

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE ADITIVOS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE.**

**Nei André Arruda Barbosa**

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL  
Dezembro – 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE ADITIVOS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE.**

**Nei André Arruda Barbosa**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilva Kazue Sakomura  
Co-Orientador: Dr. Edgar Orlando Oviedo-Rondon**

Tese apresentada à banca como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia na faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Campus de Jaboticabal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL  
Dezembro – 2009

Barbosa, Nei André Arruda  
B238a Avaliação de aditivos em dietas de frangos de corte / Nei André  
Arruda Barbosa. -- Jaboticabal, 2009  
xii, 166 f.; 28 cm

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009  
Orientadora: Nilva Kazue Sakomura  
Co-Orientador: Edgar Orlando Oviedo-Rondón  
Banca examinadora: Antônio Cláudio Furlan, Flávio Alvez Longo,  
Euclides Braga Malheiros, Elisabeth Gonzalez

#### Bibliografia

1. Frango de corte - aditivo. 2. Frango de corte - desempenho. 3.  
Frango de corte - digestibilidade. I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade  
de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.085

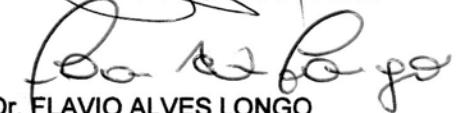
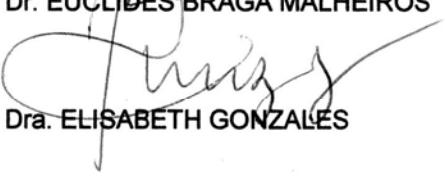
Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da  
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de  
Jaboticabal.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO****TÍTULO:** AVALIAÇÃO DE ADITIVOS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE.**AUTOR:****NEI ANDRÉ ARRUDA BARBOSA****ORIENTADORA:****Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA**

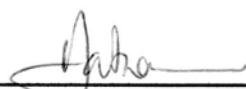
Co-Orientador(a):

Dr. EDGAR ORLANDO OVIEDO-RONDON

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em ZOOTECNIA pela  
Comissão Examinadora:

  
**Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA**  
**Dr. ANTONIO CLAUDIO FURLAN**  
**Dr. FLAVIO ALVES LONGO**  
**Dr. EUCLIDES BRAGA MALHEIROS**  
**Dra. ELISABETH GONZALES**

Data da realização: 04 de dezembro de 2009.



---

Presidente da Comissão Examinadora  
**Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA**

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**Nei André Arruda Barbosa** - filho de Inês Batista de Oliveira Barbosa, telefonista, e José de Arruda Barbosa, militar, nasceu em Sertãozinho/SP, no dia 25 de março de 1980. Em março de 2000 ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP de Jaboticabal/SP, completando em julho de 2004. Sob orientação da professora Dr<sup>a</sup> Nilva Kazue Sakomura, foi bolsista de iniciação científica pelo CNPq na graduação, na qual posteriormente iniciou o Mestrado em agosto de 2004 no programa de Zootecnia da mesma instituição, adquirindo o título de Mestre em 20 de fevereiro de 2006. Em março de 2006, ingressou no Doutorado no mesmo programa, tendo realizado com bolsa CNPq durante 7 meses no período de 2008/2009 na Universidade do Estado da Carolina do Norte, Raleigh, EUA, sob orientação do Dr. Edgar Orlando Oviedo-Rondón. No Brasil, defendeu sua tese de Doutorado no 4 de dezembro de 2009.

*Às vezes temos a sensação do fim da linha....  
diante das dificuldades que surgem de  
vislumbrar uma saída viável para os problemas  
que surgem em grande quantidade.... somos  
todos iguais... quem nunca pensou em desistir?!  
Mas vale a pena resistir... mesmo que as feridas  
latejem e que a sua coragem esteja cochilando...  
resistindo um minuto verá que é fácil resistir aos  
demais... resista mesmo que os pessimistas digam  
para você parar... mesmo que sua esperança  
esteja no fim... tudo passa... Resista, porque  
alguém que o ama está sentado na arquibancada  
do tempo, torcendo muito para que você vença e  
conquiste o que tanto almeja...*

Em minha primeira experiência internacional na cidade de Raleigh, na Carolina do Norte, tive a oportunidade de conhecer e relacionar com muitas pessoas de diferentes países, etnias, culturas e religiões. Em uma aula de inglês, como sempre estava ativo nas perguntas, ganhei um texto da Teacher BENICE de um autor desconhecido.... O texto é retratado abaixo....essa reflexão ajudou a ter forças e superar as dificuldades encontradas....

*“When one door closes, another opens... into another room, another space, other happenings. There are many doors to open and close in our lives. Some doors we leave ajar, where we hope and plan to return. Some doors are slammed shut decisively. “No more of that!” Some are closed regrettably, softly... “It was good, but it is over.” Departures entail arrivals somewhere else. Closing a door, leaving it behind, means opening onto new vistas and ventures, new possibilities, new incentives.*

*One day we can see that it was important to our growth. Just we need to believe ourself!”*

## **DEDICATÓRIA**

Um triunfo conquistado... uma vitória.... se hoje posso usufruir desse título... devo à muitas pessoas.... mas em especias à essas pessoas que venho dedicar...

### **Ao papai José (*in memorian*) e mamãe Inês (*in memorian*)**

Vocês fizeram parte dessa caminhada... Então, neste momento, em respeito as suas memórias, eu afasto a tristeza e qualquer sentimento negativo.  
Passo a sentir saudades des vocês, porque a falta continua...  
De onde estiver tenho certeza que estão felizes por mais essa conquista.

### **À professora Nilva Kazue Sakomura,**

Por acreditar no meu potencial e ter concedido a oportunidade na minha formação profissional. Afinal, foram 7 anos juntos...broncas, incentivos, puxões de orelhas nunca faltaram... mas o que mais sentirei falta será da Nilva carinhosa que muitas vezes se apresentava! Já sinto falta... Desde as nossas viagens às nossas conversas até altas horas... Aprendi a respeitá-la acima de tudo... nunca dizer não... e sempre empenhar para fazer o melhor... foi assim que você me treinou... é... mais um ciclo na vida se encerra... uma pena... foi uma passagem marcante... sentirei falta do seu abraço de final de ano,,, do seu bolo de aniversário... mas com certeza... isso poderemos continuar...

Fatos marcantes... e você sempre ao lado... apoiando, incentivando, acreditando em uma volta por cima...

Obrigado Nilva, hoje me sinto um homem pronto para sociedade.

## **OFERECIMENTO**

### **Em especial, aos meus irmãos!!!**

Pelo amor, força, apoio, dedicação, incentivo e inconstante apoio para essa vitória...  
Por acreditar em no meu potencial e não deixarem desistir desse sonho... que neste momento tornou-se realidade... Essa vitória é por vocês!

**Ao Marco**, por ser meu alicerce e deixar-me sempre seguro nas decisões...

**Ao Marcelo**, pelas críticas e força na luta do objetivo...

**A Mônica** pelo carinho e preocupação...

**Ao Fabiano** pelo inconstante apoio!

### **Aos meus sobrinhos e sobrinhas**

Por serem a razão da minha vida e motivo de luta e felicidade.

**Carolina**, pela grande amizade, apoio e amor...

**Leonardo e Pedro**, pelo aprendizado no crescimento que venho tendo com vocês,

**Antony**, meu companheiro e a **Livia**, minha princesinha...

**Maria Clara**, a caçulinha...

### **Aos meus Cunhados,**

**Marli, Alexandre e Fabiana**, pela força e fazerem parte da minha vida.

## **À DEUS**

Pela saúde e amparo em todos momentos e principalmente por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas e especiais.

## **AGRADECIMENTOS**

É muito bom passar por uma jornada destas e ter tanto a agradecer, e querer a tantos homenagear!

É muito bom dizer obrigado a tanta gente que, neste período, em que se é acometido de tantos surtos de tristeza, incapacidade, euforia, incerteza, cansaço, alegrias, conseguiu se manter simplesmente presente. Por isso, as homenagens.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de uma bolsa de estudos e por estimular a continuidade do processo educacional.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP de Jaboticabal por ter possibilitado a conclusão de mais uma etapa da minha carreira profissional.

À CNPq pela concessão da bolsa sanduíche.

À FCAV-UNESP e ao programa de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

À Universidade do Estado da Carolina do Norte pela experiência internacional.

A todas as pessoas de Raleigh/NC e aos brasileiros residentes.

À “Church of Christ”, pelas aulas de inglês gratuitas, e principalmente aos professores que se tornaram grandes amigos, Yari e Carla.

Aos funcionários do POULTRY SCIENCE na NCSU, em especial Hunter, técnico que teve muita paciência com meu inglês.

Ao co-orientador, Dr. Edgar Orlando Oviedo-Rondón, um dos melhores profissionais que trabalhei, e acima de tudo um grande amigo.

À banca examinadora, Antônio Cláudio Furlan, Euclides Braga Malheiros, Elisabeth Gonzalez.

Aos amigos Flávio Alves Longo e Fábio Goldflus.

Aos grandes amigos, César, Simara, Daphinne, Ellen (Judoka), Fabiana, Michele, Cristina, Rafael Neme, e principalmente a Leilane pela oportunidade de fazer parte dessa família, pelo amor, apoio, auxílio e convivência. Vocês foram mais que importantes...

Aos funcionários do Setor de Avicultura, Vicente, Sr. João (*in memorian*) e Izildo, pelo apoio, amizade e pela grande ajuda e auxílio na condução dos experimentos.

Ao Robson, um grande amigo, pela amizade fraterna, palavras de ânimo e por torcer pelo este sucesso.

Ao Dr. Ednardo Rodrigues Freitas pela honra de lançar na pesquisa acreditando no meu potencial, mas principalmente pela amizade e apoio, mesmo com a distância.

Aos amigos da ZOOTECNIA 2000, ADMINISTRAÇÃO 2005 e 2006, pela amizade e apoio nas horas difíceis.

Aos grandes amigos Lucas, Juliano, Germano, Tiago Urbano, Danilão, Mala, Rosca, Lú, Sandrão, Lili Pripri, Andréa, Sandra (eterna cunhada) e a turma do Zitão.

Aos antigos moradores da república Vira-Latas (Barnabé, Xilema, Aleluia, Lorpa, Canarana, Xicó).

À república OZOCUPADOS (D. Cida, Márcia, Vítor, Fiapo, Bobinho, Vinga, Cloaca, Guino, Ximbinha, Mudo, Roberta, Ana Paula e a Bagaça). Uma família! Obrigado por mostrarem que os valores familiares jamais se perdem!

Às repúblicas XICRETI (Peida, Rufus, Grafiti (esse é brother!) e Kiki), MATA BIXEIRA (Pedala, Tetinha, Sofredor).

A todos orientados de iniciação científica e estagiários que passaram pelo aviário.

Ao grupo PET e principalmente a Profa. Maria Imaculada pela grande amizade e orientação para formação profissional.

À minha TATA, MEL, pelo carinho e paciência...

À amiga Íris, pelas correções, sugestões e auxílio sempre que precisei!

Aos brothers Ditão e Faiado.

A todos os amigos da UNESP, pela consideração e amizade.

Ao grande amigo XANDÃO, pelo inconstante apoio, e aos amigos Kako, Telão, Pereba, Ana Preta, Manduca, Tia Sueli e Tio Douglas, Prepussu, Pika-Pau, Rodrigo, Caramujo, Râmila, Cris, D. Sebastiana, Glande, Merluzão, Gustavo Gerbasio e Marcola pela preciosa amizade.

Ao pessoal do LANA e da fábrica de ração, pela amizade e contribuição.

A todos os amigos da pós-graduação: Janaína, Vanessa, Lidiane, Nayara, Rodrigo, Sandra, Mariana, Gisele, Marcos, Mary, Brunão, Juan e muitos outros não mencionados.

A Sarah e Maria Fernanda, pela amizade, profissionalismo compartilhado e companherismo.

Aos amigos do futebol.

Ao São Paulo Futebol Clube, pelas alegrias concedidas.

Aos amigos de trabalho, os brothers Jefferson, Anchieta e Ednei pelo aprendizado, diversões e correções da tese.

Aos tíos e tias; Neli, Biba, Neide (*in memorian*), Bethi, Neli, Júnior, Walter (*in memorian*), Raquel, Marta e Guiomar.

Aos meus primos Edgard, Petita, Carminha, Zé Aprígio, Zé Luís, Marika, Érika, Vanessa, Felipe, Diego, Fabiana, Jorge Luís, Perla, Ricky, Mateus, Gabriela, Juliana, Priscila, Giordano.

À Fátima, funcionária da tecnologia, pessoa sensível e amiga que fiz durante a disciplina de Técnicas de purificação de biomoléculas.

Aos funcionários, Wilson, Hélio, Sr. Orlando e Claudinha.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia em especial ao Fieno, Adriana, Renata, Cássia e Dona Maria, pela ajuda e amizade.

Às funcionárias da Pós-graduação, pela paciência e compreensão com meus documentos. Também aos Funcionários da FUNEP, em especial ao Tiago, pela paciência e prestatividade as minhas solicitações.

Aos funcionários da Suiaves e Ammco Pharma, pela paciência na defesa e oportunidade de entrar no mercado de trabalho.

Aos amigos Eddy Ulgade (JBS), Victor, Eduardo e Estephano, pela compreensão sempre que precisei para finalizar a redação da tese.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente com esse trabalho e na minha formação.

