, produtos com a menor adição de produtos químicos possível, que causem menor impacto ao meio-ambiente e éticos em relação ao cuidado com os animais. Dentro dessa visão, países como os da União Europeia, por exemplo, proíbem a utilização dos AMD na alimentação animal.

Nesse contexto, surge a necessidade de buscar alternativas aos AMD no controle de doenças e patógenos nas criações comerciais, produtos que possuam mecanismos e efeitos próximos aos dos AMD, mas que apresentem a vantagem de possuírem baixa toxicidade e vários princípios ativos, além de custo atraente e de serem ambientalmente seguros.

A *Baccharis dracunculifolia*, planta da família Asteraceae (Queiroga *et al.*, 1990), é amplamente distribuída nas regiões tropicais e montanhosas da América do Sul (Navarro *et al.*, 1996; Willians *et al.*, 1998) e possui grande potencial de utilização na produção animal e saúde humana, apresentando propriedades antiulcerogênica (Lemos *et al.*, 2007), imunomoduladora

(Missima *et al.*, 2007), citotóxica e anticariogênica (Leitão *et al.*, 2004), anti-inflamatórios e imunostimulantes (Dewik, 2002).

Os princípios ativos da *B. dracunculifolia* são, principalmente, flavonóides, diterpenos e triterpenos, sendo observadas grandes quantidades de flavonas, flavonóis e diterpenos clerodano e lambdano (Fabiane *et al.*, 2008). Os terpenos, como diterpeno e triterpeno, predominantes em *B. dracunculifolia*, possuem ação antibacteriana, anti-inflamatória, anti-carcinogênica e são precursores de vitamina K e vitamina E, importantes para os sistemas imunológico e antioxidante. Contudo, apesar do grande número de compostos dessas classes isolados e identificados, ainda pouco se sabe sobre o efeito e modo de ação dos mesmos (Samuelsson & Bohlin, 2010).

Portanto é uma planta de interesse na pesquisa, apresentando utilização na medicina tradicional, mas necessitando de estudos sobre suas vantagens e limitações, níveis de inclusão, bem como esclarecer seus efeitos e mecanismos de ação nos organismos, bem como a possibilidade de aplicação em escala industrial antes de ser recomendada como alternativa eficaz e segura na produção animal.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* adicionado às dietas de frangos de corte como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho sobre o desempenho zootécnico, parâmetros imunológicos, morfometria de órgãos e histomorfometria de intestino e Bursa de Fabrícus, bem como o efeito sobre o *turnover* da mucosa intestinal e fígado determinado pela técnica de isótopos estáveis.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos utilizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Processo nº 228/2012-CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu.

## 2.1. Experimento I

O primeiro experimento foi realizado na APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em conjunto com a equipe do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ-UNESP Botucatu, no polo regional de Brotas- SP.

Foram utilizados 1080 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500 vacinados no incubatório contra doença de Marek e Gumboro. As aves foram distribuídas em 36 boxes de 2,0 m<sup>2</sup> com 30 aves por boxe (15 aves/m<sup>2</sup>), munidos de comedouros tipo tubular e bebedouros tipo nipple, em aviário do tipo convencional

A cama, de 10 cm de espessura, foi obtida de galpão comercial de uma integração avícola, e previamente utilizada por dois lotes afim de simular os desafios das condições de campo.

A água e ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental, o programa de luz seguiu as orientações do manual da linhagem de frangos selecionada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos (Tabela 1) constituíram de dieta controle (DC) sem inclusão de antibiótico melhorador de desempenho (AMD) e extrato de *B. dracunculifolia* (EBD); DC+0,1% EBD; DC+0,2% EBD; DC+0,3% EBD; DC+0,4% EBD e DC+AMD. Cada dieta, portanto, foi fornecida a seis boxes com 30 aves cada.

Todas as dietas experimentais utilizadas foram isoenergéticas, isoprotéicas e isoaminoacídicas, de acordo com as recomendações nutricionais propostas por Rostagno *et al.* (2011) para frangos de corte de desempenho médio, e divididas em quatro fases: pré-inicial (1 – 7 dias), inicial (8 – 21 dias), crescimento (22 – 35 dias) e final (36 – 42 dias).

O extrato de *B. dracunculifolia* utilizado neste estudo era apresentado na forma de extrato hidroalcoólico a 20% de concentração, obtido de uma indústria farmacêutica. A

inclusão do extrato vegetal e dos aditivos melhoradores de desempenho foram feitas em substituição do material inerte (caulim) das dietas.

Tabela 1. Composição centesimais e nutricionais das dietas experimentais.

	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho, Grão Moído	54,138	58,316	61,109	65,746
Farelo de Soja, 45%	38,490	34,970	31,721	27,530
Fosfato Bicálcico	1,908	1,520	1,275	1,071
Bicarbonato de Sódio	0,233	0,195	0,157	0,140
Calcário Calcítico	0,912	0,920	0,863	0,769
Óleo de Soja	2,520	2,465	3,395	3,244
DL-Metionina (99%)	0,355	0,285	0,254	0,238
L-Lisina HCl (78,4%)	0,278	0,208	0,187	0,225
L-Treonina (98,5%)	0,103	0,058	0,039	0,047
Cloreto de Colina	0,060	0,060	0,050	0,040
Sal Comum	0,350	0,350	0,350	0,350
Inerte	0,453	0,453	0,400	0,400
Premix Vit. e Min.*	0,200	0,200	0,200	0,200
<b>Composição nutricional calculada</b>				
EM (kcal/kg)	2950	3000	3100	3150
PB (%)	22,201	20,802	19,500	18,001
Cálcio (%)	0,920	0,821	0,732	0,638
Fósforo disponível (%)	0,470	0,393	0,342	0,298
Metionina dig. (%)	0,644	0,562	0,431	0,486
Metionina+cistina dig. (%)	0,944	1,174	0,787	0,737
Lisina dig. (%)	1,312	0,846	1,078	1,010
Treonina dig. (%)	0,852	0,764	0,701	0,656
Potássio (%)	0,861	0,809	0,580	0,694
Sódio (%)	0,220	0,210	0,200	0,195
Cloro (%)	0,260	0,261	0,180	0,262
Ácido linoleico (%)	2,736	2,754	1,040	3,250

\*Premix vitamínico e mineral para frangos de corte (Tortuga®), níveis de garantia por kg de ração: Vit. A, 11.092 UI; Vit. D3, 2.678 UI; Vit. E, 24,86 UI; Ácido Fólico, 0,99 mg; Ácido Pantotênico, 11,78 mg; Vit. B6, 2,49 mg; Biotina, 0,1 mg; Niacina, 30,0 mg; Vit. B2, 4,5 mg; Vit. B1, 2,01 mg; Vit. B12, 12,00 µg; Vit. K3, 1,89 mg; Fe, 49,60 mg; Cu, 8,56 mg; Mn, 66,6 mg; Zn, 51,36 mg; I, 1,0 mg; Se, 0,3 mg; BHT, 2 mg.

### **2.1.1. Variáveis Analisadas**

#### **2.1.1.1. Desempenho**

Todas as aves de cada parcela experimental foram pesadas aos 7, 21, 35 e 42 dias para a determinação do peso corporal, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e, diariamente, era determinada a mortalidade para a determinação da viabilidade. Ao final do período experimental foi calculado o índice de eficiência produtiva pela seguinte fórmula:

$$IEP = (Peso\ Corporal \times Viabilidade) / (Convers\tilde{a}o\ Alimentar \times Idade\ de\ Abate) \times 100$$

#### **2.1.1.2. Títulos de Anticorpos Contra Doença de NewCastle**

Aos 10 dias, as aves foram vacinadas individualmente contra Doença de Newcastle, utilizando uma cepa LaSota comercialmente disponível.

Aos 21 e 42 dias de idade, foram coletados de duas aves por unidade experimental 5,0 mL de sangue por meio da punção da veia ulnar para avaliar os títulos séricos de anticorpos contra o vírus da Doença de NewCastle. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos de ensaio, deixadas em descanso para formação de coágulo, posteriormente, centrifugadas para obtenção do soro e acondicionadas em micro tubos de 1,5 mL.

A mensuração da produção de anticorpos foi avaliada por meio do ensaio imunoenzimático – Kit ELISA.

#### **2.1.1.3. Peso Relativo de Órgãos**

Aos 21 e 42 dias de idade, foi retirada uma ave no peso médio de cada unidade experimental, pesada e sacrificada após jejum de duas horas. Posteriormente foram coletados e pesados o baço, timo, bursa de Fabrícus, fígado, pâncreas e intestino para o cálculo dos pesos relativos em relação ao peso corporal das aves em jejum.



#### **2.1.1.4. Histomorfometria de Intestino**

Foram coletados fragmentos de duodeno, jejuno e íleo para análises histomorfométricas de uma ave por unidade experimental aos 21 dias de idade, fixada em líquido de Bouin por 24 horas e em seguida armazenadas em álcool 70%. Para a confecção das lâminas histológicas, as amostras foram desidratadas em série crescente de álcool (álcool 70%; 80%; 90%; 100%; 100%; 100%) por 30 minutos por passagem. Posteriormente diafanizadas em solução álcool:xilol (1:1) por 30 minutos e xilol 100% por 30 minutos, imersas em Paraplast® (parafina) em estufa a 55°C por 90 minutos e, incluídas em Paraplast® para formação dos blocos. Posteriormente, as amostras foram submetidas à microtomia obtendo-se corte histológicos de cinco micrômetros de espessura, os quais foram colocados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina.

A altura dos vilos e profundidade das criptas dos segmentos intestinais foram determinadas por meio de imagens, obtidas em microscópico óptico com objetiva planapocromática 10X. As imagens foram capturadas com câmera acoplada ao microscópio e transferidas para um analisador de imagem (Leica). Vinte leituras de altura de vilos e profundidade de cripta foram realizadas por lâmina e por segmento intestinal, que corresponde a uma ave por parcela experimental. A altura de vilos foi medida da região apical à região basal, que corresponde à porção superior das criptas. As criptas foram medidas da base até a região de transição entre a cripta e o vilos.

#### **2.1.1.5. Histomorfometria da bursa de Fabrícus**

Foi coletada a bursa de Fabrícus de uma ave por unidade experimental, aos 21 e 42 dias, e fixadas em formol a 10% neutro tamponado. A confecção das lâminas histológicas seguiu os mesmos adotados para os fragmentos de intestino. Foram analisados 15 folículos completos por lâmina, correspondente a uma ave por parcela experimental. Foram escolhidos

para leitura, folículos em que o corte passou pela região central. Cada folículo selecionado foi circundado por uma linha, obtendo-se a área folicular total e, em seguida, delimitada a porção medular do mesmo folículo, passando uma linha sobre a membrana basal que divide a área cortical da medular para cálculo da porcentagem de córtex folicular.

### **2.1.2. Análise Estatística**

Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância e complementados pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ( $P < 0,05$ ) pelo procedimento *General Linear Model* (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (2002). Para os níveis de *B. dracunculifolia* não foram realizadas análises de regressão nos casos em que o modelo não foi significativo ou quando o ajuste mostrou impossibilidade de obtenção de resultados biológicos adequados ( $R^2 < 0,70$ ), pelo procedimento Proc Reg do SAS (2002). Para a análise de título de anticorpos contra o vírus da Doença de NewCastle, os dados foram transformados para em  $\log_2$ .

## **2.2. Experimento II**

O segundo experimento foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu, no galpão experimental das instalações do Laboratório de Nutrição de Aves. Foram utilizados 720 pintos de corte machos de um dia de idade, da linhagem Cobb, vacinados no incubatório contra doenças de Marek, Gumboro e Bouda aviária, casualmente distribuídos em 2 grupos submetidos a 6 tratamentos.