Minhas sinceras desculpas aos nomes que não mencionei, mas tenham a certeza que fazem parte dessa história!

Meras palavras não expressariam meu enorme agradecimento...

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>xii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>	<b>v</b>
<b>LISTA DE ABREVIACÕES.....</b>	<b>ix</b>
<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>1</b>
1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
2- ENZIMAS EXÓGENAS.....	4
3- PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS.....	9
<i>Prebióticos</i> .....	10
<i>Probióticos</i> .....	13
<i>Óleos Essenciais</i> .....	15
4- BETAÍNA.....	17
5- REFERÊNCIAS.....	22
<b>CAPÍTULO 2 – ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE ILEAL .....</b>	<b>38</b>
RESUMO.....	38
SUMMARY .....	39
1. INTRODUÇÃO .....	40
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	41
2.1 Local, duração e aves experimentais .....	41
2.2 Instalações e manejo.....	42
2.3 Delineamento experimental e tratamentos .....	43
2.4 Dietas experimentais .....	43
2.5 Variáveis de desempenho.....	46

2.6 Digestibilidade dos nutrientes.....	46
2.7 Analises estatísticas.....	47
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
3.1 Digestibilidade dos nutrientes e valor energético de dietas.....	47
3.2 Desempenho das aves .....	54
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>60</b>
<b>5. REFERENCIAS.....</b>	<b>61</b>

<b>CAPÍTULO 3 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETAÍNA NATURAL EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A ESTRESSE POR CALOR .....</b>	<b>69</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>69</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>70</b>
1- INTRODUÇÃO .....	71
2 - MATERIAL E MÉTODOS .....	72
2.1 Local e duração .....	72
2.2 Aves experimentais, instalações e manejo .....	72
2.3 Delineamento experimental e tratamentos .....	75
2.4 Características de desempenho avaliadas .....	81
2.5 Rend. de carcaça e de partes e perda de água por gotejamento (Drip Loss).....	81
2.6 Avaliação da morfometria intestinal.....	82
2.7 Análises estatísticas.....	82
<b>3- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>83</b>
3.1 - Desempenho.....	83
3.2- Rend. de carcaça e das partes e perda de água por gotejamento (Drip loss).....	93
3.3 - Morfologia intestinal.....	98
<b>4- CONCLUSÕES .....</b>	<b>100</b>
<b>5- REFERÊNCIAS .....</b>	<b>101</b>

<b>CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SOBRE O DESEMPENHO E MORFOMETRIA INTESTINAL .....</b>	<b>108</b>
RESUMO .....	108
ABSTRACT .....	109
1 - INTRODUÇÃO .....	110
2- MATERIAL E MÉTODOS .....	111
2.1 Local, período e aves experimentais .....	111
2.2 Dietas e delineamento experimental.....	111
2.3 Instalações e manejo.....	114
2.4 Características de desempenho.....	115
2.5 Características morfométricas intestinal .....	116
2.6 Análises estatísticas.....	116
3- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	117
3.1- Desempenho .....	117
3.2- Morfometria intestinal.....	121
4- CONCLUSÕES .....	125
5- REFERÊNCIAS .....	126
<b>CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DE PROBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE.....</b>	<b>132</b>
RESUMO .....	132
ABSTRACT .....	133
1- INTRODUÇÃO .....	134
2 - MATERIAL E MÉTODOS .....	136
2.1- Local e duração .....	136
2.2- Ensaios Experimentais.....	136
2.3- Dietas experimentais.....	139
2.4. Analises estatísticas dos dados .....	141
3 - RESULTADOS.....	141

3.1- Ensaio de desempenho Exp 1 e 2 .....	141
3.2- Terceiro ensaio: Desafio com coccidia.....	145
4 - DISCUSSÕES.....	147
5 - CONCLUSÕES.....	154
6 - REFERÊNCIAS .....	154
<b>CAPÍTULO 6 – IMPLICAÇÕES .....</b>	<b>166</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

	Páginas
<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA</b>	
Figura 1: Ciclo da metionina.....	18
Figura 2: Reação da colina, betaina e metionina.....	20
<b>CAPÍTULO 2 – ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE ILEAL</b>	
Tabela 1. Médias semanais das temperaturas e umidades relativas máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.....	43
Tabela 2: Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes das dietas basais para a fase inicial (1 a 21 dias de idade) e para fase crescimento (22 a 42 dias).....	45
Tabela 3. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e da proteína bruta (CDPB) e energia digestível aparente (EDA) na base seca e na base natural de dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para aves aos 21 dias de idade.....	48
Tabela 4. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e da proteína bruta (CDPB) e energia digestível aparente (EDA) na base seca e na base natural de dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para aves aos 43 dias de idade.....	49
Tabela 5. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para frangos de corte na fase inicial (1 a 21 dias) .....	55
Tabela 6. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para frangos de corte no período total de criação (1 a 42 dias).....	56

## CAPÍTULO 3 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETAÍNA NATURAL EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A ESTRESSE POR CALOR

Tabela 1. Médias das temperaturas (°C) e umidades relativas (%) máximas e mínimas registradas no galpão experimental até os 21 dias de idade das aves....	74
Tabela 2. Médias das temperaturas (°C) e umidades relativas (%) máximas e mínimas registradas no galpão experimental no período de 22 a 45 dias de idade das aves.....	75
Tabela 3. Composição centesimal e níveis calculados de nutrientes das dietas experimentais para a fase pré-inicial (1 a 7 dias).....	77
Tabela 4. Composição centesimal e níveis calculados de nutrientes das dietas experimentais para a fase inicial (8 a 21 dias).....	78
Tabela 5. Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes na fase de crescimento (22 a 35 dias).....	79
Tabela 6. Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes na fase final (36 a 45 dias).....	80
Tabela 7. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e uniformidade de aves (UNIF) na fase pré-inicial (1 a 7 dias de idade) alimentadas com as dietas experimentais.....	83
Tabela 8. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte na fase inicial (1 a 21 dias de idade), alimentados com as dietas experimentais.....	84
Tabela 9. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 22 a 35 dias de idade (fase de crescimento).....	85
Tabela 10. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 36 a 45 dias de idade (fase final).....	87

Tabela 11. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e uniformidade de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 1 a 45 dias de idade (período total de criação).....	89
Tabela 12. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância dos percentuais (%) de rendimento de carcaça, coxa com sobre coxa, peito, asa com dorso de frangos de corte aos 45 dias de idade, alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais.....	94
Tabela 13. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância dos percentuais (%) de perda de água por gotejamento da carcaça, coxa com sobre coxa, peito e asa com dorso de frangos de corte aos 45 dias de idade, alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais.....	97
Tabela 14. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância da profundidade de cripta (mm) e altura de vilos (mm) do jejuno de frangos de corte aos 25 e aos 45 dias de idade.....	99
<b>CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SOBRE O DESEMPENHO E MORFOMETRIA INTESTINAL</b>	
Tabela 1. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das dietas inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 42 dias) para frangos de corte.....	113
Tabela 2. Temperatura e umidade relativa médias semanais das máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.....	115
Tabela 3. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade criatória (VC) e fator de produção (FP) de frangos de corte nas fases inicial e crescimento.....	117
Tabela 4. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade criatória (VC) e fator de produção (FP) de frangos de corte na fase final e no período total de criação.....	118
Tabela 5. Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância da profundidade de cripta (mm) e altura de vilos (mm) dos segmentos duodenal, jejunal e ileal do intestino de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.....	122

## CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DE PROBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Tabela 1. Médias semanais da temperatura máxima e mínima durante o primeiro e segundo ensaio experimental.....	137
Tabela 2. Dietas basais e exigências nutricionais nas fases inicial (1 a 14/18 dias), crescimento (19 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).....	140
Tabela 3. Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao primeiro ensaio experimental.....	142
Tabela 4. Probabilidades dos contrastes ortogonais dos parâmetros ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao primeiro ensaio experimental.....	143
Tabela 5. Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao segundo ensaio experimental.....	144
Tabela 6. Probabilidades de contrastes ortogonais dos parâmetros consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao segundo ensaio experimental.....	145
Tabela 7. Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte machos Ross 708 aos 14 dias e infectados aos 16 dias com um inoculo de <i>Eimeria spp.</i> , alimentados com diferentes eubióticos no período de 15 a 22 dias de idade.....	146

## **LISTA DE ABREVIAÇÕES**

- ANT - Antibiótico  
ATP - Trifosfato de Adenosina  
AV - Altura de Vilo  
Ca - Cálcio  
CA - Conversão Alimentar  
CAI - Cinza Ácida Insolúvel  
CALSP - Calsporin  
CD - Coeficiente de Digestibilidade  
CDMS - Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Seca  
CN - Controle Negativo  
 $\text{CO}_2$  - Dióxido de Carbono  
CONT - Controle  
CP - Controle Positivo  
CPF100 - Crina Poultry AF 100 ppm  
CPP150 - Crina Poultry Plus 150 ppm  
CPP300 - Crina Poultry Plus 300 ppm  
CR - Consumo de Ração  
CV - Coeficiente Variação  
DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado  
EA - Eficiência Alimentar  
EDA - Energia Digestível Aparente  
EDMN - Energia Digestível na Matéria Natural  
EDMS - Energia Digestível na Matéria Seca  
EM - Energia Metabolizável  
FOS - frutoligossacarídeos  
FP - Fator de Produção  
Gmd - Ganho Médio Diário  
GP - Ganho de Peso  
 $\text{H}_2\text{CO}_3$  - Ácido Carbônico

K<sup>+</sup> - Potássio

Lis dig - Lisina Digestível

Met + Cis dig - Metionina + Cistina

Met dig - Metionina Digestível

MN - Matéria Natural

MOS - Mananoligossacarídeos

MS - Matéria Seca

MSD - Matéria Seca Definitiva

N - Nitrogênio

Na – Sódio

NMI - não medicado e infectado

NMNI - não medicado e não infectado

P - Fósforo

PB - Proteína Bruta

PC - Profundidade de Cripta

pCO<sub>2</sub> - pressão parcial Dióxido Carbônico

PM - Peso Médio

PNAs - Polissacarídeos não-amiláceos

Prob - Probabilidade

SAM - S-adenosilmetionina

Tre dig - Treonina Digestível

UNIF - Uniformidade

VC - Viabilidade Criatória

## AVALIAÇÃO DE ADITIVOS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

**RESUMO** - O objetivo do estudo foi avaliar diferentes aditivos sobre o desempenho, digestibilidade ileal, características de carcaça e morfometria intestinal. A adição da combinação enzimática (fitase + complexo amilase, protease e xilanase) em dietas com os níveis nutricionais reduzidos promoveu incrementos positivos no desempenho, digestibilidade dos nutrientes e energia digestível das aves. A suplementação de betaina natural promoveu resultados positivos nas aves submetidas ao estresse por calor no final da criação. Não houve efeito para rendimento de carcaça/partes, no entanto, na morfometria intestinal, foi observada maior altura de vilos para aves suplementadas com betaina natural de acordo com o programa brasileiro aos 25 dias de idade. A adição de diferentes fontes comerciais de mananoligossacarídeos (MOS) em dietas de frangos de corte mostrou índices de conversão alimentar similares das aves com antibiótico. Além disso, houve melhora na profundidade de cripta no jejuno e incremento da altura de vilos na região do íleo, somente para as aves alimentadas com a fonte de MOS 2. As fontes comerciais de mananoligossacarídeos mostraram potencial para serem usadas como aditivos alternativos aos promotores de crescimento nas dietas de frangos de corte. Foram efetuados 3 ensaios para a avaliação de probióticos e óleos essenciais em dietas de frangos de corte. No 1º ensaio, as aves alimentadas com óleo essencial 300 ppm apresentaram melhores resultados de CA e GP, já no 2º ensaio as aves alimentadas com probiótico BC-30 apresentaram menor CR. No 3º ensaio, onde as aves foram inoculadas após os 14 dias, o grupo não medicado e não infectado apresentaram melhor desempenho em relação às aves não medicadas e infectadas. A adição de probióticos e óleos essenciais apresentaram melhora no desempenho das aves. As informações obtidas neste estudo sob os efeitos dos aditivos avaliados sobre a saúde do trato gastrointestinal, digestibilidade dos nutrientes e desempenho poderão compor um banco de dados para serem consultados na tomada de decisão na escolha de alternativos aos promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte.

**Palavras-chave:** aditivos, desempenho, digestibilidade, nutrição, saúde intestinal

## EVALUATION OF ADDITIVES IN BROILER CHICKENS DIETS

**ABSTRACT** - The studies were conducted to evaluated different additives on the performance, nutrients digestibility, carcass/parts yield and intestinal morphology. The supplementation of phytase and amylase, protease and xylanase in diets with reductions of nutrients promoted increase on the performance and nutrients digestibility (dry matter, protein, digestible energy). Supplementation of betaine promoted positive birds submitted to heat stress at 1 to 45 days of age. There was not effect of carcass/parts yield. Already in intestinal morphology, showed the increase height of villus at brasiliian program in 25 days of age. Different commercial source of MOS were evaluated in broilers diets. Dietary inclusions of MOS-1 and antibiotic promoted significant positive effects on feed conversion and PEF compared to the control group. The sources of MOS improved depth of crypt in jejunum, but just the birds fed MOS 2 had an increase in height of villis in ileum. MOS could be used as an alternative to antibiotic growth promoters for broilers. Three assays were done to evaluate the effect of probiotic and essential oil on broiler performance. During the first experiment broilers fed essential oil 300ppm showed better body weight and feed convertion ration. In the second experiment, the birds fed probiotic BC-30 diets showed lower feed intake. The third experiment after infection broilers from Unmedicated Uninfected control showed the best live performance. Treatments supplemented with either probiotics or essential oils improved live performance. Those results may be help to make a decision on the choice of alternative to growth promoter in broiler chicken nutrition.