Água e ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental e o programa de luz seguiu recomendação do manual da linhagem. A temperatura e ventilação foram controladas a fim de manter a zona de conforto térmico para cada fase de criação.

Como tecidos de elevada importância para o metabolismo e desenvolvimento sadio da ave, bem como representativos das condições de saúde dos animais e altamente responsivos às alterações nas dietas, a mucosa intestinal e o fígado foram os tecidos eleitos para estudo de *turnover* isotópico e influência da adição de extrato de *B. dracunculifolia* sobre os mesmos.

Os mesmos tratamentos do primeiro experimento foram mantidos: DC; DC+0,1% EBD; DC+0,2% EBD; DC+0,3% EBD; DC+0,4% EBD e DC + AMD, bem como seus níveis nutricionais. Foi utilizado o mesmo extrato (EBD) do primeiro experimento.

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que receberam dietas compostas predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (a base de milho e soja). Ao nascerem, estes possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de carbono-13 semelhantes ao destas dietas ( $\delta^{13}\text{C}=-18,65\%$ ). Após o alojamento, para avaliar a taxa de *turnover* nos tecidos, um primeiro grupo de aves passou a receber uma dieta predominantemente composta por plantas do ciclo C<sub>3</sub> (Tabela 2), possuindo sinal isotópico de <sup>13</sup>C diferente das dietas C<sub>4</sub> fornecida às matrizes ( $\delta^{13}\text{C} \sim -28\%$ ), essa mudança objetivou provocar alteração no sinal isotópico do tecido animal para captar a taxa de *turnover* do fígado e mucosa intestinal e, com isso, determinar a influência do uso de *Baccharis dracunculifolia* nas taxas de renovação tecidual destes animais. Um segundo grupo permaneceu sendo alimentado com dietas à base de milho (Tabela 1), idênticas às do experimento I, até os 21 dias de idade, quando ocorreu a substituição por dietas de arroz, a fim de avaliar as taxas de *turnover* no período de 21 a 49 dias de idade.

Tabela 2. Composição centesimais e nutricionais das dietas experimentais.

	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Arroz, Quirera	52,000	56,176	58,821	60,732
Farelo de Soja, 45%	38,050	34,480	31,215	28,887
Amido	1,726	1,726	1,712	1,712
Fosfato Bicálcico	2,032	1,645	1,413	1,413
Bicarbonato de Sódio	0,180	0,138	0,120	0,120
Calcário Calcítico	0,823	0,825	0,762	0,762
Óleo de Soja	3,335	3,346	4,372	4,900
DL-Metionina (99%)	0,382	0,314	0,283	0,200
L-Lisina HCl (78,4%)	0,272	0,194	0,173	0,154
L-Treonina (98,5%)	0,150	0,106	0,089	0,080
Cloreto de Colina	0,060	0,060	0,060	0,060
Sal Comum	0,390	0,390	0,380	0,380
Inerte	0,400	0,400	0,400	0,400
Premix Vit. e Min.*	0,200	0,200	0,200	0,200
Composição nutricional calculada				
EM (kcal/kg)	2950	3000	3100	3151
PB (%)	22,204	20,803	19,501	18,538
Cálcio (%)	0,920	0,819	0,732	0,727
Fósforo disponível (%)	0,470	0,391	0,342	0,337
Metionina dig. (%)	0,676	0,596	0,552	0,460
Metionina+cistina dig. (%)	0,943	0,847	0,786	0,682
Lisina dig. (%)	1,318	1,174	1,080	1,010
Treonina dig. (%)	0,854	0,764	0,701	0,660
Potássio (%)	0,795	0,738	0,683	0,644
Sódio (%)	0,221	0,210	0,201	0,201
Cloro (%)	0,272	0,272	0,266	0,265
Ácido linoleico (%)	2,319	2,308	2,842	3,112

\*Premix vitamínico e mineral para frangos de corte (Tortuga®), níveis de garantia por kg de ração: Vit. A, 11.092 UI; Vit. D3, 2.678 UI; Vit. E, 24,86 UI; Ácido Fólico, 0,99 mg; Ácido Pantotênico, 11,78 mg; Vit. B6, 2,49 mg; Biotina, 0,1 mg; Niacina, 30,0 mg; Vit. B2, 4,5 mg; Vit. B1, 2,01 mg; Vit. B12, 12,00 µg; Vit. K3, 1,89 mg; Fe, 49,60 mg; Cu, 8,56 mg; Mn, 66,6 mg; Zn, 51,36 mg; I, 1,0 mg; Se, 0,3 mg; BHT, 2 mg.

As substituições das dietas C<sub>4</sub> por dietas C<sub>3</sub> seguiram a ordem apresentada na Tabela 3.

A substituição dividida em dois grupos objetivou avaliar o *turnover* tecidual em duas fases de crescimento da ave, o número de coleta das amostras foi mais concentrado nos primeiros dias de cada início dos tratamentos, devido à maior velocidade na diluição isotópica do carbono no tecido durante essa fase (Hobson & Clark, 1992). A primeira coleta de cada grupo foi realizada sempre no momento anterior à troca das dietas para detecção do sinal isotópico inicial dos tecidos.

Tabela 3. Distribuição dos grupos experimentais.

Grupos	Substituição das dietas (idade)	Período avaliado (dias de idade)	Dias de idade das aves no momento das coletas de tecidos
G1	0*	0 a 21	0; 0,5; 1; 2; 4; 7; 11; 14; 18; 21
G2	21	21 a 49	21; 22; 24; 27; 31; 35; 38; 42; 49

\*Dia 0 = considerado o momento de alojamento dos pintos de corte

Nos dias de coleta foram tomadas aleatoriamente 6 aves por grupo cujas dietas foram previamente substituídas, sendo que, cada ave foi considerada uma repetição, e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical. Foram coletadas amostras de fígado e mucosa intestinal. Na primeira e segunda coletas do grupo 1, cada amostra foi composta por um *pool* de três aves, na terceira coleta o *pool* foi composto de duas aves por amostra, esse procedimento visa a obtenção de volume amostral adequado.

As amostras de mucosa do intestino delgado (duodeno) foram obtidas por meio de raspagem com lamínula de vidro, acondicionadas em tubos plásticos de 1 mL, identificadas e imediatamente congeladas a - 20°C para liofilização.

Para o processo de liofilização, os microtubos plásticos foram congelados em nitrogênio líquido e posteriormente acomodados nas prateleiras da câmara de vácuo do aparelho ThermoFisher Scientific® modelo micro modulo 115, iniciando-se o processo de liofilização. Após 30 minutos de aplicação de vácuo constante foi iniciado o processo de aquecimento das amostras, por meio da fonte de calor do equipamento. Ao final de 24 horas do processo de liofilização as amostras foram retiradas.

As amostras de fígado foram coletadas em sacos plásticos identificados e congeladas imediatamente. O processamento dessas amostras consistiu de descongelamento em temperatura ambiente e lavagem com água destilada para retirada de contaminantes e posterior secagem em estufa com circulação forçada de ar a 56°C por 72 horas. O material seco foi submetido à extração de gorduras via Soxhlet para, em seguida, ser moído em moinho

criogênico a  $-195^{\circ}\text{C}$  a fim de se obter um material homogêneo de finíssima granulometria (menor que  $60\mu\text{m}$ ).

As análises isotópicas das amostras foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Campus de Botucatu. Foram pesadas alíquotas de 50 a  $70\mu\text{g}$  em cápsulas de estanho, introduzidas no espectrômetro de massa e queimadas quantitativamente para obtenção de  $\text{CO}_2$  e determinação das razões isotópicas de carbono.

Para a determinação da composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massa DELTA-S (*Finnigan Mat*) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 CHN), de acordo com método descrito por Ducatti *et al.* (1979).

Os resultados foram expressos em notação  $\delta^{13}\text{C}$ , em relação ao padrão Peedee Belemnite (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰, calculado pela equação 1:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{amostra, padrão})} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3 \quad (1)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}$  = enriquecimento relativo da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  da amostra em relação ao padrão PDB em partes per mil (‰). Adimensional;

R = razão isotópica ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono da mucosa intestinal e fígado depois de determinado intervalo de tempo, foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (Ducatti *et al.*, 2002):

$$\delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + [\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)]e^{-(k+m)t} \quad (2)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}(t)$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t). Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(f)$  = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final.

Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(i)$  = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial. Adimensional;

$k$  = constante de crescimento em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

$m$  = constante de *turnover* metabólico em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

$t$  = tempo (em dias) desde a substituição da ração.

O tempo (T) necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais pode ser determinada pela equação 3, na qual o valor de  $f$  (átomos trocados) pode variar de zero (0) a 0,9999, para o cálculo de meia vida,  $f$  assume o valor de 0,5:

$$T = -1/(k+m) \ln(1-f) \quad (3)$$

Onde:

$T$  = meia vida em unidade de tempo (dias);

$\ln$  = logaritmo niperiano;

$k$  = constante de crescimento em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

$m$  = constante de *turnover* metabólico em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

Uma estimativa da taxa de crescimento (constante  $k$ ), requerida na equação acima, foi calculada com uma derivação de equação de crescimento exponencial (equação 4):

$$W = W_0 \times e^{kt} \quad (4)$$

Onde:

$k$ : constante de crescimento em unidades de tempo<sup>-1</sup>;

$W_0$ : peso médio inicial dos frangos;

$W$ : peso da ave no dia da coleta;

$t$ : tempo (em dias) desde a substituição da ração.

A meia-vida fornece a estimativa de “velocidade” no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (Ducatti *et al.*, 2002).

Obtendo  $k+m$  através da análise isotópica e  $k$  através da curva exponencial de crescimento,  $m$  é obtido por subtração simples.

### 2.1.2. Análise dos Dados

Os dados obtidos pela análise isotópica no experimento II foram analisados pelo ajuste da regressão não linear exponencial de primeira ordem no software OriginPro® 8 Professional (Microcal Software, 2007).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Experimento I

Não houve diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as variáveis de desempenho dos frangos aos sete dias de idade (Tabela 4), indicando ausência do efeito do aditivo alternativo na fase pré-inicial. Entretanto ao final da fase inicial das aves, aos 21 dias, observou-se efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre a viabilidade, sendo que o tratamento DC+0,2% EBD apresentou menor viabilidade comparado aos tratamentos DC, DC+0,1% EBD e DC+AMD, não diferindo dos demais.

No desempenho aos 35 dias de idade (Tabela 4) observou-se efeito da suplementação sobre o peso corporal e ganho de peso das aves, sendo que os tratamentos DC+0,2% EBD e DC+0,4% EBD apresentaram resultados piores quando comparados aos tratamentos DC, DC+AMD ou demais tratamentos com inclusão de EBD. O efeito desaparece aos 42 dias de idade. O índice de eficiência produtiva ao final do período de criação não foi afetado pela inclusão de extrato de *B. dracunculifolia*.

Os resultados deste estudo corroboram os de Miguel *et al.* (2009), que também não observaram efeito sobre o desempenho de 1 a 7 dias em frango de corte alimentados com extratos vegetais. Toledo *et al.* (2007) não encontraram diferenças no desempenho de frangos de corte na fase inicial e final de criação alimentados com antibiótico e/ou mistura de óleos essenciais de orégano, canela, eucalipto, artemísia e trevo.



Tabela 4. Desempenho de frangos de corte recebendo dietas contendo diferentes níveis extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* e AMD.

	Tratamento						P*	CV <sup>5</sup> (%)
	DC <sup>2</sup>	DC+0,1% EBD <sup>3</sup>	DC+0,2% EBD	DC+0,3% EBD	DC+0,4% EBD	DC+ AMD <sup>4</sup>		
7 dias								
PC, g	165,0	160,7	155,7	163,3	160,4	163,5	0,722	6,63
GP, g	17,2	16,4	15,73	16,79	16,46	16,8	0,695	9,31
CR, g	143,9	142,9	134,2	145,2	147,8	141,1	0,623	9,27
CA	1,200	1,245	1,236	1,245	1,304	1,207	0,298	6,12
VB, %	98,9	98,9	94,4	97,8	96,0	99,3	0,065	3,09
21 dias								
PC, g	831,8	820,2	805,8	818	801,3	867,1	0,165	5,01
GP, g	37,5	36,9	36,2	36,7	36,0	39,1	0,168	5,29
CR, g	1190,5	1180,7	1168,7	1174,9	1203,0	1216,9	0,471	3,67
CA	1,516	1,529	1,567	1,553	1,608	1,490	0,339	5,65
VB, %	98,9a	97,7a	92,2b	95,0ab	95,3ab	98,0a	0,003	2,92
35 dias								
PC, g	2137,8a	2136,0a	2095,1b	2142,0a	2097,4b	2232,6a	0,013	2,82
GP, g	59,8ab	59,7ab	58,5b	58,9ab	58,6b	62,5a	0,013	2,87
CR, g	3355,6	3329,9	3305,3	3320,4	3331,1	3405,7	0,477	2,55
CA	1,599	1,601	1,637	1,610	1,652	1,582	0,102	2,57
VB, %	98,3	97,1	92,5	94,2	93,8	95,1	0,155	4,15
42 dias								
PC, g	2802,9	2771,0	2763,1	2859,9	2743,6	2881,4	0,284	4,02
GP, g	65,6	64,9	64,7	67,0	64,2	67,5	0,293	4,08
CR, g	4731,4	4664,1	4707,1	4670,8	4674,5	4748,6	0,683	2,23
CA	1,739	1,732	1,748	1,700	1,748	1,708	0,379	2,67
VB, %	94,8	94,8	91,9	91,9	92,4	92,9	0,815	5,27
IEP	351,68	349,05	334,25	357,06	334,12	361,53	0,422	7,62

<sup>1</sup>PC: peso corporal; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; VB: viabilidade. <sup>2</sup>Dieta controle. <sup>3</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>4</sup>Dieta controle + virginiamicina + salinomicina. <sup>5</sup>CV, Coeficiente de variação

\* Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

Avaliando diferentes níveis de extrato de orégano em dietas de frangos de corte Fukayama *et al.* (2005) não observaram diferenças dos diferentes níveis de extrato de orégano, dieta sem aditivo e dieta com antibiótico promotor de crescimento sobre o desempenho das aves e morfometria de órgãos linfoides aos 21 e 42 dias de idade. Os autores afirmam que somente em condições de desafio sanitário suficiente os aditivos melhoradores de desempenho

passam a exercer suas funções podendo explicar porque até mesmo o tratamento sem inclusão de *B. dracunculifolia* e AMD se igualou aos demais no presente estudo.

Barreto *et al.* (2008) avaliando a eficácia individual de diferentes extratos de plantas com seus respectivos óleos essenciais (canela - cinamaldeído, cravo - eugenol, orégano - carvacrol e pimenta vermelha - capsaicina) como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho não observaram diferença entre os tratamentos para desempenho de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Assim como no presente estudo, os autores avaliaram a eficácia individual de extratos de plantas, sendo que a combinação de diferentes extratos e conseqüentemente de vários princípios ativos pode trazer resultados benéficos (Langhout, 2000; Manzanilla *et al.*, 2004) o que explicar parcialmente a ausência de resultados positivos com inclusão apenas do extrato de *B. dracunculifolia*.

Ainda, devemos considerar a dosagem do extrato, 20% no produto obtido de indústria farmacêutica, o que pode não ser suficiente para produzir resultados, evidenciando que pesquisas futuras com extratos mais concentrados podem gerar diferentes resultados.

Rizzo *et al.* (2010) trabalhando com suplementação de dietas com várias misturas de aditivos fitogênicos (óleos essenciais de cravo, tomilho, canela e pimenta; óleos essenciais sintéticos de orégano e canela mais óleo-resina de pimenta micro encapsulados; óleo de eucalipto, óleo essencial de canela-da-china, folhas de boldo-do-chile e sementes de fenogrego) também não observaram nenhum efeito sobre o desempenho de frangos de corte, os autores atribuem a falta de efeito à ausência de desafios e a utilização de ingredientes de alta digestibilidade, como no presente estudo. Da mesma forma, Freitas *et al.*, (2001) realizaram experimentos alojando frangos em baterias com adição de alho às dietas e observaram que não houve efeito dos AMD no desempenho. Segundo esses autores é possível esperar ação dos antibióticos onde o desafio sanitário é maior, em granjas comerciais ou até mesmo em alojamentos sobre cama de aviário.

A ausência de desafio pode explicar a ausência de diferenças entre os tratamentos aos 42 dias de idade dos frangos, sugerindo que, mesmo alojados sobre cama de frango reutilizada por duas vezes, isto pode não ter gerado desafio suficiente para estimular resposta adequada das aves. Uma vez que, em outras pesquisas, como a de Christaki *et al.* (2004), trabalhando com frangos desafiados com coccidiose, observaram desempenho superior em aves alimentadas com dieta suplementada com aditivos fitogênicos em comparação às aves do grupo controle negativo, com desempenho inferior às aves que receberam dieta contendo anticoccidiano.

Já Miguel *et al.* (2009), observaram melhores resultados de desempenho, de 1 a 42 dias de idade, em aves desafiadas com coccidiose e alimentadas com aditivos fitogênicos (óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Fenogreco, extrato de curcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva), em relação às aves do tratamento controle negativo e, inclusive, em relação às alimentadas com dieta contendo antibióticos melhoradores de desempenho. Estes resultados indicam que, sob desafio conhecido, os fitogênicos podem igualar ou até superar os AMD.

Konjufca *et al.* (1997) adicionando alho em pó em até 4,5% às dietas de frangos de corte não resultou em aumento no ganho de peso e na eficiência alimentar. Da mesma maneira a adição de até 0,6% de alho fresco às dietas não resultou em efeito no desempenho de frangos (Freitas *et al.*, 2001). Embora as propriedades antibacterianas e antifúngicas da alicina, princípio ativo do alho, estejam bem documentadas (Miron *et al.*, 2000), existe uma dificuldade em reproduzir propriedades de compostos fitogênicos *in vivo*, entretanto não podemos descartar a possibilidade de que a inclusão do extrato de *B. dracunculifolia* em outras formas, partes da planta moídas, por exemplo, ao invés de um extrato alcoólico, e em outros graus de pureza, possam trazer resultados variados; sugere-se, então, que o processamento pode ter resultado em diminuição da eficácia do princípio ativo da planta.

Não houve diferenças para o peso relativo de órgão das aves aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 5) entre os tratamentos.

Mahdavi *et al.* adicionando *Aloe vera* em gel às dietas de frangos de corte, observaram desempenho semelhante à dieta controle com AMD e produção de anticorpos contra hemácias de carneiro aos 42 dias de idade superiores ao tratamento com AMD no nível de 1% de inclusão do gel, enquanto Mehala & Moorthy (2008) adicionando *Aloe vera* em pó às dietas em 0,1 e 0,2% não encontraram efeitos no desempenho em comparação ao controle sem o extrato. Podemos inferir, comparando as pesquisas citadas, que o nível de inclusão influencia amplamente a resposta, bem como pode existir efeito da forma de aplicação dos extratos. É possível que níveis mais elevados de inclusão pudessem afetar os resultados deste estudo, bem como outra forma de inclusão que não a de extrato hidroalcoólico.

Basmacioğlu Malayoğlu *et al.* (2010), em estudos com óleos essenciais ou associação destes com extratos vegetais, também não observaram diferenças no peso relativo de órgãos do sistema digestório ou imune. Hernández *et al.* (2004), avaliando dietas com óleos essenciais de orégano, canela, pimenta e extratos de salsa, tomilho e alecrim, não verificaram diferenças significativas nos pesos dos seguintes órgãos: fígado, moela, intestino delgado e intestino grosso. Çabuk *et al.* (2006), avaliando uma dieta suplementada com uma mistura dos óleos essenciais de orégano, louro, sálvia, anis e óleos essenciais cítricos, demonstraram que a adição destes não afetaram os pesos de órgãos, tais como o fígado, pâncreas, pró-ventrículo, moela e intestino delgado. Esses estudos corroboram os resultados encontrados, onde extratos isolados ou combinados fornecidos às aves em baixo desafio sanitário e recebendo dietas de alta digestibilidade não demonstram estímulo adequado aos órgãos do sistema imune e digestório para maior desenvolvimento e conseqüente para resposta em desempenho e imunoestimulação.

Tabela 5. Peso relativo de órgãos<sup>1</sup> (%) de frangos de corte recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* aos 21 e 42 dias de idade.

	Tratamentos						P*	CV <sup>5</sup> (%)
	DC <sup>2</sup>	DC+0,1% EBD <sup>3</sup>	DC+0,2% EBD	DC+0,3% EBD	DC+0,4% EBD	DC+ AMD <sup>4</sup>		
21 dias								
Bursa	0,26	0,24	0,23	0,24	0,23	0,29	0,56	24,95
Timo	0,64	0,64	0,69	0,59	0,75	0,60	0,44	22,43
Baço	0,15	0,13	0,10	0,10	0,12	0,11	0,06	22,57
Fígado	2,89	3,10	2,75	2,78	2,77	2,72	0,20	9,87
Pâncreas	0,36	0,41	0,37	0,40	0,36	0,37	0,56	14,18
Intestino	9,62	9,85	9,78	9,68	9,43	9,52	0,99	13,10
42 dias								
Bursa	0,17	0,14	0,16	0,16	0,16	0,14	0,77	31,53
Timo	0,56	0,50	0,50	0,47	0,52	0,40	0,75	36,88
Baço	0,12	0,10	0,11	0,09	0,11	0,11	0,75	29,54
Fígado	1,79	1,74	1,79	1,79	1,82	1,65	0,83	13,20
Pâncreas	0,18	0,19	0,19	0,18	0,20	0,15	0,10	17,66
Intestino	4,63	4,58	4,94	4,40	4,06	4,68	0,32	14,37

<sup>1</sup>Peso relativo de órgãos (%) = (peso do órgão, g/peso vivo, g) x100. <sup>2</sup>Dieta controle. <sup>3</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>4</sup>Dieta controle + virginiamicina + salinomicina. <sup>5</sup>CV, Coeficiente de variação.

\* Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (5%).

Ainda, a ausência de diferença entre o peso relativo de pâncreas pode indicar que o aditivo não estimula a secreção enzimática nos níveis estudados, esse estímulo também pode não ter sido observado no intestino, uma vez que o peso relativo dos mesmos entre os tratamentos não difere. A maior produção de enzimas poderia ter gerado resposta no desempenho.

Para o percentual de área cortical da bolsa cloacal, o tratamento DC+0,2% EBD apresentou a maior área de cortical em relação ao DC+AMD, não diferindo dos demais tratamentos, todos os outros níveis de inclusão não diferiram entre si ou em relação ao AMD. A titulação de anticorpos contra Doença de Newcastle aos 21 e aos 42 dias de idade (Tabela 6)

não indicou efeito da suplementação com extrato hidroalcoólico de *B. dracunculifolia* em ambas as idades de análise.