**Keywords:** additives, digestibility, intestinal health, nutrition

## CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

### 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A cadeia produtiva mundial de frangos de corte tem-se modernizado como consequência do melhoramento genético e dos avanços na área de nutrição, sanidade e manejo das aves. Os objetivos de tais avanços, de modo geral, são redução de custos e aumento da produtividade, com o intuito de não perder competitividade em nível mundial (SARCINELLI et al. 2007).

Entre os vários aspectos importantes na produção avícola, a nutrição desempenha importante papel, que abrange desde a formulação de dietas que visam atender as exigências nutricionais, como a busca pelo incremento no aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos formulados, em geral, à base de milho e soja. Assim, o dinamismo da nutrição animal busca novas estratégias para melhorar a digestibilidade dos alimentos e proporcionar condições que favoreçam a expressão do máximo potencial genético das aves, sem acréscimos aos custos de produção (ARAUJO et al., 2007).

Considerando que a alimentação representa a maior parte dos custos na produção avícola, medidas que visem reduzi-los podem significar lucro para o setor (CARVALHO, 2002). Assim, com o intuito de melhorar o aproveitamento dos nutrientes em dietas à base de milho e farelo de soja, as enzimas exógenas, também conhecidas como aditivos alimentares, têm sido incorporadas à alimentação de monogástricos. O propósito de tais compostos é melhorar o desempenho dos animais, principalmente devido ao aumento na digestibilidade dos nutrientes além de diminuir a excreção de minerais, dentre os mais importantes o fósforo e, deste modo, melhorar a rentabilidade da produção (FISCHER et al., 2002).

Outro aspecto importante na produção avícola refere-se à busca por compostos que favoreçam a manutenção da integridade do trato gastrointestinal das aves, o que é fundamental para obter bons índices zootécnicos. Neste contexto, a saúde intestinal é resultado do equilíbrio dinâmico entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal. A mucosa e os enterócitos atuam como uma barreira dinâmica que permite permeabilidade seletiva,

conferindo-lhes múltiplas funções, como captação seletiva, transporte de substâncias específicas e de nutrientes e exclusão de toxinas e microorganismos por meio da imunidade inata e adquirida. Além disso, o conhecimento da microbiota intestinal é importante para obtenção de boa produtividade, através da melhor saúde intestinal, desempenho de crescimento e controle de patógenos entéricos juntamente com a saúde humana (SANTOS Jr e FERKET, 2007).

Para manutenção da integridade intestinal são tradicionalmente adicionadas às dietas de aves e suínos antibióticos e quimioterápicos, os quais são conhecidos como promotores de crescimento. Tais compostos são os principais aditivos utilizados na alimentação animal, com a finalidade de minimizar a proliferação de agentes prejudiciais ao trato digestivo e, consequentemente, proporcionar efeitos benéficos na absorção de nutrientes (VASSALO et al., 1997). Assim, a diminuição na concentração de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal devido ao uso de antibióticos na dieta, proporciona redução na necessidade de recrutamento de células imunes para o intestino e, consequentemente, melhora no desempenho animal (ARAUJO et al., 2007).

Por outro lado, a rejeição por parte do mercado consumidor por produtos cárneos oriundos de animais alimentados com dietas contendo promotores de crescimento tem aumentado. Isto ocorre em função do receio pela seleção natural de bactérias resistentes, que possam dificultar o tratamento de infecções, além do consumo em si de resíduos destas drogas que podem estar presentes na carne e nos ovos. Tais fatos desencadeiam o estabelecimento de barreiras comerciais no cenário internacional, o que impõe condições restritivas ao manejo nutricional dos animais.

Portanto, é cada vez maior a restrição e proibição ao uso de antibióticos como promotores de crescimento nas rações animais. Paralelamente a tais acontecimentos, têm-se buscado alternativas ao uso de antibióticos, entre as quais estão os produtos naturais, que não só podem promover proteção ao epitélio intestinal, como também, atuar como moduladores na dieta, além de atenderem a crescente preocupação da opinião pública mundial quanto ao uso de produtos químicos na alimentação animal (TEIXEIRA, 2007).

Da mesma forma, a preocupação com uso de ionóforos para controle de coccidiose, doença parasitária de grande importância, visto que é uma das principais causas de perda no plantel avícola. A prevenção e o tratamento da coccidiose ocorrem por meio da adição de drogas anticoccídicas (ionóforos) à ração dos animais. Entretanto, segundo UCHIDA et al., (1997), o uso desses produtos favorece o desenvolvimento de cepas resistentes, além de deixar resíduos tóxicos na carne das aves, fatos estes indesejáveis quando se considera produção de animais biologicamente corretos, além de originar um produto com pouca aceitação pelo mercado consumidor.

Neste contexto, com base em novos conceitos de segurança alimentar, produtos alternativos aos promotores de crescimento estão sendo pesquisados e desenvolvidos, visando o máximo desempenho produtivo animal (MILTBURG, 2000). Dentre estas alternativas, destacam-se os acidificantes, prebióticos, probióticos, enzimas exógenas e óleos essenciais. Assim, atualmente está disponível ao mercado um produto final saudável, uma vez que é ausente de resíduos de drogas, não representa riscos à saúde do consumidor (SILVA e NÖRNBERG, 2003), beneficia a microbiota intestinal por meio do controle de disbacteriose ocasionada por coccidiose. Tais produtos têm o intuito de auxiliar direta e/ou indiretamente o animal a utilizar de forma mais eficiente os nutrientes contidos em alguns ingredientes (SCHWARZ, 2002).

Outra preocupação na criação de frangos de corte está relacionada com uma série de problemas metabólicos decorrentes do manejo inadequado das aves. Destaca-se, entre eles, o estresse calórico, sendo que a tolerância das aves ao estresse diminui à medida que a temperatura ambiente ultrapassa a zona de conforto térmico, pois isto dificulta a dissipação de calor, proporcionando um efeito negativo no desempenho das aves (BORGES et al., 2003). As formas para se minimizar tal problema são a utilização de equipamentos e de práticas de manejo adequados dos animais, aliados aos aspectos nutricionais. Assim, a utilização de sais, como os sais de cloreto de potássio (KCl) e de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), que são adicionados à água de bebida ou à dieta são alternativas empregadas para reduzirem os prejuízos decorrentes do estresse calórico.

Outra opção é a betaina que atua na manutenção do equilíbrio osmótico quando as aves são submetidas a estresse por calor, promovendo uma rápida recuperação da mucosa intestinal, reduzindo, portanto, a incidência de doenças entéricas, como a coccidiose. Além disso, pode substituir os níveis de metionina sintética na dieta, pois participa do ciclo da homocisteína na produção de metionina doando radicais metil. A betaina também pode ser eficiente na redução de problemas causados por *Eimerias*, pois mantém a integridade das células da mucosa intestinal (GOLDFLUS, 1998), proporcionando melhora na absorção de nutrientes (RIBEIRO, 2000), o que pode minimizar o impacto causado por doenças entéricas, como coccidiose. Isto reflete-se na melhora do desempenho animal em função da redução dos efeitos deletérios da infecção (KLASING et al., 2002). Com relação ao efeito direto da betaina sobre a *Eimeria*, TEIXEIRA et al. (2006) em estudo com frangos de corte, observaram que o aditivo afetou o tempo máximo de esporulação de *Eimeria acervulina*.

O objetivo geral do trabalho foram avaliar diferentes aditivos incluídos nas dietas de frangos de corte em diversas condições (reduções dos níveis nutricionais, estresse calórico, desafio sanitário, inoculação) em características de desempenho, digestibilidade, rendimento de carcaça e partes e morfometria intestinal.

## 2- ENZIMAS EXÓGENAS

No Brasil, milho e farelo de soja correspondem a cerca de 90% do custo de dietas para animais monogástricos (TEJEDOR et al., 2001), principalmente em alimentos destinados a suínos e aves em virtude do elevado valor nutritivo destes ingredientes (OLUKOSI et al., 2007). Assim, o milho é a principal fonte energética utilizada em rações para frangos de corte (RODRIGUES et al., 2001), compondo, aproximadamente, 60% das dietas. Entretanto, a composição química e o valor nutricional do milho segundo COWIESON (2005) variam em função do conteúdo de amido, proteína e, principalmente, da concentração de fitato, inibidores de enzimas e presença de amido resistente. Porém, sabe-se que o milho possui níveis de polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) totais muito baixos, cerca de 8,1% da MS (HUISMAN et al., 2000), sendo a maior parte destes constituídos por PNAs insolúveis,

como arabinoxilanios e celulose (OLIVEIRA e MORAES, 2007), o que o caracteriza por ser um alimento relativamente isento de PNAs viscosos, que são os principais fatores anti-nutricionais presentes na maior parte dos cereais.

Já o farelo de soja é o principal componente protéico utilizado em dietas para monogástricos, apesar de possuir uma série de PNAs, além de certos fatores anti-nutricionais que podem comprometer a produtividade das aves. Assim, segundo TORRES et al. (2003) a soja contribui com mais de 70% da proteína em dietas avícolas, mesmo contendo quantidades elevadas de substâncias pécticas na estrutura de sua parede celular. Por outro lado, OPALINSKI et al. (2006) relata que o alimento contém proteínas de alta qualidade e com boa disponibilidade de aminoácidos.

Os PNAs e o fósforo fítico são fatores anti-nutricionais que impactam de forma negativa o aproveitamento dos nutrientes dos alimentos. Dessa maneira, o conhecimento das propriedades e do modo de atuação de tais fatores são importantes para produção de enzimas adequadas, capazes de reduzir ou eliminar seus efeitos negativos de forma eficiente (DOURADO, 2008).

Os PNAs estão classificados dentro de um grupo de fibras dietéticas (HETLAND et al., 2004), sendo caracterizados por apresentarem macromoléculas de polímeros de açúcares simples (monossacarídeos) unidos por ligações glicosídicas resistentes às reações de hidrólise que ocorrem no trato gastrointestinal. Portanto, animais monogástricos não possuem capacidade enzimática para digerir PNAs. A fibra presente nos grãos é composta basicamente por PNAs, correspondendo a parte da estrutura da parede celular de cereais e nas leguminosas desempenham o papel de reserva de energia (NAGASHIRO, 2007).

Quanto ao efeito fisiológico, os PNAs são classificados em fibras insolúveis e solúveis, sendo que as primeiras não conferem viscosidade e, em geral, não sofrem fermentação no cólon, ou esta ocorre apenas de forma parcial. Alguns exemplos são a celulose, lignina e algumas hemiceluloses. Por outro lado, as fibras solúveis possuem a capacidade de conferir viscosidade ao meio e são altamente fermentáveis no intestino grosso. Como representantes desta categoria podem-se citar as pectinas e a maior parte das hemiceluloses.

Os principais PNAs são os arabinoxilanios e os  $\beta$ -glucanos (BEDFORD, 1996). Os arabinoxilanios são polímeros de comprimento variável, constituídos por unidades de xilose (cadeia linear de  $\beta$ 1,4 xilano) e arabinose (cadeias laterais). Já os  $\beta$ -glucanos são polímeros lineares de glicose que possuem ligações glicosídicas  $\beta$ 1,3 e  $\beta$ 1,4. Os PNAs aumentam a viscosidade da digesta devido a capacidade de ligarem-se às moléculas de água, formando um gel viscoso (SANTOS Jr et al., 2004). Isto dificulta a difusão de substratos e de enzimas digestivas dificultando as interações na superfície da mucosa intestinal (CHOCT, 2001), o que resulta na interferência da microbiota e funções intestinais (CHOCT et al., 2004) e no aumento da carga de nutrientes não degradados (LIMA et al., 2007).

Com relação ao ácido fítico, este é um composto presente em ingredientes de origem vegetal, constituído por grupos fosfatos altamente ionizáveis. A ligação do ácido fítico a um dado nutriente dá origem ao fitato, que corresponde a uma molécula com alto potencial de agente quelatante de minerais, tais como cálcio, cobre, zinco, manganês, ferro e magnésio, além de complexar nutrientes como proteínas, aminoácidos e amido (RAVINDRAN et al., 1999; VOHRA e SATYANARAYANA, 2003), e enzimas (SEBASTIAN et al., 1998), formando complexos insolúveis, o que prejudica a digestibilidade destes nutrientes e reflete em prejuízo ao desempenho animal. O fitato está presente, portanto, como parte do fósforo nos ingredientes de origem vegetal utilizados em dietas para animais monogástricos. No vegetal, serve de reserva de fósforo para germinação de sementes (SELLE e RAVIDRAN, 2006). O fósforo do fitato não é aproveitado devido à ausência de fitase no trato digestivo de monogástricos, o que resulta em maior excreção de fósforo e necessidade de utilização de fontes de fosfatos inorgânicos, os quais possuem alta biodisponibilidade a fim de satisfazer as exigências de fósforo dos animais.