Tabela 6. Percentual de área de cortical da Bursa de Fabrício (CB) e valores de títulos de anticorpos (AC) de frangos de corte vacinados contra o vírus da Doença de NewCastle, (expresso em  $\text{Log}_2$ ) recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* aos 21 e 42 dias de idade.

	Tratamentos						P*	CV <sup>4</sup> (%)
	DC <sup>1</sup>	DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	DC+0,2% EBD	DC+0,3% EBD	DC+0,4% EBD	DC+ AMD <sup>3</sup>		
CB 21 dias	48,693	47,351	48,927	47,173	48,229	45,335	0,42	6,72
CB 42 dias	52,959 ab	51,116 ab	55,458a	52,393 ab	51,602ab	50,508b	0,05	5,13
AC 21 dias	3,471	3,623	3,556	3,485	3,586	3,451	0,39	6,14
AC 42 dias	2,890	2,732	2,660	2,776	2,663	2,763	0,83	15,15

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>Dieta controle + virginiamicina + salinomicina. <sup>4</sup>CV, Coeficiente de variação

\* Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (5%).

Os resultados deste estudo corroboram outras pesquisas que não observaram diferenças na produção de anticorpos em aves alimentadas com orégano (Basmacioğlu Malayoğlu *et al.*, 2010), sementes de anis (Soltan *et al.* 2008) e polifenóis extraídos de tamarindo (Srikhun *et al.*, 2010).

Embora ganho de peso seja inferior nos frangos do tratamento DC+0,2% EBD até os 35 dias, observamos aqui que a produção de anticorpos foi compensada pelo aumento na área do córtex da bolsa cloacal. Como a região cortical é o local onde ocorre a maior parte da diferenciação e maturação de linfócitos B, pode-se presumir que a maior porcentagem de área cortical implica em melhores condições para resposta imune frente a desafios infecciosos o que pode explicar, em parte, a ausência de diferenças no desempenho aos 42 dias de idade no desempenho mesmo quando a tendência, observada aos 35 dias, era de queda nas aves do tratamento DC+0,2% EBD.

Neste estudo pode-se sugerir que o extrato hidroalcoólico de *B. dracunculifolia* pode apresentar efeito imunoestimulante em dietas de frangos de corte, entretanto, ressalta-se que há a necessidade de maior desafio sanitário em experimentos futuros.

Na histomorfometria do intestino aos 21 dias de idade (Tabela 7) observou-se aumento na profundidade de cripta do duodeno das aves do tratamento DC+0,2% EBD em relação ao DC+AMD, os demais tratamentos não diferiram entre si ou em comparação ao AMD.

Os resultados da histomorfometria das vilosidades aos 21 dias de idade corroboram estudos realizados com extrato de orégano (Fukayama *et al.*, 2005), alho em pó (Carrijo *et al.*, 2005), mistura de extratos vegetais e ácidos fórmico e propiônico (Gunal *et al.*, 2006).

Segundo Applegate *et al.* (2010), o efeito dos aditivos fitogênicos sobre a microflora e morfologia intestinal, digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, sobre o desempenho do animal, depende do nível de inclusão na dieta. Outras pesquisas revelam melhora nas vilosidades quando se administrou às aves aditivos fitogênicos compostos por orégano, canela e pimenta (Jamroz *et al.*, 2006) e extratos vegetais e argila ativada (Fascina *et al.*, 2009).

Devido a relativa escassez de trabalhos sobre os efeitos dos variados AF sobre as vilosidades intestinais podemos inferir que, provavelmente, a ausência de efeito de *B. dracunculifolia* sobre as vilosidades intestinais, possa ser decorrente do tipo de princípio ativo utilizado e seu nível e forma de inclusão, ou ainda que o princípio ativo possa ter causado alguma reação irritante à mucosa intestinal, causando aumento significativo na profundidade de cripta, o que pode indicar efeito deletério na saúde intestinal e explicar parcialmente o efeito negativo do tratamento DC+0,2% EBD na viabilidade aos 21 dias.

Tabela 7. Altura das vilosidades (AV), profundidade de cripta (PC) e relação vilosidade/cripta (VC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 21 dias de idade.

Item	Tratamentos						P*	CV <sup>5</sup> (%)
	DC <sup>1</sup>	DC+0,1 % EBD <sup>3</sup>	DC+0,2 % EBD	DC+0,3 % EBD	DC+0,4 % EBD	DC+ AMD <sup>4</sup>		
Duodeno								
AV, $\mu\text{m}$	607,80	505,94	568,98	554,58	537,50	550,71	0,544	15,10
PC <sup>2</sup> , $\mu\text{m}$	91,73	94,47	109,95*	103,58	89,21	89,70	0,045	12,17
VC	6,79	5,48	5,31	5,59	6,12	6,30	0,407	20,69
Jejuno								
AV, $\mu\text{m}$	405,23	325,64	414,45	436,57	376,59	442,47	0,449	22,52
PC, $\mu\text{m}$	70,70	71,91	71,82	82,53	62,39	72,14	0,114	13,28
VC	5,90	4,70	5,84	5,37	6,16	6,22	0,352	19,19
Íleo								
AV, $\mu\text{m}$	247,55	260,22	272,64	257,89	252,02	243,17	0,824	14,92
PC, $\mu\text{m}$	54,18	63,72	63,72	60,02	50,49	50,75	0,081	17,34
VC	4,64	4,24	4,45	4,50	5,11	4,93	0,110	11,91

<sup>1</sup> Dieta controle. <sup>2</sup>  $PC = 88,98703 + 163,95488x - 401,5959x^2$ ;  $R^2 = 0,74$  (Ponto de máxima = 0,2%). <sup>3</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>4</sup>Dieta controle + virginiamicina + salinomicina. <sup>5</sup>CV, Coeficiente de variação

\*Médias seguidas de asterisco (\*) diferem significativamente do controle positivo (AMD) pelo teste de Dunnett.

Diferenças nas medidas histomorfométricas não foram encontrados aos 42 dias de idade (Tabela 8), a ausência de diferenças também no desempenho aos 42 dias de idade parece estar relacionada à ausência de efeito trófico ou deletério na mucosa intestinal ao final do período de criação.

A inclusão de extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* em quaisquer níveis, aos 42 dias de idade, não influenciaram no desenvolvimento das vilosidades nos diferentes segmentos de intestino estudados. Não houve diferença entre aves que receberam suplementação de fitogênicos e dietas sem suplementação quando comparadas com aves que receberam AMD, no desenvolvimento das vilosidades nos diferentes segmentos de intestino.



Tabela 8. Altura das vilosidades (AV), profundidade de cripta (PC) e relação vilosidade/cripta (VC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Item	Tratamentos						P*	CV <sup>4</sup> (%)
	DC <sup>1</sup>	DC+0,1 % EBD <sup>2</sup>	DC+0,2 % EBD	DC+0,3 % EBD	DC+0,4 % EBD	AMD <sup>3</sup>		
Duodeno								
AV, $\mu\text{m}$	527,97	563,65	642,42	582,72	583,30	536,02	0,202	14,13
PC, $\mu\text{m}$	95,80	87,86	105,37	84,74	94,05	87,54	0,143	14,90
VC	5,53	6,65	6,28	7,11	6,45	6,40	0,101	13,74
Jejuno								
AV, $\mu\text{m}$	405,94	408,16	379,80	442,49	382,57	350,99	0,579	22,06
PC, $\mu\text{m}$	68,74	67,13	68,85	74,46	64,80	69,10	0,585	13,01
VC	6,07	6,29	5,59	6,00	6,02	5,16	0,364	15,87
Íleo								
AV, $\mu\text{m}$	201,82	242,54	202,22	252,30	219,84	228,86	0,699	29,16
PC, $\mu\text{m}$	53,95	55,85	55,71	55,75	55,26	53,95	0,998	17,86
VC	3,76	4,48	3,77	4,56	4,02	4,29	0,342	18,79

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>Dieta controle + virginiamicina + salinomicina. <sup>4</sup>CV, Coeficiente de variação

\*Médias seguidas de asterisco (\*) diferem significativamente do controle positivo (AMD) pelo teste de Dunnett.

Podemos sugerir, neste caso, que outros fatores asseguraram a saúde intestinal, como a atividade da microbiota local e/ou maior secreção de enzimas pancreáticas e intestinais, o que aumenta a metabolizabilidade dos nutrientes e favorece o desenvolvimento da ave (Windisch *et al.*, 2008), provocando a ausência de diferença estatisticamente significativas ao final do período de testes.

A ausência de efeito positivo do EBD ao final dos 42 dias de idade ainda sugere que as aves estavam sadias ao final do período, que a microbiota daquelas alimentadas com EBD ou AMD não estava alterada, o que evidencia a ausência de desafio sanitário.

### 3.2. Experimento II

A Tabela 9 apresenta os resultados da meia vida em dias e o tempo para 99% de troca dos átomos de C da mucosa intestinal durante o primeiro período estudado, 0 a 21 dias de idade. Observamos que todos os tratamentos atingiram o patamar de equilíbrio isotópico.

Pode-se observar que aqueles animais que apresentaram a pior viabilidade no primeiro ensaio (tratamento DC+0,2% EBD), no período de 21 a 42 dias, apresentaram os menores valores de meia-vida e o menor período de tempo para 99% de troca de átomos, indicando que a mucosa intestinal dos mesmos se encontrava em alta atividade metabólica (anabólica e catabólica) fato comprovado pelas mensurações histomorfométricas, que indicaram maior profundidade de cripta, portanto maior atividade proliferativa celular, ao mesmo tempo a altura de vilosidades não difere, sugerindo alta descamação da mucosa seguida de tentativa de reparação por reposição celular nas criptas. Esse quadro não denota saúde intestinal, o que pode explicar em parte a queda de viabilidade aos 21 dias no primeiro ensaio. O aumento da atividade intestinal ainda pode explicar a ausência de diferenças no desempenho zootécnico das aves ao final do período de criação.

Tabela 9. Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 0 a 21 dias na mucosa intestinal de frangos de corte.

Tratamento	Meia-Vida (T, dias)	99% de troca (T, dias)
DC <sup>1</sup>	0,82	5,44
DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	1,12	7,43
DC+0,2% EBD	0,55	3,69
DC+0,3% EBD	0,72	4,79
DC+0,4% EBD	0,92	6,09
DC+AMD <sup>3</sup>	0,79	5,27

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

Na figura 1 estão representadas as curvas padrão de distribuição de valores do  $\delta^{13}\text{C}$  na mucosa intestinal do momento do alojamento, dia 0, até os 21 dias de idade. O valor isotópico analisado do carbono-13 na mucosa intestinal no momento do alojamento foi, em média, de -20,67‰, característico do milho, planta do ciclo  $\text{C}_4$  e proveniente da dieta das matrizes, e, ao final do primeiro período de coletas, aos 21 dias de idade, e após consumir dieta constituída predominantemente de arroz,  $\text{C}_3$ , o valor encontrado foi em média de -28,53‰, -27,60‰, -28,67‰, -28,38‰, -28,64‰ e -28,85‰, para DC, DC+0,1% EBD,

DC+0,2% EBD, DC+0,3% EBD, DC+0,4% EBD, DC+AMD, respectivamente, refletindo a assinatura isotópica característica das plantas  $C_3$ .