A utilização de enzimas na nutrição animal tem determinado o avanço no desenvolvimento de estratégias nutricionais que objetivam melhorar a eficiência de utilização de nutrientes, o que segundo LIMA et al. (2002), potencializa o aproveitamento de ingredientes que porventura possuam reduzida digestibilidade, em virtude de sua composição química ou da presença de fatores anti-nutricionais.

As enzimas atuam na redução dos efeitos negativos dos fatores anti-nutricionais, pois aumentam a disponibilidade de certos nutrientes, potencializando o valor energético de ingredientes convencionais (WALSH et al., 1993). Isto minimiza a eliminação de nutrientes por meio da excreção, o que permite reduzir os níveis nutricionais de dietas e, consequentemente, acarreta em vantagens econômicas (LIMA et al., 2007).

De acordo com MINAFRA (2007) enzimas exógenas podem ser adicionadas às dietas de monogástricos com duas finalidades: complementar quantitativamente a atividade das enzimas endógenas do trato gastrointestinal, tais como proteases, amilases e fitases; e/ou atuar como única fonte de determinada enzima devido à sua não produção natural pelo organismo animal, como  $\beta$ -glucanases, pentosas e  $\alpha$ -galactosidases (FISCHER et al., 2002 e CAMPESTRINI et al., 2005). Assim, a inclusão de enzimas exógenas em dietas para aves reduz a necessidade de síntese de enzimas endógenas o que disponibiliza maior quantidade de aminoácidos para síntese protéica (ZANELLA et al., 1999). Portanto, o uso combinado de carboidrases, proteases e fitases melhora o desempenho de aves (COWIESON e ADEOLA, 2005).

Enzimas são proteínas que catalizam reações químicas nos sistemas biológicos (STRYER, 1995) e podem conter outras substâncias, tais como vitaminas e minerais, que estão envolvidas em todo o processo metabólico do organismo animal. São produzidas comercialmente a partir de bactérias do gênero *Bacillus sp.*, *E. coli* ou fungos do gênero *Aspergillus sp.* A utilização de misturas enzimáticas contendo as principais enzimas como amilase, protease, xilanase, fitase é comumente recomendada na formulação de dietas para frangos de corte. Segundo CLARKSON et al. (2001) e CUTAIT et al. (2005) são utilizadas na nutrição animal, principalmente, as hidrolases, tais como fosfatases, glicosidases e proteases.

Segundo COSTA et al. (2004), a amilase sintetizada a partir do *Bacillus subtilis* atua na região anterior do trato gastrointestinal do animal, com o intuito de minimizar a incompleta digestão do amido do endosperma. Já a xilanase do *Trichoderma longibrachiatum* tem sido utilizada com sucesso em produtos à base de trigo e tem atuado de forma eficaz na redução da viscosidade do quimo, na degradação da parede

celular e na liberação de xiloligômetros. Uma das características principais da xilanase é sua ampla tolerância ao pH, estando esta no intervalo de 3,5 a 6,5, o que lhe permite atuar em uma porção extensa do trato gastrointestinal, desde o início da digestão até o íleo. Por outro lado, a protease é caracterizada por uma alta eficiência catalítica, capaz de degradar as proteínas da soja, especificamente, aquelas de armazenamento como conglicina e  $\beta$ -conglicina, além de atuar contra os fatores anti-nutricionais da soja como inibidores de tripsina, lectinas e proteínas antigênicas.

A fitase pertence à família das histidinas fosfatases ácidas e pode ser sintetizada a partir de microrganismos ou de plantas (JERMUTUS et al., 2001). Corresponde a uma fosfatase que catalisa o desdobramento do ácido fosfórico do inositol, disponibilizando ortofosfato para absorção, o que possibilita redução na inclusão de fontes de fósforo na dieta. A fitase facilita a ação enzimática e a absorção de minerais (RUTHERFURD et al., 2002) e melhora o aproveitamento de aminoácidos por meio da quebra do complexo fitato-proteína (SELLE e RAVIDRAN, 2007).

Neste contexto, torna-se importante salientar que as principais metas da suplementação enzimática são: remover ou destruir fatores anti-nutricionais dos grãos; potencializar a ação de enzimas endógenas; aumentar a digestibilidade dos nutrientes da dieta e diminuir a poluição ambiental causada pelo excesso de nutrientes excretados (GUENTER, 2004). Sendo assim, a inclusão de enzimas exógenas representa uma importante ferramenta na hidrólise dos PNAs, proporcionando liberação do conteúdo celular, que se torna disponível à digestão enzimática, o que aumenta a digestibilidade de alguns nutrientes (LIMA et al., 2007). Conseqüentemente reduz o impacto negativo na viscosidade da digesta (ALMIRALL et al., 1995), aumenta a energia disponível, melhora a taxa de crescimento e a disponibilidade de todos os componentes nutritivos do alimento.

Outro aspecto importante relacionado à utilização de enzimas exógenas em dietas para frangos de corte refere-se ao seu efeito sobre a saúde intestinal. De acordo com APAJALAHTI et al. (2004) o conhecimento das características dos microorganismos presente no trato gastrointestinal é importante devido ao aumento da viscosidade e redução da taxa de passagem, as bactérias são capazes de se multiplicar

e migrar pelo intestino delgado, podendo digerir e utilizar amido e proteína da digesta, competindo, assim, por compostos que não foram aproveitados pelo animal. No entanto, a suplementação enzimática reduz a quantidade de substrato disponível à fermentação bacteriana, promovendo melhor utilização dos nutrientes e redução da população microbiana.

Diante disso, é possível inferir que os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestivo, o que resulta em melhora no aproveitamento dos nutrientes presentes na dieta (CAMPESTRINI et al., 2005). A suplementação tem o objetivo de restaurar o valor nutricional de dietas formuladas com redução nos níveis nutricionais, possibilitando mesmo desempenho proporcionado por dietas que atendam as exigências nutricionais. Isto promove redução nos custos das rações (SAKOMURA e BARBOSA, 2006), podendo promover indiretamente melhor qualidade da saúde intestinal.

### **3- PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS**

A integridade intestinal é importante pois pode traduzir-se em maior eficiência nos processos de digestão e absorção de nutrientes, com redução na colonização por bactérias patogênicas capazes de danificar a mucosa, devido à sua aderência ao epitélio intestinal e à produção de compostos tóxicos, como amônia (OLIVEIRA e MORAES, 2007).

A alteração da microbiota intestinal pode ocorrer por meio do fornecimento de nutrientes que estimulem o desenvolvimento de bactérias benéficas ou que reduzam a colonização de microorganismos indesejáveis, o que resulta em menor incidência de infecções e melhor integridade da mucosa intestinal (TUCCI, 2003). Segundo FURLAN et al. (2004) a proliferação de agentes patogênicos provoca espessamento da parede intestinal, redução das vilosidades e, consequentemente, diminuição da absorção de nutrientes, o que resulta em queda no desempenho dos animais.

A restrição ao uso de promotores de crescimento em dietas devido ao provável aumento da resistência de bactérias patogênicas aos tratamentos com antibióticos tanto na saúde humana como animal (SPRING, 1999), estimula o crescimento do mercado

de produtos alternativos, entre eles os prebióticos, probióticos e outros, os quais segundo SANTOS et al. (2002) proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento da microbiota benéfica do trato gastrointestinal, resultando em melhor digestão e absorção de nutrientes.

Assim, com o intuito de minimizar os efeitos negativos causados por microorganismos patógenos, têm-se intensificado os estudos envolvendo prebióticos, probióticos e extratos vegetais como alternativas aos promotores do crescimento. Os prebióticos podem se aderir a certos patógenos, evitando sua adesão e colonização no epitélio intestinal (MACARI e MAIORKA, 2000). Assim, auxilia a flora benéfica e estimula a resposta imunológica humoral (FERKET, 2002), o que reduz os efeitos negativos da resistência bacteriana e dos resíduos em produtos avícolas (ALBINO et al., 2006). Já os probióticos podem atuar por exclusão competitiva e antagonismo direto (MENTEN, 2001), estimulando o sistema imune (LEEDLE, 2000). Com relação aos extratos vegetais, estes são pouco estudados, porém lhes são atribuídos possíveis mecanismos de ação, principalmente quanto ao estímulo à digestão e alterações na microbiota intestinal em virtude de seu efeito antimicrobiano (MELLOR, 2000).

Os problemas relacionados ao trato intestinal dos animais afetam o resultado final da produção avícola e suinícola. O uso eficiente de aditivos alimentares para melhorar a saúde intestinal depende dos seus mecanismos de ação. A utilização de promotores de crescimento em dietas com o intuito de reduzir a carga microbiana no intestino, resulta na diminuição do valor energético do alimento e aumento do teor de proteína necessária para manter e nutrir os tecidos epiteliais, direcionando os nutrientes para o crescimento. Por outro lado os aditivos não reduzem a carga microbiana, na realidade eles alteram o perfil da microbiota intestinal ao reduzirem a colonização de bactérias patogênicas e promover a atividade ou crescimento de bactérias benéficas (SANTOS e FERKET, 2007).

### **Prebióticos**

O conceito de prebiótico engloba ingredientes alimentares não digeríveis e que estimulam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de bactérias benéficas no

intestino, melhorando o perfil da microbiota (ARAUJO et al., 2007). Não sofrem ação de enzimas digestivas (ALBINO et al., 2007), tampouco de sais e ácidos produzidos pelo organismo animal, mas são seletivamente fermentados pelos microorganismos do trato gastrointestinal. Podem estar naturalmente presentes nos ingredientes ou ser adicionados às dietas através de fontes exógenas concentradas (GIBSON e ROBERFROID, 1995), com a finalidade de estimular o desenvolvimento de bactérias benéficas como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Uma das formas de atuação dos prebióticos é por meio do estímulo à síntese microbiana de ácidos láctico e acético, os quais promovem a diminuição do pH no sistema digestivo, inibindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas em função da alta sensibilidade destas a ambientes ácidos (MATHEW et al., 1993).

Os principais representantes dos prebióticos são oligossacarídeos que agem diretamente no trato digestório, impedindo o estabelecimento de alguns microrganismos patogênicos e melhorando a morfologia intestinal por meio da diminuição na renovação das células epiteliais, além do aumento na absorção de nutrientes (HOUDIJK et al., 1999). SPRING et al. (2000) relataram evidências dos efeitos dos oligossacarídeos, entre eles os mananoligossacarídeos, ao ligarem-se às fímbrias das bactérias patogênicas, tornando estas indisponíveis à aderência na mucosa intestinal, sendo, então, eliminadas por exclusão competitiva.

Os prebióticos mais importantes são compostos de hexoses como glicose, frutose, galactose e manose e as pentoses (IMMERSEEL et al., 2004), sendo que frutose e manose são componentes dos dois mais importantes grupos utilizados, os frutoligossacarídeos (FOS) e os mananoligossacarídeos (MOS), respectivamente. Os FOS diferem dos MOS pelo fato de servirem de substrato para bactérias *Bifidobacterium* e outras bactérias benéficas, além disso, aceleram o crescimento e a inibição da colonização de bactérias patogênicas, não enriquecendo a população microbiana (SANTOS Jr e FERKET, 2007), devido à ligação aos patogênicos e eliminação no trato intestinal, consequentemente, estimulando o sistema imunológico (SPRING et al., 2000, SCAPINELLO et al., 2001) e a microbiota intestinal, ligam-se a uma ampla variedade de micotoxinas e preservam a integridade da superfície de

absorção intestinal. Com isso os benefícios são baseados em propriedades que incluem a modificação da microbiota intestinal, a redução na taxa de turnover da mucosa e a modulação do sistema imune no lúmen intestinal (OLIVEIRA e MORAES, 2007).

Os MOS são encontrados principalmente na parede celular das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e vem sendo utilizados na indústria como adsorvente de bactérias patógenas (SANTOS et al., 2008). Seu modo de ação baseia-se na capacidade de se ligarem às fímbrias das bactérias patogênicas impedindo que se liguem ao epitélio intestinal e, consequentemente, que colonizem o trato gastrointestinal (COLLET, 2003). Podem também ocupar sítios das células epiteliais na mucosa intestinal, onde bactérias patogênicas poderiam se prender. É importante destacar que a aderência é um fenômeno específico de reconhecimento entre o microrganismo e as células do animal infectado e ocorre através da ligação entre adesinas fimbriais e não fimbriais com os receptores correspondentes na superfície celular (HEILBERG e SCHOR, 2003).

As fímbrias são filamentos protéicos delgados que se projetam da superfície da bactéria e a adesão ocorre quando sítios de ligação em suas extremidades reagem com receptores específicos situados na superfície das células do hospedeiro. Algumas fímbrias têm sua aglutinação com eritrócitos, a qual é inibida pela D-manoose, sendo conhecidas como manose-sensíveis ou fímbria tipo 1 (MORRIS, 1983). Portanto, a aderência mediada pela fímbria tipo 1 é bloqueada por D-manoose, mas não pela adição de outros monossacarídeos ou por seus derivados (HEILBERG e SCHOR, 2003).

As bactérias gram-negativas portando fímbria de tipo 1 ligam-se aos MOS ao invés de se ligarem às células epiteliais, percorrendo o trato sem colonizá-lo (SANTOS Jr e FERKET, 2007), o que remove certas bactérias patogênicas. As fímbrias tipo 1 são estruturas encontradas em diferentes enterobactérias tais como: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella spp*, *Salmonella*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Serratia*, *Providencia spp*, *Erwinia* (CLEGG e GERLACH, 1987).

Alguns microrganismos têm a capacidade de reconhecer sítios de ligação em açúcares como se fosse a mucosa intestinal, reduzindo a colonização no intestino por bactérias patogênicas (PELICANO et al., 2002). Com isso, além da menor incidência de

infecções tem-se a mucosa inteiramente apta às suas funções de secreção, digestão e absorção de nutrientes (IJI e TIVEY, 1998). O bloqueio dos sítios de ligação na mucosa entérica, pelas bactérias intestinais, pode reduzir a área de interação nos cecos pelas bactérias patogênicas (CARDOSO, 2006), excluídas por competição (PETRI, 2000).

### **Probióticos**

O conceito moderno de probiótico foi definido por FULLER (1989), o qual considerou probióticos como sendo microorganismos vivos que, suplementados constantemente na dieta, afetam benéficamente o organismo hospedeiro, atuando no equilíbrio da microbiota intestinal. Para um probiótico ser considerado eficaz deve exercer efeito benéfico; não ser patogênico e/ou tóxico; conter um grande número de células viáveis; ser capaz de sobreviver ao processo digestivo intestinal; manter-se viável durante a estocagem até seu uso em dietas; ter boa palatabilidade ou não interferir nas propriedades sensoriais; e ser isolado ou detectado em seu hospedeiro (COLLINS e GIBSON, 1999).

Recentemente, SZAJEWSKA et al. (2006) atribuíram outras características ao microorganismo probiótico, como ser de origem humana; não patogênico; apresentar-se resistente ao processamento e estável à secreção ácida e biliar; possuir capacidade de adesão à célula epitelial e de persistir no trato gastrointestinal, influenciando a atividade metabólica local.

Os microrganismos probióticos alteram favoravelmente a flora intestinal, por inibirem o crescimento de bactérias patogênicas, promoverem digestão adequada, estimularem a função imunológica local e aumentarem a resistência à infecção (MORAIS e JACOB, 2006). Os probióticos agem competindo por sítios de ligação ou por exclusão competitiva, formando uma barreira às bactérias patogênicas, as quais são excluídas por competição.

Vários microrganismos são utilizados como probióticos, entre eles destacam-se os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis* e *Streptococcus*

*thermophilus*; além de outros, como o *Bacillus subtilis*, *Bacillus touyoi*, *Aspergillus oryzae*, *Torulopsis sp.* e *Bifidobacterium bifidum* (CHIQUIERI, 2003),

Uma das ações atribuídas aos probióticos, em especial aos *Lactobacillus*, é a sua capacidade de aderência aos receptores intestinais, não sendo eliminados pelos movimentos peristálticos, o que impede que bactérias patogênicas como *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* desempenhem efeito enteropatogênico (FOOKS e GIBSON, 2002). Além disso, alguns *Lactobacillus* têm a capacidade de exercer efeito sobre a expressão do gene da mucina, estimulando a produção de muco, o que contribui para a eficácia do papel da mucosa intestinal como barreira de proteção (MACK et al., 2003).

Acredita-se que os microrganismos probióticos também estejam envolvidos na produção de enzimas, vitaminas e na desconjugação de sais biliares, permitindo-lhes transformar compostos pouco solúveis ou não digestíveis em substâncias altamente solúveis (BARROS, 2007). Um exemplo disto é o *Bacillus subtilis*, o qual é capaz de produzir catalases e enzimas (SANCHES, 2004) que aumentam o consumo de oxigênio, beneficiando o crescimento de *Lactobacillus*, que, por sua vez, produzem ácido lático, inibindo a colonização de *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium* e *Campylobacter* (FLEMMING, 2005).

BARROS (2007) reportou que *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* secretam enzimas proteolíticas e lipolíticas, auxiliando o hospedeiro a digerir alguns substratos. Porém esses microrganismos apenas transitam pelo intestino juntamente com o conteúdo e não se aderem ao epitélio, atingindo o lúmen do intestino com maior número de microrganismos viáveis quando comparado ao *Lactobacillus acidofilus*. Tal comportamento deve-se, segundo COPPOLA e TURNES (2004), ao fato desses microrganismos estarem na forma esporulada e, consequentemente, não serem destruídos durante o processamento da ração. Sabe-se que o gênero *Bacillus* é resistente ao calor, umidade, calor seco, à radiação ultravioleta, à radiação gama, agentes oxidantes e pressão (KÜRTI, 2004), sendo de fácil obtenção e reduzido custo de produção (SILVA, 2006).

## **Óleos Essenciais**

A busca por novas alternativas para controle de enfermidades em criações comerciais intensificou-se em virtude do aumento no número de patógenos resistentes aos antibióticos e ionóforos, além da crescente preocupação pública relacionada às resistências patogênicas aos aditivos utilizados. É importante considerar que uma estratégia alternativa para ser comercialmente aceita deve proporcionar retorno econômico e eficiência de produção, sendo esta também sustentável. Na linha de produtos alternativos encontram-se os óleos essenciais, os quais possuem potencial antimicrobiano significativo (COSTA et al., 2007; SANTURIO et al., 2007), além de outras propriedades, tais como de estimular as enzimas digestivas e pancreáticas (JANG et al., 2007), assim como a resposta imune (MELLOR, 2000).

O termo óleo essencial, também conhecido como óleos voláteis, refere-se a líquidos obtidos a partir de derivados de plantas (JESUS, 2007) ou podem ser produzidos sinteticamente (ZHANG et al., 2005). A nomenclatura vem de sua raiz alquímica do século XVI, por meio do reformador de medicina suíço Paracelsus Von Honhenheim, que chamou de componente efetivo de uma droga de “quinta essentia” (GUENTHER, 1948), que pode ser obtido por métodos de compressão, extração, fermentação e destilação a vapor (VAN de BRAAK e LEUTEN, 1999) ou atividade enzimática seguida da destilação a vapor de água (TOLEDO et al., 2007).

Os óleos essenciais constituem-se de substâncias complexas voláteis, geralmente lipofílicas (SIMÕES e SPITZER, 1999) e com muitos componentes em diferentes concentrações, como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, etc. Em geral, um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SANTURIO et al., 2007), o que lhe confere características próprias de odor e sabor.

Determinadas misturas de óleos essenciais são compostas por grupamentos fenólicos, tais como timol, eugenol, piperina, cresol e ácido benzóico, as quais apresentam atividade antimicrobiana, antifúngica (LEE et al., 2004) e antioxidante, principalmente, pelo fato do anel fenólico apresentar elétrons livres (JESUS, 2007). Os fenóis agem contra as bactérias de forma similar aos antibióticos sintéticos, ou seja,

alterando a membrana celular bacteriana, pelo aumento de sua permeabilidade, o que resulta no desequilíbrio aquoso e na morte celular (JESUS, 2007). FUKAYAMA et al. (2005) destacaram que as propriedades antimicrobianas do timol expressaram-se por meio de sua atuação sobre a membrana celular bacteriana, por impedir sua divisão mitótica, causando desidratação nas células, o que impediu a sobrevivência de bactérias patogênicas.

Assim, os principais mecanismos de ação dos óleos essenciais relacionam-se à sua capacidade de aumentar a permeabilidade da parede celular da microbiota, além de desativar a atividade enzimática celular (SIKKEMA et al., 1995), principalmente, na porção inferior do intestino delgado onde são ativos (LANGHOUT, 2005). Por meio destas ações, os óleos essenciais diminuem o crescimento bacteriano e isso faz com que microrganismos produtores de toxinas utilizem sua energia para se manterem viáveis, sobrando pouca ou nenhuma energia para a produção de toxinas (SUZUKI et al., 2008).

Entretanto, é possível constatar que diferentes modos de ação dos óleos essenciais compõem seus mecanismos de inibição aos microrganismos (JESUS, 2007). KNOWLES (2002) mencionou que são bem conhecidos os efeitos antibacterianos, antiparasitários e, mais recentemente, antioxidantes de substâncias bioativas, originárias de extratos de plantas e que apresentam excelente efeito na dieta de animais.

De acordo com TOLEDO et al. (2007), vários dos componentes dos óleos essenciais possuem um amplo espectro com propriedades antimicrobianas, entre elas, inibição de crescimento de leveduras, fungos e bactérias. Além disso, tais autores consideraram a hipótese dos óleos essenciais melhorarem o desempenho dos animais devido ao aumento da palatabilidade da ração, ao estímulo à secreção de enzimas endógenas e, consequentemente, da função digestiva e ao controle da microbiota intestinal, o que auxilia no tratamento de infecções subclínicas.

Relatos encontrados na literatura mostram resultados promissores quando utilizadas misturas de óleos essenciais, por reduzirem a colonização e proliferação de *Clostridium perfringens* (MITSCH et al., 2004), *Salmonella* (SANTURIO et al., 2007) e

devido ao controle de coccidiose (GIANNENAS et al., 2003, SAINI et al., 2003a, OVIEDO et al., 2005), o que, consequentemente, reduz a incidência de enterite necrótica (SAINI et al., 2003b).

Diante de tais fatos e com a pressão social para diminuir a utilização de antibióticos sintéticos em dietas para animais de produção, vem ocorrendo aumento da mobilização de pesquisadores e produtores com intuito de promover melhora no desempenho dos animais em conjunto com a redução de problemas sanitários e de prejuízos econômicos, o que tornará tais produtos mais aceitos pelo mercado consumidor.

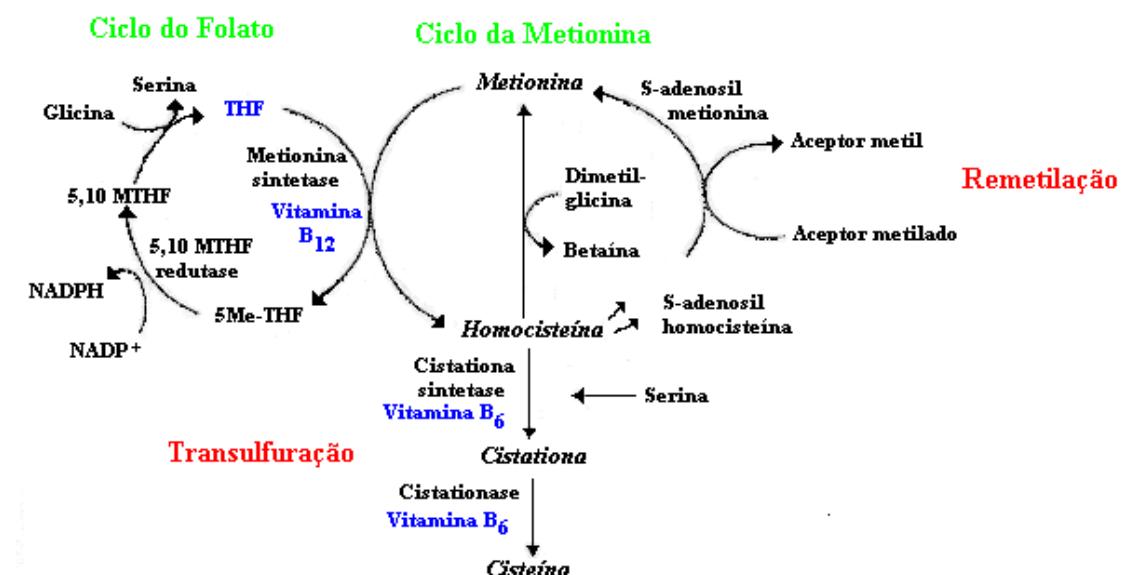
#### **4- BETAÍNA**

Descoberta inicialmente a partir de um extrato do suco de beterraba (*Beta vulgaris*) ainda no século XIX (CRAIG, 2004) e posteriormente encontrada em diversas espécies vivas, a produção de betaína utilizada na alimentação animal é oriunda da beterraba açucareira através da extração de componentes solúveis formado de um caldo base, na qual é purificado por carbonação e concentrado para cristalização do açúcar até obtenção do melaço, onde 50% do açúcar e praticamente toda betaína são separadas por cromatografia (VERRESCHI, 2000).

A betaína é um composto aromático encontrado naturalmente nas células sintetizada por uma grande variedade de microorganismos e plantas (MACNEIL et al., 1999), participando da metabolização dos lipídeos e nitrogênio. É um composto metabólico oriundo da oxidação da colina que deriva da perda do grupamento metil a partir da colina no ciclo da adenosil-metionina à cisteína, funcionando como poupadour de metionina e/ou colina nas funções metabólicas (PANIZ et al, 2005), com isso direciona mais metionina para síntese protéica (METZLER-ZEBELI et al., 2009), podendo reduzir a inclusão de metionina e colina nas dietas. Mais especificamente, a betaína age como um doador de metil para a homocisteína formadora de metionina.

A homocisteína é um aminoácido sulfurado, metabólico da metionina, formado a partir da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou do catabolismo (FONSECA et al., 1999), a metionina, principalmente no fígado, catabolizada principalmente pela via

da transulfuração (DUCE et al., 1988). No fígado a metionina é catabolizada dando origem a S-adenosilmetionina (SAM), cofator enzimático envolvido na transferência de grupos metil formada a partir de adenosina tri-fosfato (ATP), S-adenosil-homocisteína e homocisteína (COOPER, 1983). No entanto pode ocorrer a remetilação, onde a homocisteína adquire um grupo metil da N-5-metiltetrahidrofolato (MTHF) ou betaina para formar a metionina, onde a reação com MTHF acontece em todos os tecidos, sendo dependente da vitamina B12 (PEREIRA, 2006). A regulação do metabolismo da homocisteína é através de SAM, folatos e estado de oxidorredução (FONSECA et al., 1999). As vias de transulfuração e remetilação são mostradas na figura 1.