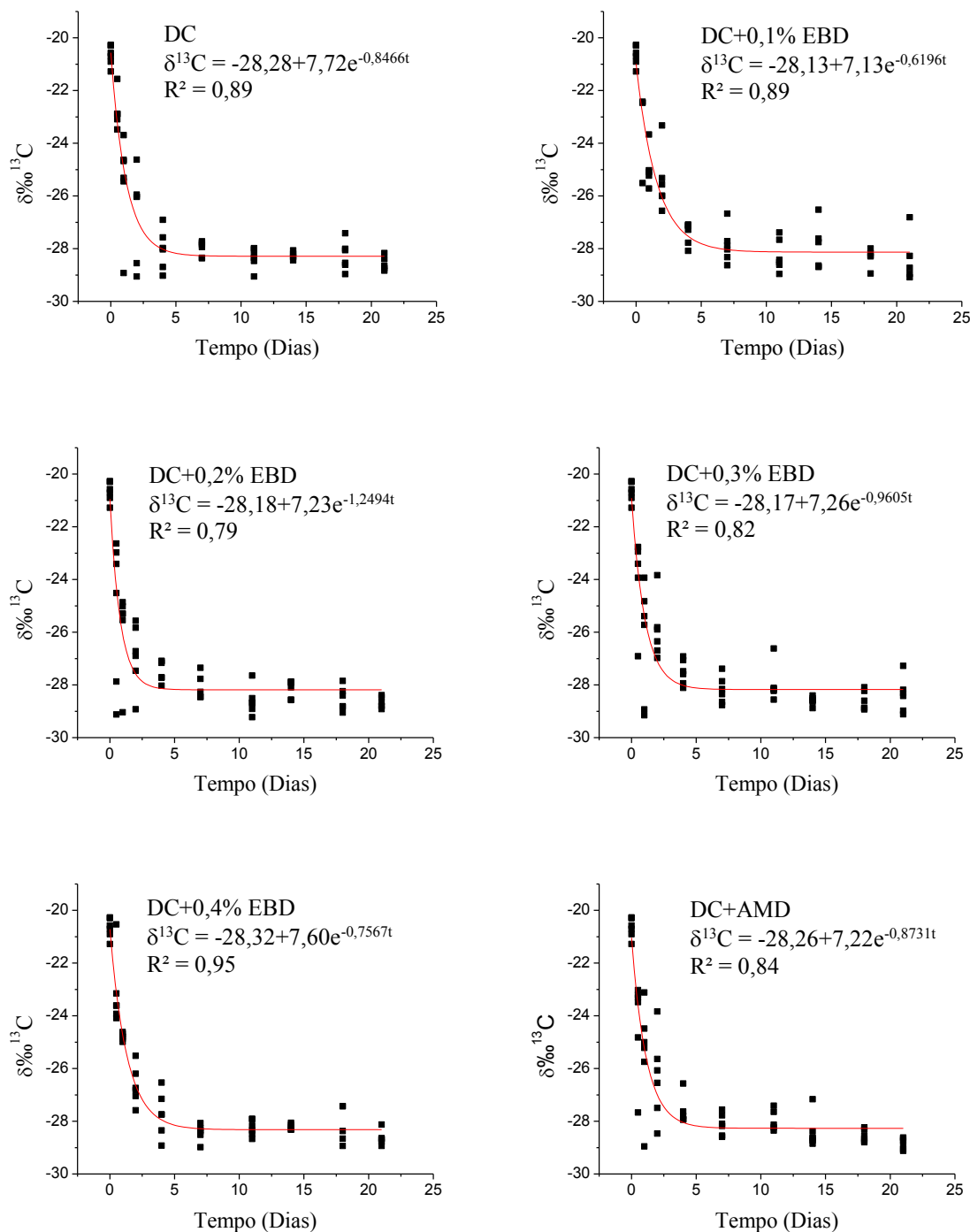


Figura 1. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade.

A Tabela 10 expressa os resultados da meia vida em dias e o tempo para 99% de troca dos átomos durante o segundo período de estudo, 21 a 49 dias de idade. Todos os tratamentos novamente atingiram o patamar de equilíbrio isotópico.

A semelhança entre a meia vida dos tratamentos corrobora a análise de desempenho do primeiro ensaio, sugerindo que a mucosa intestinal dos animais se encontrava em *turnover* semelhante, portanto em mesmo patamar de atividade metabólica, permitindo igual desempenho aos animais ao final do período de criação.

Embora haja discrepância no valor de meia-vida no tratamento DC+0,4% EBD, indicando aumento da atividade metabólica no período, o desempenho não mostrou resultados diretos.

Tabela 10. Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 21 a 49 dias na mucosa intestinal de frangos de corte.

Tratamento	Meia-Vida (T, dias)	99% de troca (T, dias)
DC <sup>1</sup>	1,06	7,01
DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	1,07	7,10
DC+0,2% EBD	1,14	7,60
DC+0,3% EBD	1,37	9,11
DC+0,4% EBD	0,86	5,74
DC+AMD <sup>3</sup>	1,12	7,43

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

A figura 2 mostra os modelos exponenciais do *turnover* de mucosa de 21 a 49 dias de idade. O comportamento das curvas evidencia novamente a troca total dos átomos de carbono, refletindo na mudança da assinatura isotópica para aquela característica das plantas do ciclo C<sub>4</sub>. O dia 0 na tabela representa a idade no início das coletas, neste caso, os 21 dias de idade das aves.

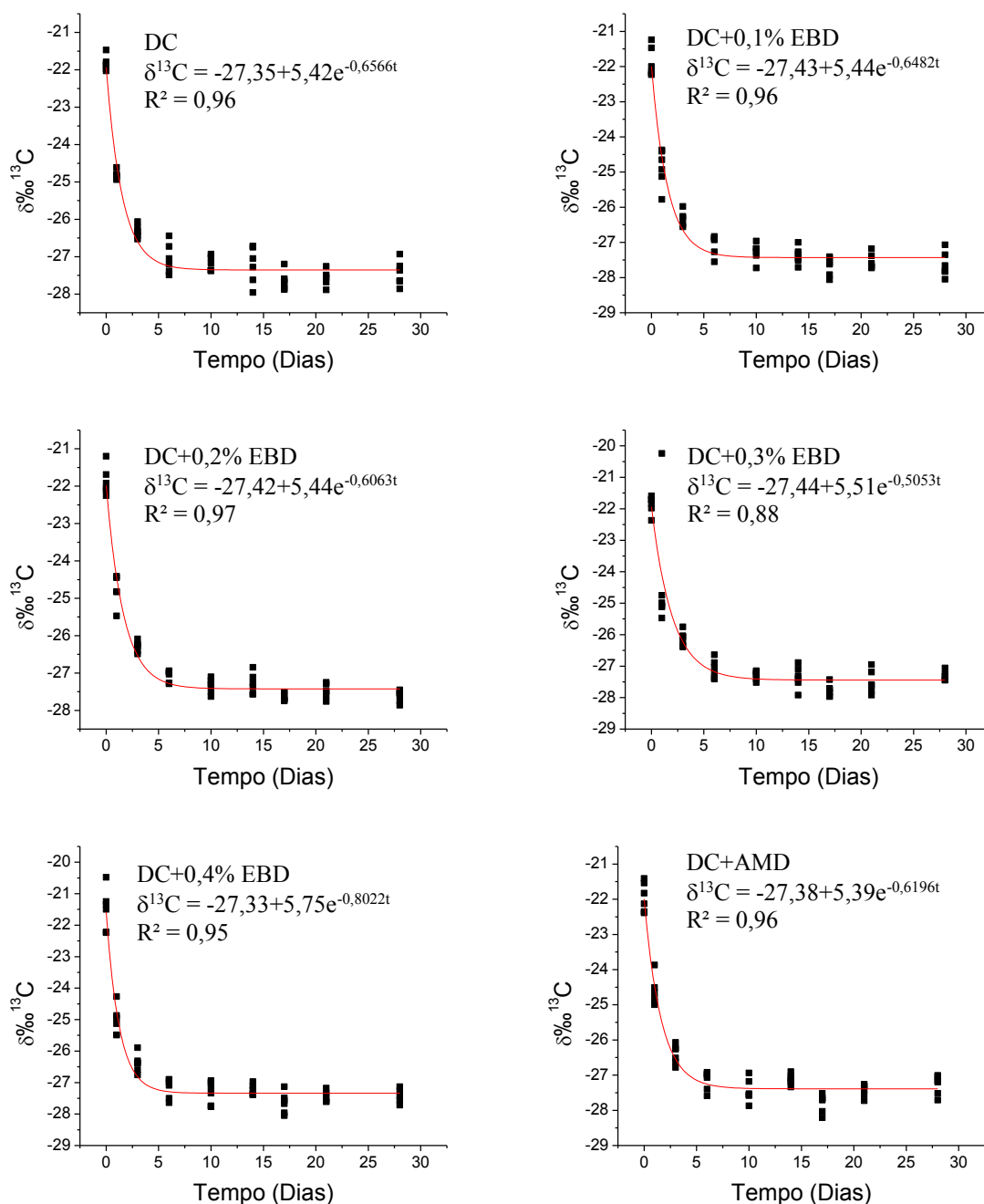


Figura 2. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade.

A Tabela 11 expressa os resultados da meia vida e o período para 99% de troca dos átomos de carbono do fígado dos frangos de corte do alojamento ao vigésimo primeiro dia de idade. Todos os tratamentos atingiram o patamar de equilíbrio isotópico.

Os valores obtidos no presente ensaio corroboram Mituo (2008) que, avaliando o *turnover* do carbono em diferentes tecidos de frango de corte, concluiu que, dentre os tecidos analisados, o fígado é um tecido que apresenta curta meia-vida; os maiores valores observados correspondem aos tratamentos com AMD (2,22 dias) e dieta controle sem aditivos (1,94 dias), a inclusão de extrato de *Baccharis dracunculifolia*, de maneira geral, reduziu a meia-vida do carbono no primeiro período de coletas

Tabela 11. Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 0 a 21 dias no fígado de frangos de corte.

Tratamento	Meia-Vida (T, dias)	99% de troca (T, dias)
DC <sup>1</sup>	1,94	12,89
DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	1,79	11,87
DC+0,2% EBD	1,72	11,45
DC+0,3% EBD	1,61	10,68
DC+0,4% EBD	1,83	12,14
DC+AMD <sup>3</sup>	2,22	14,77

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

A figura 3 mostra os modelos exponenciais do *turnover* de fígado de 0 a 21 dias de idade. O comportamento das curvas evidencia novamente a troca total dos átomos de carbono, refletindo na mudança da assinatura isotópica para aquela característica das plantas do ciclo C<sub>4</sub>. O dia 0 na tabela representa a idade no início das coletas, neste caso, os 21 dias de idade das aves.