**Figura 1:** Ciclo da metionina mostrando a relação da homocisteína com as vias de transulfuração e remetilação (DENNIS e ROBINSON, 1996).

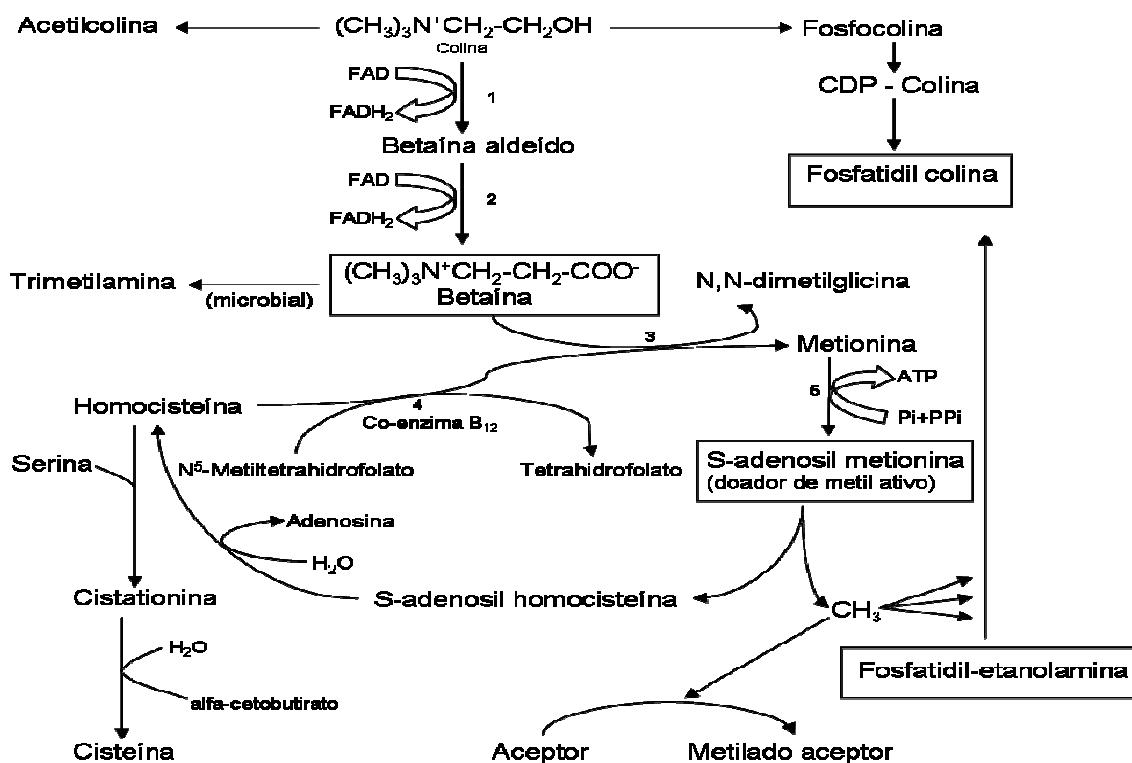
O acúmulo de betaina nas células proporciona uma proteção contra o estresse osmótico permitindo normalmente que ocorram as atividades metabólicas nessas condições (AUGUSTINE et al., 1997), atuando como fonte doadora de grupos metil assim como a colina e a metionina, que precisam passar por transformações para serem utilizadas pelos animais: a colina deve ser convertida em betaina na mitocôndria

celular e a metionina precisa ser ativada através da síntese de S-adenosil-metionina (SAM) (BETANCOURT, 1999).

Na ausência de síntese de metionina, aumenta a produção de CoA acetil, que desempenha diversas funções metabólicas, principalmente como um precursor para a síntese do ácido graxo. A suplementação com betaina acarreta na maior síntese da metionina e um decréscimo de CoA acetil, consequentemente a menor lipogênese.

De acordo com VERRESCHI (2000), a colina é oxidada à betaina através da enzima colina-oxidase, que por sua vez esse produto oriundo da oxidação pode poupar metionina através da doação de grupos metil para regeneração desse aminoácido, que normalmente a metionina poderia ser sintetizada ou originária das dietas, sendo utilizada na formação de proteínas. A metionina é fonte sulfúrica para biossíntese de cisteína (forma encontrada no sangue e nas pontes de dissulfeto) através de processos catabólicos (transulfuração) garantindo o suprimento de cistina (cisteína+cisteína) que evita sua deficiência. A conversão de cisteína à metionina não ocorre, no entanto a cistina não supre as necessidades dietéticas de metionina (PANIZ et al., 2005).

Com isso a necessidade de garantir um mínimo de aminoácidos sulfurados na dieta é recomendável manter um mínimo de metionina (Figura 2). Nessas condições compostos como colina e betaina podem substituir parte da metionina (SCOTT et al., 1982).



**Figura 2:** Reação da colina, betaína e metionina. Oxidação da colina pela colina oxidase originando a betaína aldeído que reage com a betaína aldeído desidrogenase formando a betaína. A remetilação de homocisteína à metionina requer betaína. As enzimas incluídas são: (1) colina oxidase; (2) betaína aldeído desidrogenase; (3) betaína homocisteína metiltransferase; (4) metiltetrahidrofolato- homocisteína metiltransferase; (5) metionina adenosil transferase. (Adaptado de VERRESCHI, 2000)

Além da possibilidade de poupar metionina e colina perante sua capacidade de doadora de grupamento metil, McDEVITT et al., (2000) observaram com a suplementação de betaína em frangos de corte, efeito de modificador na carcaça atribuído a uma carne magra com alta biodisponibilidade de metionina e cistina na deposição proteica. A betaína atua na diminuição da deposição de gordura na carcaça através da síntese de metionina via transmetilação da homocisteína (PARTRIDGE, 2002), produzindo um metabólito, a glicina, que também é um aminoácido importante na síntese protéica (HRUBY, 2002), promovendo o crescimento muscular (NIANG, 2005).

A função osmoprotetora promovida pela adição da betaina é particularmente importante para microrganismos e plantas que necessitam sobreviver em condições adversas tais como a falta de água, salinidade alta e até mesmo o congelamento (MUÑOZ-CLARES e VELASCO-GARCIA, 2004), ocorrendo o aumento nos níveis de betaina com o aumento de estresse, onde as enzimas biossintéticas estresse-dependentes são estimuladas a produção em nível mitocondrial (CRAIG, 2004), o que aumenta os osmoprotetores altamente solúveis em pH fisiológico e não tóxicos no interior das células, aumentando a pressão osmótica no interior do citoplasma e estabiliza as proteínas e membranas quando o nível de sais e a temperatura são desfavoráveis (MACNEIL et al., 1999).

A betaina pode aumentar a resistência osmótica das células sob estresse provocado pela seca ou alta salinidade evitando a perda de água e substituindo sais inorgânicos (VERRESCHI, 2000), minimizando os prejuízos da desidratação celular em condições de estresse. Atua ativamente nas células, substituindo o potássio intracelular e mantém o balanço de água, atribuindo maior resistência osmótica e protegendo as funções de trocas iônicas e temperatura (YANCEY et al., 1982).

A manutenção do volume celular gera gasto de energia metabólica (ATP) envolvidos no mecanismo da bomba de sódio-potássio, com isso a suplementação de betaina apresenta vantagem no bombeamento de eletrólitos nas células, envolvendo o menor gasto energético pela manutenção da concentração hídrica celular (GOLDFLUS, 1998; REMUS, 2001), destinando a energia gasta na manutenção celular para outros processos metabólicos de produção e crescimento, trazendo benefícios no incremento do desempenho produtivo.

A utilização de betaina pode prevenir diarréias suínos em função da resposta ao quadro de hiperosmolaridade, dessa forma o acúmulo do aditivo suplementado exerce um efeito protetor (KIDD et al., 1997), controlando a osmolaridade intracelular e concentração de eletrólitos. Em condições de estresse, como diarréia, aumenta a necessidade S-adenosilmetionina (SAM) devido ao fato da metilação ser importante no fortalecimento do sistema imunológico, assim grande parte da metionina é utilizada para produzir SAM interferindo na síntese protéica (RIBEIRO, 2000).

Dessa forma, a suplementação de betaina em dietas de animais monogástricos auxilia o estresse osmótico reduzindo o estresse animal em casos de diarréias em animais após desmame e coccidiose em aves (VERRESCHI, 2000). A formação de uma situação de hiperosmolaridade intestinal e uma estimulação do acúmulo de betaina nas células epiteliais do intestino, que exerce o potencial osmoprotetor da molécula (KIDD et al., 1997).

A função osmoprotetora é considerada como uma grande vantagem da aplicação da betaina em dietas animais, porém sua atividade como doadora de grupamentos metílicos possui uma posição de destaque na nutrição com resposta positivas no desempenho das aves (TEIXEIRA, 2007), possibilitando ainda poupar metionina e colina, reduzindo a inclusão nas dietas.

## 5- REFERÊNCIAS

- ALBINO, L.F.T.; FERES, F.A.; DIONIZIO, M.A.; ROSTAGNO, H.S.; VARGAS, JR. J.G.; CARVALHO, D.C.O.; GOMES, P.C.; COSTA, C.H.R. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**. v.35, p.742-749, 2006.
- ALMIRALL, M.; FRANCESCH, M.; PEREZ-VENDRELL, A.M.; BRUFAU, J.; ESTEVE-GARCIA, E. The differences in intestinal viscosity produced by barley and glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than cocks. **Journal of Nutrition**, v.135, p.947-955, 1995.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, p.223-232, 2004.
- ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M. R.; LIMA, C.B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasílica**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

AUGUSTINE, P.C.; MECNAUGHTON, J.L.; VIRTANEN, E. Effect of betaine of the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. **Poultry Science**, v. 76, n. 6, p. 802-809, 1997.

BARROS, D.S. **Probiótico e prebiótico na ração de matrizes suínas e seu efeito sobre a leitegada e intervalo desmama estro.** 2007. 65p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Mato Grosso, 2007.

BEDFORD, M.R. The effect of enzymes on digestion. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.5, n.4, p.370-378, 1996.

BETANCOURT, R. **Betafin:** Conceitos básicos e novas aplicações na nutrição de suínos. S1., s.n., 1999.

BORGES, S.A.; et al. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. **Poultry Science**, Ithaca, v.82, p.428-435, 2003.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2;p.254-267, 2005.

CARDOZO, E. C. **Utilização de probiótico (*Bacillus subtilis*) como aditivo alimentar em dietas de frangos.** 2006. 55 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

CARVALHO, D. C. O. **Valor nutritivo do milho para aves, submetido a diferentes temperaturas de secagem e tempo de armazenamento.** 2002. 78f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CHIQUIERI, J. **Probiótico e prebiótico na alimentação de suínos em crescimento e terminação.** 2003. 59 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes – RJ, 2003.

CHOCT, M. Carbohydrate and fibre digestion in monogastric animals. **ASA Technical bulletin**, AN34, 2001.

CHOCT, M.; KOCHER, A.; WATERS, D. L. E.; PETTERSSON, D.; ROSS, G. A comparison of three xylanases on nutritive value of two wheats for broiler chickens. **Br. J. Nutr.** 92:53-61, 2004.

CLARKSON, K.; JONES, B.; BOTT, R. et al., Enzymes: screening, expression, design and production. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition.** Londres, Cabi international, p.315-352, 2001.

CLEGG, S.; GERLACH, G.F. Enterobacterial Fimbriae. **Journal Bacteriol**, Washington, v.169, n.3, p.934-938, 1987.

COLLET, S. Saúde e Imunidade: Como obter o equilíbrio ideal. **Feeding Times**. v.8, n.2, p.13-14, 2003.

COLLINS, M. D.; GIBSON, G. R. probiotics, prebiotics and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69 (Suppl.1), p.1042S-1057S, 1999.

COOPER, A. J. L. Biochemistry of sulfur containing amino acids. **Annu Rev Biochem**, v. 52, p. 187-222, 1983.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C.G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1297-1303, jul-ago, 2004.

COSTA, F.G.P.; CLEMENTINO, R.H.; JÁCOME, I.M.T.D.; NASCIMENTO, G.A.J.; PEREIRA, W.E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.5, n.2, p.63-71, 2004.

COSTA, L.B.; et al. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.589-595, 2007.

COWIESON, A.J. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p. 293–305, 2005.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.84, p.1860-1867, 2005.

CRAIG, S.A.S. Betaine in human nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 539-549, 2004.

CUTAIT, M.S.; BERCOVICI, D.; CASTRO, F.F. ;et al. Guia de Aditivos. **SINDIRACÕES**, 2005.

DENNIS V. W., ROBINSON K., Homocysteinemia and vascular disease in end-stage renal disease. **Kidney Int Suppl**. v. 57, p. S11-7, 1996.

DOURADO, L.R.B. **Enzimas exógenas em dietas para frangos de corte**. 2008. 80f. Dissertação de Doutorado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

DUCE, A. M. ; et al. S-adenosyl-L-methionine synthetase and phospholipid methyltransferase are inhibited in humans cirrhosis. **Hepatology**, v. 8, p. 65-8, 1988.

FERKET, P.R. Use of oligosaccharides and gut modifiers as replacements for dietary antibiotics. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 63., 2002, Minnesota. **Proceedings...** Minnesota: Eagan, 2002. p.169-182.

FISCHER, G.; MAIER, J.C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V.L. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Dietas à Base de Milho e Farelo de Soja, com ou sem Adição de Enzimas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.31, n.1, p.402-410, 2002 (suplemento).

FLEMMING, J.S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte.** 2005. 111p. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2005.

FONSECA, V.; GUBA, S. C.; FINK, L. M. Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. **Endocrine Reviews**, v.20, n. 5, p. 738-59, 1999.

FOOKS, L.J.; GIBSON, G.R. Probiotics as modulators of the gut flora. **Br J. Nutr.** v.88, p:S39-S49, 2002.

FUKAYAMA, E.H.; BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A.; KATO, R.K.; MURGAS, L.D.S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.34, n.6, p.2316-2326, 2005 (supl.)

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, p.365-378, 1989.

GOLDFLUS, F. Aplicação de Betaína em Dietas de Frangos de Corte. In: **SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS**, Campinas, 1998, p. 21-26.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004. Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú, 2004. p. 6-28.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZAHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A. B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Arch. Anim. Nutr.** 57:99–106, 2003.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, B.M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, Bethesda, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GOLDFLUS, F. Aplicação de Betaína em Dietas de Frangos de Corte. In: **SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS**, Campinas, 1998, p. 21-26.

GUENTHER, E. **The essential oils**. D. Van Nostrand, New York, v.1, p.81, 1948.

HEILBERG, I.P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 49, n.1, São Paulo, 2003.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble no-starch polysaccharides in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p.415-422, 2004.

HOUDIJK, J.G.M. et al. Apparent ileal and total-tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary nondigestible oligosaccharides. **Journal Animal Science**, Savoy, v.77, n.1, p.148-158, 1999.

HRUBY, M. Increasing breast meat in broilers and turkeys. **Warr Publishing Company, Poultry International**, 2002.

HUISMAN, M. M. H.; SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. Glucuronoarabinoxylans from maize kernel cell walls are more complex than those from sorghum kernel cell walls. **Carb. Polym.** 43:269-279, 2000.

IJI, P.A.; TIVEY, D.R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **Word's Poultry Science Journal**. v. 54, p. 129-43, 1998.

IMMERSEEL, F.V.; BUCK, J.; PASMANS, F.; HUYGHEBAERT, G.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. **Avian Pathology**, 33 (6), p.537-549, 2004.

JANG, I.S. et al. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.304–315, 2007.

JERMUTUS, L.; TESSIER, M.; PASAMONTES, L. et al. Structure-based chimeric enzymes as an alternative to directed enzyme evolution: phytase as a test case. **Journal of Biotechnology**, v. 85, p. 15–24, 2001.

JESUS, D.C. **Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Oreganum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*)**. 2007. 117p. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, 2007.

KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. Nutritional and osmoregulation functions of betaine. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.125-139, 1997.

KLASING, K.C.; ADLER, K.L.; REMUS, J.C.; CALVERT, C.C. Dietary betaine increases intraepithelial Lymphocytes in the duodenum of coccidian-infected chicks and increases functional properties. **Journal of Nutrition**, v.132, n.8, p.2274-2282, 2002.

KNOWLES, J. R. **Microbial adhesion and its control using natural and synthetic biocides**. United Kingdom: South Bank University London, 2002.

KÜRTI, P. Microbial balance and optimal digestion in pigs. **International Pig Topics**, Hørsholm, Denmark, v.16, n.7, p. 11-13, 2004.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, SP. **Anais...** Santos: Apinco p.21-33, 2005.

LEE, K.W.; EVERTS, H.; BEYNEN, A.C. Essential oils in broiler nutrition. Int. **Journal Poultry Science**, v.3, p.738-752, 2004.

LEEDLE, J. Probiotics and DFM's – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, Campinas, 2000. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2000. p.25-40.

LIMA, A.C.F.; HARNICH, F.A.R.; MACARI, M.; PIZAURO JR, J.M. Avaliação do desempenho de frangos de corte alimentados com suplementação enzimática e probiótica. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, v.18, n.2, p.153-157, 2002.

LIMA, M. R.; SILVA, J. H. V.; ARAUJO, J. A.; LIMA, C. B.; OLIVEIRA, E. R. A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.4, p.99-110, 2007.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO'2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas : FACTA, 2000. v.2, p.161-174

MACK DR, AHRNE S, HYDE L, WEI S, HOLLINGSWORTH MA. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. **Gut**. v.52, p.827-33, 2003.

MACNEIL, S.D.; NUCCIO, M.L ; HANSON, A.D. Betaine and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering or stress resistance. **Plant Physiology**, v.120, n.4, p.945-949, 1999.

MATHEW, A.G. et al. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. **Journal Animal Science**, Savoy, v.71, n.6, p.1503-1509, 1993.

McDEVITT, R. M.; MACK, S.; WALLIS, I. R. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcass characteristics. **Br. Poult. Sci.**, v.41, p.473–480, 2000.

MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v.16, n.4, 2000.

MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p.141-157.

METZLER-ZEBELI, B.U.; EKLUND, M.; MOSENTHIN,R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.65, p.419-441, 2009.

MILTENBURG, G. Promotores e Aditivos de Crescimento em Avicultura: Estado da Arte. In: Conferência APINCO'2000 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2000, Campinas. **Anais...**Campinas, FACTA, v.2, 2000, p. 205 – 215.

MINAFRA, C.S. **Produção e suplementação com α-amilase de Cryptococcus flavus e Aspergillus niger HM 203 na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.** p.141, 2007. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 2007.

MITSCH, P., ZITTERL-EGLSEER, K.; KOHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, v.83, p.669-675, 2004.

MORAIS, B. M. e JACOB, C. M. A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p.189-197, 2006.

MORRIS, J.A. *Escherichia coli* fimbrial adhesins. **Pig News and Information**, v.4, n.1, p.19-21, 1983.

MUÑOZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA, R. Génio Y figura de la betaina aldehído deshidrogenasa. **Mensage Bioquímico**, v.28, p. 203-222, 2004.

NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: Conferencia Apinco 2007, Santos. **Anais...** Santos, FACTA, 2007. p. 307-327.

NIANG, T. M. S. **Suplementação de betaina em rações de frangos de corte infectados experimentalmente com *Eimeria acervulina* (Tyzzer, 1929)**. 2005. 105p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005.

OLIVEIRA, M.C.; MORAES, V.M.B. Mananoligossacarídeos e enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para aves. **Ciência Animal Brasileira** , v.8, n.3, p.339-357, jul./set. 2007.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-Related Influence of a cocktail of Xylanase, Amylase, and Protease or Phytase Individually or in Combination in Broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 77–86, 2007.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A.; CUNHA, F.; MARTINS DA SILVA, E.C.; BORGES, S.A. Adição de níveis crescentes de complexo enzimático em rações com soja integral desativada para frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 31-35, 2006.

OVIEDO-RONDON, E. O.; CLEMENTE-HERNANDEZ, S.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. Responses of coccidia-vaccinated broilers to essential oil blends supplementation up to forty-nine days of age. **J. Appl. Poult. Res.** v.14, p.657–664, 2005.

PANIZ, C.; GROTTO, D.; SCHMITT, G.C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K.L.; POMBLUM, V.J.; GARCIA, S.C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 5, p. 323-34, 2005.

PARTRIDGE, G. Betaine from sugarbeet gives an energy boost. **Pig International**, v.32, n.1, p.21, 2002.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. Prebióticos e probióticos na nutrição de aves. **Ciên. Agr. Saúde**. FEA, Andradina, v. 2, n. 1, p. 59-64, 2002.

PEREIRA, E. C. **Avaliação dos metabólitos do óxido nítrico, inibidores endógenos do óxido nítrico sintase e homocisteína na intolerância à glicose e nos diabetes**. 136p. 2006. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. 2006.

PETRI, R. **Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil**. II Simpósio de sanidade avícola, setembro de 2000. Santa Maria-RS, 2000.

RAVINDRAN, V.; HEW, L. I., RAVINDRAN, G. Influence of xylanase supplementation on the apparent metabolisable energy and ileal amino acid digestibility in a diet containing wheat and oats, and on the performance of three strains of broiler chickens. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 50, p. 1159-1163,1999.

REMUS, J. Betaine for increased breast meat yield. **Int. Poult. Prod.** 9:22–23, 2001.

RIBEIRO, P.R. **Efeitos da adição de betaína, na ração de suínos, sobre a incidência de diarréia, desempenho e características de carcaça**. 2000, 66p. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista. 2000.

RODRIGUES, P. B.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; et al. Aminoácidos Digestíveis verdadeiros do milheto, do milho e subprodutos do milho, determinados com galos adultos cecectomizados. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.30, p.2046-2058, 2001.

RUTHERFURD, S.M.; CHUNG, T.K.; MOUGHAN, P.J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **Br. Poult. Sci.**, v.44, p.568-606, 2002.

SAINI, R.; DAVIS, S.; DUDLEY-CASH, W. Oregano essential oil reduces the expression of coccidiosis in broilers. **Proc. 52<sup>nd</sup> West. Poult. Dis. Conf.**, p. 97–98, Sacramento, CA. Vet. Extension, Univ. Calif., Davis, 2003a.

SAINI, R.; DAVIS, S.; DUDLEY-CASH, W. Oregano essential oil reduces necrotic enteritis in broilers. **Proc. 52<sup>nd</sup> West. Poult. Dis. Conf.**, p.95–97, Sacramento, CA. Vet Extension, Univ. Calif., Davis, 2003b.

SAKOMURA, N. K.; BARBOSA. N. A. A. Avaliação das enzimas em dietas de frangos de corte. In: SEMINÁRIOS TÉCNICOS NUTRON, 2006, Campinas. **Anais...** Campinas, NUTRON, 2006. CD-ROM.

SANCHES, A. L. **Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame**. 2004. 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG. 2004.

SANTOS JR, A. A.; FERKET, P. R.; GRIMES, J. L.; EDENS, F. W. Dietary pentosanase supplementation of diets containing different qualities of wheat on growth performance and metabolizable energy of turkey poult. **International Journal of Poultry Science**, v.3, n.1, p.33-45, 2004.

SANTOS Jr, A.A.; FERKET, P.R. Fatores dietéticos que afetam a saúde intestinal e a colonização por patógenos. CONFERÊNCIA APINCO 2007 de Ciências e Tecnologia Avícola. **Anais...** p.143-160. Santos.

SANTOS, E. C; et al. Efeitos dos aditivos beneficiadores de crescimento sobre bactérias totais, pH intestinal e pH das rações de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD-ROM.

SANTOS, T.N.S.; CASTRO, V.; SOARES, A.L.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos na nutrição dos animais. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.3, p.573-576 Maio/Junho, 2008.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, mai-jun, 2007.

SARCINELLI, M.F.; VENTURINI, K.S.; SILVA, L.C. Produção de frango de corte. **Boletim técnico**. UFES, p.9. 25/05/2007

SCAPINELLO, C.; et al. Efeito da utilização de oligossacarídeo manose e acidificantes sobre o desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30:123–129, 2001.

SCHWARZ K.K. **Substituição de antimicrobianos por probióticos e prebióticos na alimentação de frangos de corte**. 46p. 2002. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. 2002.

SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YOUNG, R.J. The vitamins: Nutrition of the chicken. Ithaca, New York: M.L. **Scott and Associates**, p.119-276, 1982.

SEBASTIAN , S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **Word's Poultry Science**, Wageningen, v.54, n.1, p.27-47, 1998.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1–41, 2007.

SIKKEMA, J. et al. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiology Review**, v.59, p.201-222, 1995.

SILVA, A. B. A. **Influência do jejum alimentar, probióticos e antibióticos na população de enterobactérias, bactérias ácido láticas, *Bacillus* e *Salmonella* sp. em cecos e papos de frangos de corte.** 2006. 54f. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - USP, Piracicaba. 2006.

SILVA, L.P.; NÖRNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Rev. Ciência Rural**, v.33, n.4, p. 55-65, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: **SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

SPRING, P. The move away from antibiotic growth promoters in Europe. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 15., 1999, Nottingham, **Proceedings...** Nottingham: Alltech, 1999, p. 173-183.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, K.A, NEWMAN, K.E. The effect of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentration of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, p.205-211, 2000.

STRYER, L. **Bioquímica.** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 1000p.

SUZUKI, O. H.; FLEMMING, J. S.; SILVA, M. E. T. Uso de óleos essenciais na alimentação de leitões. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 6, n. 4, p. 519-526, out./dez. 2008.

SZAJEWSKA H, SETTY M, MRUKOWICZ J, GUANDALINI S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. **J Pediatric Gastroenterol Nutr.** v.42; p.:454-75, 2006.

TEIXEIRA, M. **Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com eimeria acervulina e suplementados com betaina.** 2007. 60p. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

TEJEDOR, A.A. et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.3, p.802-808, 2001.

TOLEDO, G.S.P.; COSTA, P.T.C.; SILVA, L.P.; FERREIRA, D.P.P.; POLETTO, C.J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1760-1764, nov-dez, 2007.

TORRES, D.M.; TEIXEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; SANTOS, E.C. Eficiência das enzimas amilase, protease e xilanase sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Agropecuária**, Lavras. v.27, n.6, p.1401-1408, 2003.

TUCCI, F.M. **Efeitos da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a renovação celular da mucosa intestinal, enzimas digestivas e desempenho.** Jaboticabal, 2003, 84f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista. 2003.