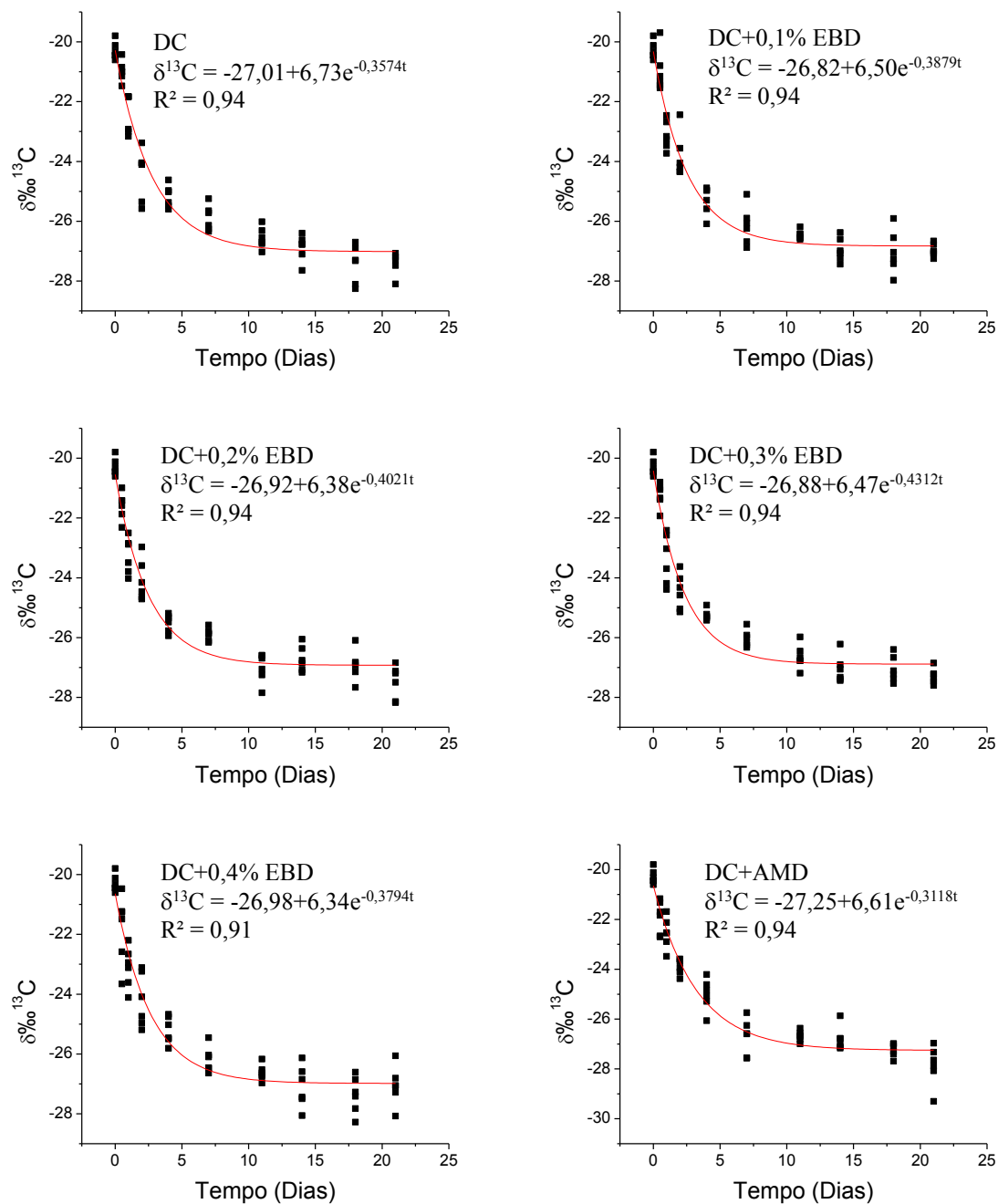


Figura 3. Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade.

Na Tabela 12 encontramos os resultados da meia vida, o período para 99% de troca dos átomos e a porcentagem de troca do  $^{13}\text{C}$  do fígado dos frangos de corte no segundo período de análises, 21 a 49 dias de idade. Seguindo a tendência da primeira coleta, todos os tratamentos atingiram o patamar de equilíbrio isotópico. O menor valor de meia-vida observado, 1,21 dias,

foi encontrado no tratamento DC+0,2% EBD, as maiores meias-vidas foram calculadas nos tratamentos DC e DC+AMD. Seguindo a lógica da meia-vida, o menor tempo para 99% de troca foi o dos tratamentos DC+0,2% EBD e DC+0,1% EBD, os maiores foram DC e DC+AMD, de maneira geral a inclusão de EBD acelerou a troca de carbono, indicando estresse no tecido.

Como tecido de grande importância ao metabolismo proteico (Guyton & Hall, 2006), o fígado apresenta intensa atividade metabólica, resultando em elevada taxa de *turnover* celular e valores baixos de meia-vida em ambos os períodos de coleta.

Tabela 12. Meia-vida e % de troca de carbono-13 no período de 21 a 49 dias no fígado de frangos de corte.

Tratamento	Meia-Vida (T, dias)	99% de troca (T, dias)
DC <sup>1</sup>	1,71	11,37
DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	1,35	8,99
DC+0,2% EBD	1,21	8,06
DC+0,3% EBD	1,60	10,60
DC+0,4% EBD	1,51	10,02
DC+AMD <sup>3</sup>	1,65	10,99

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

A figura 4 mostra os modelos exponenciais do *turnover* de fígado de 21 a 49 dias de idade. O comportamento das curvas evidencia novamente a troca total dos átomos de carbono, refletindo na mudança da assinatura isotópica para aquela característica das plantas do ciclo C<sub>4</sub>. O dia 0 no eixo “x” representa a idade no início das coletas, neste caso, os 21 dias de idade das aves. Guyton & Hall (2006), explicam o comportamento exponencial de todas as curvas de ambos os tecidos analisados pela elevada atividade metabólica dos mesmos, sendo considerados tecidos reativos quimicamente.



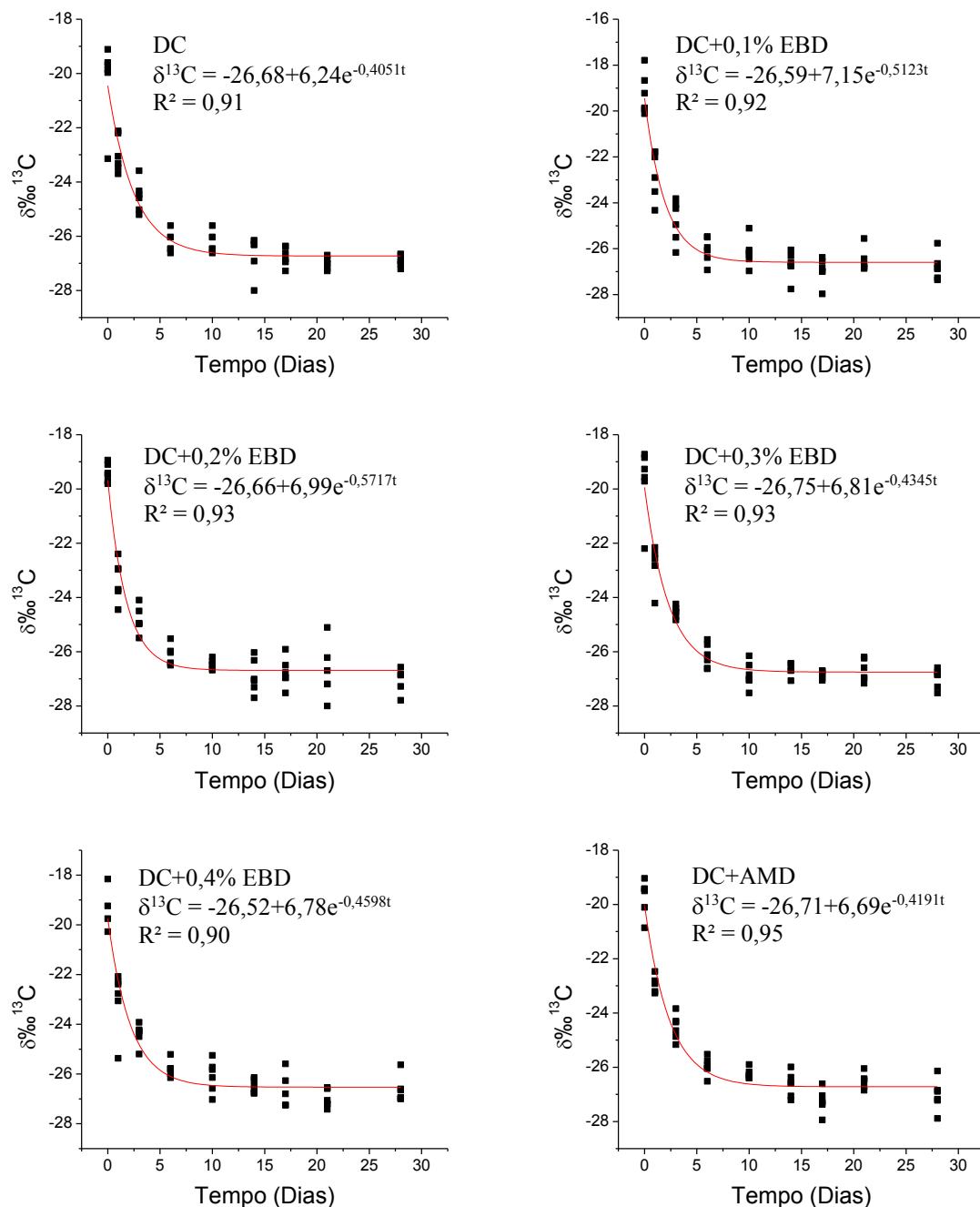


Figura 4. Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade.

O *turnover* nos tecidos resulta do catabolismo (quebra) e reposição dos componentes teciduais (proteínas, lipídeos e carboidratos) por rotas anabólicas. Em condições estáveis as taxas de quebra e reposição são semelhantes. No período de crescimento a formação de novos tecidos excede o catabolismo metabólico e a massa de tecido é aumentada devido à replicação

e aumento de tamanho das células. Portanto, a taxa de *turnover* tecidual depende da taxa de crescimento ( $k$ ), que reflete deposição de massa tecidual em relação à degradação, e a taxa de *turnover* metabólico ( $m$ ), que expressa o balanço entre quebra e ressíntese dos componentes teciduais (Millward, 1989; Wolfe & Chinkes, 2005).

Para avaliação das trocas isotópicas do carbono em ambos os tecidos, as constantes de *turnover* tecidual foram derivadas em constante de crescimento e metabolismo. As tabelas 13 e 14 expressam as constantes de *turnover* ( $k + m$ ), taxa de crescimento ( $k$ ) e taxa metabólica ( $m$ ) em intestino e fígado de frangos de corte em dois períodos de coleta.

Para derivação da constante de *turnover* tecidual foi necessária a pesagem individual de cada ave no momento do abate, os dados coletados geraram modelos de crescimento exponencial específicos para cada tratamento e fase de coleta, expostos nas figuras 5 e 6. O valor 0 do eixo  $x$  na Figura 6 representa o dia de idade no início das coletas, neste caso, 21 dias.

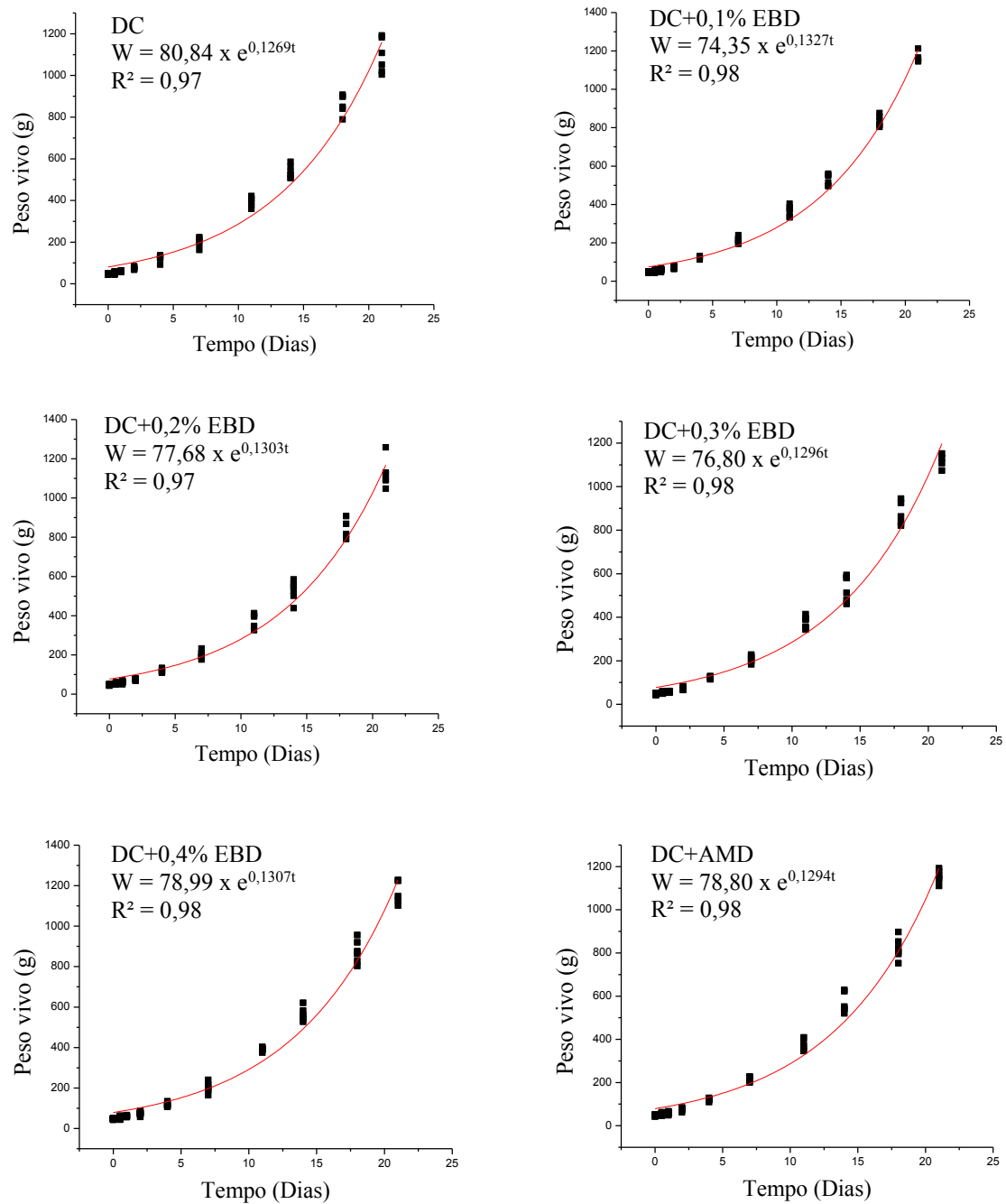


Figura 5. Curvas de crescimento exponencial de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 0 aos 21 dias de idade.

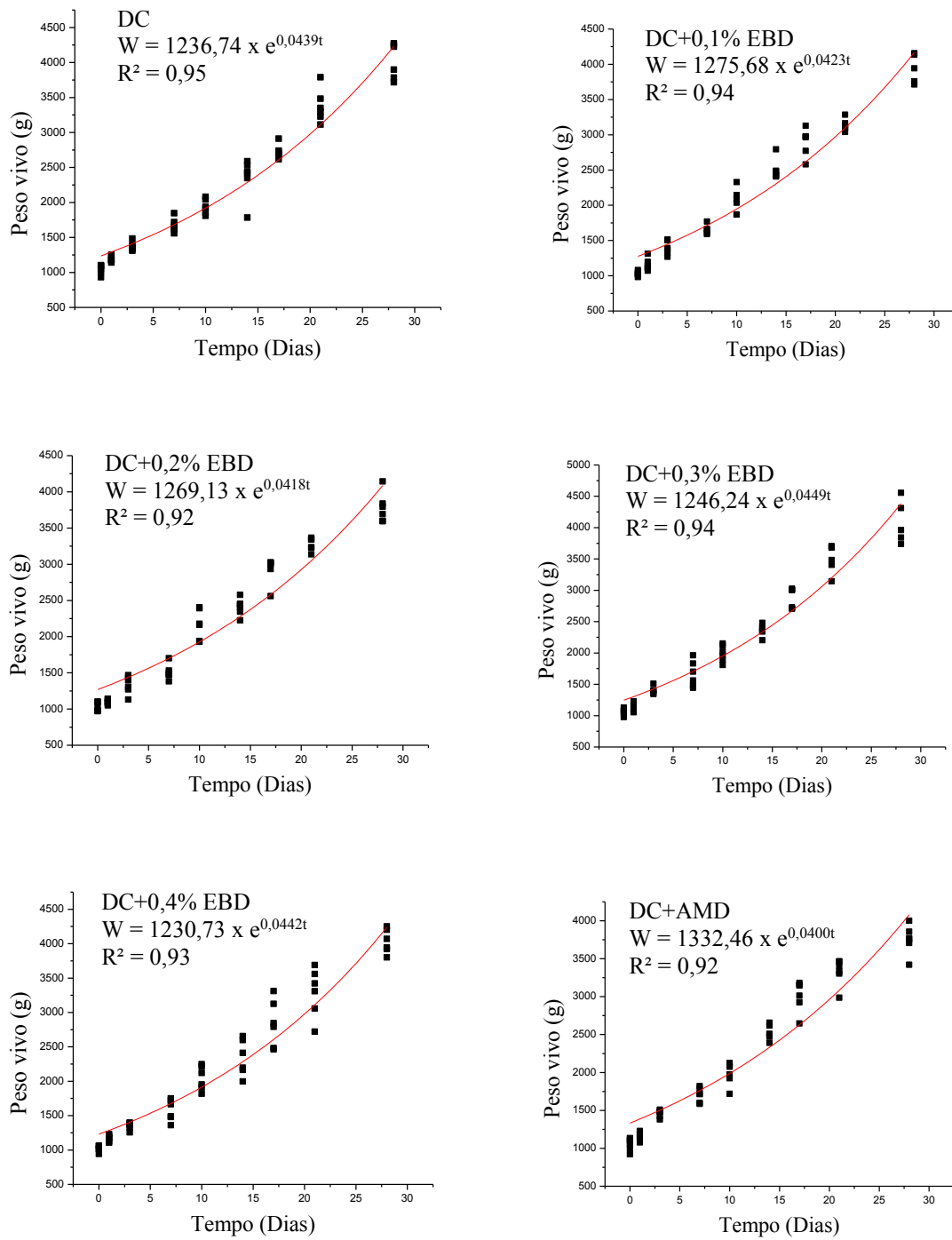


Figura 6. Curvas de crescimento exponencial de frangos de corte dos tratamentos experimentais dos 21 aos 49 dias de idade.

Tabela 13. Constantes de *turnover* tecidual ( $k + m$ ), taxa de crescimento ( $k$ ) e taxa metabólica ( $m$ ) do Carbono-13 na mucosa intestinal de frangos de corte em diferentes fases de crescimento e recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia*.

Fase de crescimento (dias de idade)	Tratamento	$k + m$ ( $d^{-1}$ )	$k$ ( $d^{-1}$ )	$m$ ( $d^{-1}$ )
0 a 21	DC <sup>1</sup>	0,8466	0,1269	0,7197
	DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	0,6196	0,1327	0,4869
	DC+0,2% EBD	1,2494	0,1303	1,1192
	DC+0,3% EBD	0,9605	0,1296	0,8309
	DC+0,4% EBD	0,7567	0,1307	0,6260
	DC+AMD <sup>3</sup>	0,8731	0,1294	0,7437
21 a 49	DC <sup>1</sup>	0,6566	0,0439	0,6126
	DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	0,6482	0,0423	0,6059
	DC+0,2% EBD	0,6063	0,0418	0,5646
	DC+0,3% EBD	0,5053	0,0449	0,4604
	DC+0,4% EBD	0,8022	0,0442	0,7580
	DC+AMD <sup>3</sup>	0,6196	0,0400	0,5796

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

Tabela 14. Constantes de *turnover* tecidual ( $k + m$ ), taxa de crescimento ( $k$ ) e taxa metabólica ( $m$ ) do Carbono-13 no fígado de frangos de corte em diferentes fases de crescimento e recebendo dietas contendo extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia*.

Fase de crescimento (dias de idade)	Tratamento	$k + m$ ( $d^{-1}$ )	$k$ ( $d^{-1}$ )	$m$ ( $d^{-1}$ )
0 a 21	DC <sup>1</sup>	0,3574	0,1269	0,2305
	DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	0,3879	0,1327	0,2552
	DC+0,2% EBD	0,4021	0,1303	0,2719
	DC+0,3% EBD	0,4312	0,1296	0,3016
	DC+0,4% EBD	0,3794	0,1307	0,2487
	DC+AMD <sup>3</sup>	0,3118	0,1294	0,1824
21 a 49	DC <sup>1</sup>	0,4051	0,0439	0,3612
	DC+0,1% EBD <sup>2</sup>	0,5123	0,0423	0,4700
	DC+0,2% EBD	0,5717	0,0418	0,5299
	DC+0,3% EBD	0,4345	0,0449	0,3896
	DC+0,4% EBD	0,4598	0,0442	0,4157
	DC+AMD <sup>3</sup>	0,4191	0,0400	0,3792

<sup>1</sup>Dieta controle. <sup>2</sup>EBD, extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* 20%. <sup>3</sup>AMD, dieta controle + virginiamicina + salinomicina.

A taxa de crescimento, para ambos os tecidos, apresentou redução de valor na mudança de fases de coleta, sendo consideravelmente reduzida no segundo período de coleta, segundo

Fauconneau *et al.* (1985), em condições normais, a chegada da maturidade corporal causa redução na taxa de síntese (constante  $k$ ) e aumento na taxa de degradação das proteínas (constante  $m$ ), o que foi observado neste ensaio, onde houve redução da deposição de proteína corporal, conseqüentemente, diminuindo a taxa de crescimento.

O *turnover* proteico metabólico ( $m$ ), em ambos os tecidos, aumentou com o avanço da idade, um efeito esperado em função da diminuição do crescimento do animal em decorrência da idade e conseqüente redução da taxa de crescimento ( $k$ ). Para o intestino, observamos disparidade nos valores de  $m$  no primeiro período de coleta em função, provavelmente, do aumento da proliferação celular (observada em lâminas histológicas) com posterior regularização e poucas diferenças no segundo período de coleta; a similaridade nas taxas de crescimento ( $k$ ) pode explicar a ausência de diferenças no desempenho dos animais embora submetidos a diferentes dietas.

Analisando isoladamente a constante  $k+m$  poderíamos supor que a inclusão do aditivo fitogênico promove maior *turnover*, portanto maior desenvolvimento da mucosa até os 21 dias de idade, entretanto, ao se dissociar os valores da constante observamos que a taxa de crescimento é muito semelhante entre os tratamentos e a maior colaboração à soma é proveniente de  $m$ , ou seja, de degradação e ressíntese de tecido.

Segundo Baró *et al.* (2001), o epitélio intestinal é um tecido em contínua renovação, isso explica as altas taxas de degradação e ressíntese de mucosa observadas em ambos os períodos de coleta (constante  $m$ ).

A alta taxa de degradação e ressíntese proteica ( $m$ ) na mucosa intestinal no primeiro período de coleta sugere efeito deletério do aditivo fitogênico em estudo sobre a mucosa intestinal, principalmente no nível de 0,2% de inclusão, cuja taxa de *turnover* em comparação ao controle positivo (AMD) é superior em mais de 50%. A aceleração do *turnover* metabólico demonstra maior troca de carbono adquirido na dieta anterior (matrizes) por aqueles da nova

dieta. A maior taxa de *turnover* corporal nas aves submetidas a esta dieta provoca substituição do carbono mais rápida, conseqüentemente diminuindo o valor de meia-vida, o que parece comprovar a hipótese de possível efeito irritante do extrato sobre a mucosa intestinal, efeito que provocaria a necessidade de reposição tecidual mais intensa.

Embora um ciclo de criação de frangos de corte se encontre por volta de 42 dias estes animais ainda não são adultos no momento do abate, o que explica a taxa elevada de crescimento ainda no segundo período de coleta em ambos os tecidos, embora menos intensamente em relação ao primeiro período os animais ainda se encontravam em crescimento, corroborando essa informação observamos intensa atividade metabólica, com elevadas taxas de ressíntese e degradação de ambos os tecidos estudados nos dois períodos de coleta.

A pouca diferença entre os valores de *turnover* do fígado sugerem efeito local do aditivo, apenas na mucosa, e não sistêmico, uma vez que não houve mudanças drásticas nas taxas de síntese e degradação do fígado até os 21 dias de idade. Apesar de haver diferença notável na taxa metabólica do fígado aos 42 dias de idade, infere-se que os órgãos e os animais estavam saudáveis, uma vez que não foram observadas diferenças no desempenho durante a segunda metade do primeiro experimento. Vale ressaltar que a maior taxa de ressíntese e degradação tecidual observada no período de 21 a 49 dias de idade foi aquela das aves alimentadas com 0,2% de extrato, um efeito inverso ao observado na mucosa intestinal, onde observou-se maior atividade metabólica no primeiro período de coleta.

Ressalta-se a importância fisiológica dos tecidos estudados observando-se a elevada taxa metabólica durante todos os períodos de coleta.

#### **4. CONCLUSÃO**

A inclusão de extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* na alimentação de frangos de corte alojados nas condições destes experimentos, em quaisquer níveis estudados,

não afeta o desempenho aos 42 dias, tampouco o peso relativo de órgãos, medidas histomorfométricas de intestino e Bursa ou produção de anticorpos.

Os resultados permitem concluir que os efeitos do aditivo são deletérios à mucosa no período inicial de criação e pouco efetivos no fígado, evidenciados pelas alterações na taxa de ressíntese e degradação tecidual.



## 5. Referências Bibliográficas

- Applegate TJ, Steiner T, Ganner A, Schatzmayr G. Probiotics and phytochemicals for poultry: Myth or reality? *Journal of Applied Poultry Research* 2010; 19:194-210.
- Armstrong DG. Gut-active growth promoters. In: Buttery PJ, Linsay DB, Haynes NB, editors. *Control and manipulation of animal growth*. Londres: Butterworths; 1986. p. 21-37.
- Baró L, Jiménez J, Martínez-Férez A, Boza JJ. Componentes biologicamente activos de la leche materna. *Ars Pharmaceutica* 2001; 42:21-38.
- Barreto MSR, Menten JFM, Racamicci AMA, Pereira PWZ, Rizzo PV. Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2008; 10:109-115.
- Basmacıoğlu Malayoğlu H, Baysal S, Misirlioglu Z, Polat M, Yilmaz H, Turan N. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *British Poultry Science* 2010; 52(1):67-80.
- Çabuk M, Bozkurt M, Alçiçek A, Çatli AU, Başer KHC. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science* 2006; 36:135–141.
- Carrijo AS, Madeira LA, Sartori JR, Pezzato AC, Gonçalves JC, Cruz VC, Kuibidfa KV, Pinheiro DF. Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2005; 40(7):673-679.
- Christaki E, Florou-Paneri P, Giannenas I, Papazahariadou M, Botsoglou NA, Spais AB. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research* 2004; 53:137–144.
- Dewik PM. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 2 ed. Chichester; John Wiley & Sons; 2002.
- Ducatti C, Salati E, Matsui E. Método de análise da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  em carbonatos. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 1979; 51(2):275-286.
- Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono – 13 em tecidos de mamíferos e aves. *Scientia Agricola* 2002; 59(1):29-33.
- Fabiane K, Ferronato R, Santos AC, Onofre SB. Physicochemical characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognósia* 2008; 18(2).
- Fascina VB, Sartori JR, Putrino SM, Carvalho FB, Araújo PC, Pelícia VC, Benzoni, G. Morfometria intestinal de frangos de corte suplementados com produto alternativo aos antibióticos promotores de crescimento. In: Conferência FACTA de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2009; Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Brasil. CD-ROM.

Fauconneau B, Cowey CB, Mackie AM, Bell JG. Protein synthesis and protein deposition in fish. In: Nutrition And Feeding In Fish. Orlando: Academic Press; 1985. p.17-46.

Freitas R, Fonseca JB, Soares RTRN, Rostagno HS, Soares PR. Utilização do alho (Allium sativum L.) como promotor de crescimento de frangos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia 2001; 30(3):761-765.

Fukayama EH, Bertechini AG, Geraldo A, Kato RK, Murgas LDS. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia 2005; 34(6):2316-2326.

Gunal M, Yayli G, Kaya O, Karahan N, Sulak O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acids supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. International Journal of Poultry Science 2006; 5(2):149-155.

Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. Philadelphia: Saunders; 2006.

Henry PR, Ammerman CB, Campbell DR, Miles RD. Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks. Poultry Science 1987; 66: 1014-1018.

Hernández F, Madrid J, García V, Orengo J, Megías MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poultry Science 2004; 83(2):169-174,

Hobson KA, Clark RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of <sup>13</sup>C in tissues. The Condor 1992; 94:181-188,.

Izat AL, Thomas RA, Adams MH. Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. Poultry Science 1989; 68:651-655.

Jamroz D, Wiliczekiewicz A, Wertelecki T, Orda J, Skorupinska J. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and domestic grains. British Poultry Science 2005; 46:485-493.

Konjufca VH, Pesti GM, Bakalli RI. Modulation of cholesterol in broiler meat by dietary garlic and copper. Poultry Science 1997; 76(9):1264-1272.

Langhout P. New additives for broiler chickens. Feed Mix 2000; 18(6):24-27.

Leitão DPS, Da Silva Filho AA, Polizello ACM, Bastos JK, Spadaro ACC. Comparative evaluation of in-vitro Brazilian green propolis and Baccharis dracunculifolia extracts on cariogenic factors of Streptococcus mutans. Biological & Pharmaceutical Bulletin 2004; 27(11):1834-1839.

Lemos M, De Barros MP, Sousa JPB, Da Silva Filho AA, Bastos JK, De Andrade SF. Baccharis dracunculifolia, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2007; 59(4):603-608.

Mahdavi A, Jelodar GA, Saberi M, Darabighane B, Sajedian Fard J, Nazifi S. Effects of different levels of Aloe vera gel on performance and humoral immune response in broilers. In: 2013 PSA Annual Meeting; 2013; San Diego, California. EUA. p. 126.

Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F, Gasa J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science* 2004; 82(Supl. 1):3210-3218.

Mehala C, Moorthy M. Production Performance of Broilers Fed with Aloe vera and Curcuma longa (Turmeric). *International Journal of Poultry Science* 2008; 7(9):852-856.

Miguel F, Francis C, François R. Effet de l'utilisation de complexes d'extraits vegetaux chez le poulet en croissance, vaccine contre la coccidiose et challenge par une inoculation coccidienne a 14 jours. In: Huitièmes Journées de la Recherche Avicole; 2009; St Malo. France. 2009.

Millward DJ. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquaculture* 1989; 79:1-28.

Miron T, Rabinkov A, Mirelman D, Wilchek M, Weiner L. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1463:20-30.

Missima, F.; Da Silva Filho, A.A.; Nunes, G.A.; Bueno, P.C.P.; Sousa, J.P.B.; Bastos, J. K.; Sforcin, J.M. Effect of *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae) extracts and its isolated compounds on macrophage activation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2007; 59(3):463-468.

Mituo MAO. Turnover do carbono-13 nos tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento. [Dissertation]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2008.

Navarro V, Villarreal ML, Rojas G, Loyola X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 1996; 53:143-147.

Queiroga CL, Fukai A, Marsaioli A. Composition of the essential oil of vassoura. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 1990; 1:105-109.

Rizzo PV, Menten JFM, Racanicci AMC, Traldi AB, Silva CS, Pereira PWZ. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2010; 39(4):801-807.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3 ed. Viçosa; Universidade Federal de Viçosa; 2011.

Samuelsson G, Bohlin L. *Drugs of Natural Origin: A Treatise of Pharmacognosy*. 6 ed. Stockholm; Swedish Pharmaceutical Press; 2010.

SAS Institute Inc. User installation guide for the SAS® system; version 9 for Microsoft® Windows®. Cary; NC: SAS Institute Inc.; 2002.

Soltan MA, Shewita RS, El-Katcha MI. Effect of dietary anise seeds supplementation on growth performance, immune response, carcass traits and some blood parameters of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* 2008; 7(11):1078-1088.

Toledo GSP, Costa PTC, Silva LP, Pinto D, Ferreira P, Poletto CJ. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. *Ciência Rural* 2007; 37(6):1760-1764.

Willians LR, Stogkley JK, Yan W, Home VN. Essential oils with high antimicrobial activity for therapeutic use. *International Journal of Aromatherapy* 1998; 8:30-40.

Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 2008; 86(suppl. E):140-148.

Wolfe RR, Chinkes DL. *Isotope Tracers Metabolic Research: Principles and Practice of Kinetic Analysis*, 2 ed. Maryland; Wiley-Liss; 2005.

### **CAPÍTULO III**

## 1. Implicações

No estudo apresentado encontramos uma situação inédita: a possibilidade de pesquisar um extrato de planta que é a fonte botânica para a produção de um composto de funcionalidade reconhecida na saúde humana e animal, a própolis verde, porém, na forma apresentada, mostrava resultados controversos ou inexistentes, como no caso dos frangos de corte. Ainda, comparativamente a alguns aditivos consolidados na indústria animal, como enzimas, por exemplo, os estudos com aditivos fitogênicos ainda apresentam amplos horizontes.

A demonstração de resultados consistentes para a utilização do extrato esbarrou em uma série de desafios já descritos em literatura; quanto ao extrato em si existe variabilidade na produção de metabólitos secundários funcionais dependente de condições climáticas, posição geográfica, fertilidade do solo, irrigação, fração da planta utilizada, entre tantos outros descritos em revisão de literatura. Ainda existe a possibilidade de perda de funcionalidade relacionada ao processamento tanto da planta quanto do extrato, bem como decorrentes do nível de inclusão e forma de administração.

O desafio sanitário imposto aos animais ainda demonstrou que, sob baixa carga microbiana, os efeitos de quaisquer aditivos podem ser anulados. Os laboratórios das universidades ou centros de pesquisa podem não ser os mais adequados quando pretendemos demonstrar efeitos de aditivos que só podem ser encontrados em condições de campo, onde o desafio sanitário é conhecido e maior. A tentativa de simular condições de produção em campo utilizando-se cama de aviário reutilizada demonstrou-se insuficiente.

Entretanto os resultados das análises isotópicas lançam novo olhar à aparente aleatoriedade dos resultados, os cálculos permitiram observar mais profundamente o comportamento dos tecidos analisados, mostrando que a ferramenta é promissora em estudos com metabolismo animal.

A *Baccharis dracunculifolia* ainda apresenta grande potencial na indústria animal, futuras pesquisas devem priorizar a reprodução fiel de condições de campo, assegurando o desafio sanitário e permitindo ao aditivo explorar todo seu potencial, ainda devemos focar na forma e níveis de inclusão, buscando alternativas mais estáveis e práticas que o extrato hidroalcoólico líquido.