UCHIDA, T.; et al. Monoclonal antibodies inhibiting invasion of cultured cells by *Eimeria tenella* sporozoites. **J. Vet. Med. Sci.** n. 59, v. 8, p. 721-723, 1997.

VAN DE BRAAK, S.A.A.J.; LIJTEN, G.C.J.J. Essential oils and oleoresins: A survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. **CBI, Centre for the Promotion Imports from Developing Countries**, Rotterdam, p.116, 1999.

VASSALO M.; FIALHO E.T.; OLIVEIRA A.I.G.; TEIXEIRA A.S.; BERTECHINE A.G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30kg de peso vivo. **Rev. Soc. Bras. Zootec.** 1:131-138, 1997.

VERRESCHI, D.C. **Efeito do uso da betaina na alimentação do Pacu, *Piaractus mesopotamicus*.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2000.

VOHARA, A.; SATYANARAYANA, T. Pitases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 29-60, 2003.

WALSH, G.A., et al. Enzymes in the animal feed industry. **Trends in Biotech.**, v.11, n.10, p946-957, 1993.

YANCEY, P.H.; CLARK, M.E.; HAND, S.C.; BOWLUS, R.D.; SOMERO, G.N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. **Science**, v.217, p.1214-1223, 1982.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N.K.; SILVERSIDES, F.G. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n.4, p.561-568, 1999.

ZHANG, K.Y. et al. Evaluation of Microencapsulated Essential Oils and Organic Acids in Diets for Broiler Chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.9, n.4, p.612-619, 2005.

## CAPÍTULO 2 – ENZIMAS EXÓGENAS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE ILEAL

**RESUMO -** O experimento foi conduzido para avaliar o efeito da eficiência enzimática em dietas com e sem redução de nutrientes na digestibilidade e desempenho de frangos de corte. Um total de 1440 pintos de corte macho (Cobb) foram distribuídos em DIC com 4 tratamentos em esquema fatorial 2 x 2 (duas dietas x com e sem a suplementação enzimática) com 8 repetições de 45 aves em cada unidade experimental. As dietas controles foram: controle positivo (com níveis nutricionais adequados) e um controle negativo (com redução de energia, cálcio e fósforo). A suplementação enzimática consistia da combinação das enzimas fitase (100g/t) e amilase, xilanase e protease (500g/t). Foram avaliados o desempenho e digestibilidade ileal da matéria seca, proteína bruta e energia ileal das aves nas fases de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. A redução dos nutrientes nas dietas controle negativo (CN) promoveu redução na energia digestível e digestibilidade da proteína, entretanto, a adição da combinação enzimática no CN melhorou a energia digestível nas duas idades, e o coeficiente de digestibilidade da proteína apenas aos 21 dias de idade, com incremento sobre o desempenho das aves. Esses efeitos não foram evidenciados com a suplementação das enzimas nas dietas com os níveis nutricionais adequados.

**Palavras-chave:** amilase, combinação enzimática, fitase, nutrição, protease, xilanase

## **ENZYMES IN BROILER CHICKENS DIETS: PERFORMANCE AND ILEAL DIGESTIBILITY**

**SUMMARY** - The experiment was conducted to study a combination of phytase and amylase, protease and xylanase supplementation in diets with and without reductions of nutrients on the performance and nutrients digestibility (Dry matter, protein, digestible energy). A total of 1440 day-old male broiler chicks (Cobb) were allocated to 32 pens of 45 chicks each. The experimental design was a completely randomized with factorial arrangement 2x2, two controls (Positive (PC) - without nutrient reduction and Negative (NC)- with nutrient reduction) and supplementation of enzymes combination in each control. The supplementation of enzymes were: phytase (100g/ton) and xylanase, amylase, protease (1000g/t). The performance and ileal digestibility of dry matter, crude protein and energy ileal during 1-21 and 22 to 42 days of age were evaluated. The reduction of nutrients in diets did affect the bird's performance. The PC diets showed the best results on performance compared to those of NC diets. The enzyme supplementation on NC promoted better nutrient digestibility and performance than those of NC without supplementation, indicating that the enzymes recovered the nutrient reduction of diets. On the other hand, no effect over the top of enzymes was observed on digestibility and performance results.

**Key words:** amylase, enzyme combination, nutrition, phytase, protease, xylanase

## **1. INTRODUÇÃO**

A diminuição dos custos de produção aliado as práticas nutricionais tem enfocado as pesquisas na inclusão de substâncias que otimizem a utilização dos nutrientes nas dietas, proporcionando melhores índices de produtividade e eficiência alimentar em frangos de corte.

Umas das alternativas mais versáteis para auxiliar o crescimento da rentabilidade na avicultura é o emprego de enzimas exógenas nas dietas, que visa melhorar a digestibilidade dos alimentos e o desempenho das aves, refletindo diretamente na eficiência produtiva. As enzimas são proteínas sensíveis a várias condições fisico-químicas. A capacidade da enzima em ligar ao substrato e permanecer ativa por longos períodos é importante para produtos que possuem finalidade comercial na nutrição animal (MINAFRA, 2007).

As enzimas são utilizadas na alimentação animal com a finalidade de complementar as enzimas endógenas e fornecer enzimas que o organismo não sintetiza (CAMPESTRINI et al., 2005), principalmente para a degradação das fibras que dificultam a digestão e impedem a ação das enzimas endógenas nos substratos a serem digeridos. A suplementação, além de suprir as deficiências enzimáticas e melhorar a utilização de matérias-primas, possibilita o uso de ingredientes alternativos (PIQUER, 1996).

A suplementação enzimática têm demonstrado melhora no desempenho animal, permitindo a redução de energia na formulação das dietas (GHAZALAH et al., 2005), sendo muito utilizada em dietas com níveis nutricionais reduzidos, buscando a melhoria no desempenho das aves e consequentemente, uma queda no custo de produção.

Por outro lado, de acordo com BARBOSA et al. (2008), o nutricionista pode escolher a forma de suplementação enzimática, por meio de duas abordagens econômicas que consideram a incorporação de enzimas exógenas nas formulações das dietas. Uma aplicação mais simples e provavelmente mais prática, chamada de “over the top” (por cima), para melhorar o desempenho de forma mais econômica, consiste em suplementar as enzimas com uma formulação padrão, sem alterar os níveis nutricionais. A alternativa seria alterar a formulação da ração, por meio da redução dos

nutrientes, e adição de enzimas exógenas para restaurar o valor nutricional da dieta-padrão que visa o mesmo desempenho de uma dieta com os níveis nutricionais recomendados.

A combinação dos complexos, tais como amilase, protease e xilanase com fitase pode ser usada satisfatoriamente com resultados positivos no desempenho das aves (COWIESON et al., 2006b).

A amilase atua basicamente na hidrólise da amilose e da amilopectina do amido, facilitando a digestão no intestino delgado e conduzindo ao aumento na utilização dos nutrientes, com consequente melhoria na taxas de crescimento (SHEPPY, 2001). A ação da xilanase ocorre na degradação da camada de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) da membrana celular, facilita o acesso da fitase ao fitato armazenado na membrana da parede celular, aumentando o aproveitamento do fósforo e consequentemente da energia (DOURADO, 2008).

A adição de proteases exógenas inativa fatores anti-nutritivos presentes em determinados alimentos, particularmente em leguminosas (COWIESON et al., 2006a), além de suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberando peptídeos menores e facilitando a ação das enzimas endógenas (LIMA, 2005). A fitase atua na molécula de fitato, que segundo DOURADO (2008), libera amido, enzimas, cofatores de enzimas, proteínas e minerais, que seriam melhor digeridos e absorvidos pelas aves, promovendo, consequentemente, melhoria no aproveitamento da energia pela ave.

Visto a importância desses aspectos, esta pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito da combinação de enzimas comerciais fitase (Phyzyme XP) e complexo amilase, protease e xilanase (Avizyme 1500<sup>®</sup>), em dietas à base de milho e farelo de soja, sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes e energia digestível em frangos de corte.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local, duração e aves experimentais**

O presente experimento foi realizado no galpão experimental, no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal-SP, com duração de 42 dias. Neste ensaio, foram utilizados 1440 pintos de corte machos com um dia de idade da linhagem Cobb®.

## **2.2 Instalações e manejo**

As aves foram alojadas em galpão experimental de alvenaria com cobertura de telha francesa, cortinas, piso cimentado e muretas laterais com 50 cm de altura do solo completados com tela de arame até o final do pé direito. O galpão foi subdividido em boxes com dimensões de 1,50 x 3,30m (área total de 4,95 m<sup>2</sup>), separados por muretas de 0,30m de altura e com tela de arame até uma altura de 1,50m. Foram utilizados 32 boxes para alojar todas as unidades experimentais, com cama composta de cepilho de madeira equipada com bebedouro de alumínio tipo copo, colocado sobre um estrado de madeira e comedouro tubular infantil. Após o 7º dia de idade, os bebedouros e comedouros iniciais foram substituídos por bebedouros pendulares automáticos e comedouros tubulares com capacidade para 20 kg.

Os pintos foram vacinados no incubatório contra as doenças de Marek e Bouba aviária, adotando um programa de vacinação nesse período experimental de: 7º dia de idade Gumboro (cepa fraca) via ocular e no 14º dia de idade New Castle e Gumboro (cepa forte) via água de bebida, utilizando leite em pó como veículo (2g/L).

Na fase inicial, cada box possuía uma fonte individual de aquecimento, onde as aves receberam aquecimento por meio de lâmpadas infravermelho (250 watts) a uma altura de 40cm do piso, posteriormente as cortinas e o aquecimento foram controlados de acordo com o comportamento das aves. O programa de iluminação foi de 23 horas de luz e 1 hora de escuro durante todo o período experimental, utilizando-se o período de escuro sempre no final de cada dia.

Diariamente, as temperaturas e umidades relativas máximas e mínimas foram registradas, utilizando-se termohigrômetros digitais distribuídos em dois pontos do galpão, situados a 10 cm da cama. As médias semanais durante o período experimental são apresentadas na Tabela 1. As aves mortas eram retiradas e anotadas para a correção do consumo de cada parcela.

**Tabela 1.** Médias semanais das temperaturas e umidades relativas máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.

Períodos (dias)	Temperatura (°C)		Umidade (%)	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
1 a 7	31,4	20,1	61	34
8 a 14	27,2	19,1	57	40
15 a 21	28,7	19,0	55	34
22 a 28	29,9	20,0	63	35
29 a 35	31,2	18,1	61	32
36 a 42	27,9	18,0	68	43
<b>Média geral</b>	<b>29,38</b>	<b>19,05</b>	<b>60,83</b>	<b>36,33</b>

### 2.3 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 8 repetições com 45 aves em cada unidade experimental, em esquema fatorial 2 x 2, constituídos de duas dietas controles, com e sem suplementação enzimática. As dietas controles foram: controle positivo (CP) com níveis nutricionais adequados e um controle negativo (CN) com redução de energia, cálcio e fósforo. A suplementação enzimática consistia da combinação das enzimas fitase (100g/t) e amilase, xilanase e protease (500g/t).

Para a formação das unidades experimentais, os pintos foram pesados individualmente e agrupados por faixa de peso, de forma que todas as parcelas apresentassem peso médio aproximados.

### 2.4 Dietas experimentais

Foram formuladas duas dietas controles, um controle positivo (CP) com os níveis nutricionais para atender as exigências nutricionais em cada fase da criação, e outra dieta controle negativo (CN) com reduções nos níveis nutricionais de EM, Ca e P baseados em outros estudos realizados pela DANISCO ANIMAL NUTRITION. Os níveis de inclusão das enzimas nas dietas foram de acordo com as recomendações do fabricante.

- Avizyme 1500<sup>®</sup> - 800U/g de xilanase, 2000U/g de amilase e 6000U/g de protease, com inclusão de 500g/t;
- Phzyme XP - 500U/g de fitase, com inclusão de 100g/t.

A composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes das dietas controles para a fase inicial (1 a 21 dias de idade) e para fase de crescimento (22 a 42 dias de idade) são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes das dietas basais para a fase inicial (1 a 21 dias de idade) e para fase crescimento (22 a 42 dias).

Ingredientes (%)	Inicial		Crescimento	
	CP	CN	CP	CN
<b>Milho</b>	52,396	56,685	58,938	64,742
<b>Farelo de Soja 45%</b>	38,287	37,804	30,914	29,330
<b>Gordura de aves</b>	4,579	1,624	5,648	2,169
<b>Sal comum</b>	0,408	0,406	0,358	0,356
<b>DL Metionina (99%)</b>	0,339	0,269	0,298	0,247
<b>HCl - Lisina (78%)</b>	0,127	0,017	0,190	0,165
<b>Calcário</b>	1,066	1,167	1,191	1,294
<b>Fosfato Bicálcico</b>	1,563	0,793	1,228	0,462
<b>Vitamina<sup>1</sup></b>	0,025	0,025	0,025	0,025
<b>Mineral<sup>2</sup></b>	0,050	0,050	0,050	0,050
<b>Anticoccidiano<sup>3</sup></b>	0,050	0,050	0,050	0,050
<b>Indicador<sup>4</sup></b>	1,000	1,000	1,000	1,000
<b>Inerte/enzima</b>	0,110	0,110	0,110	0,110
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Níveis nutricionais</b>				
<b>EM (kcal/kg)</b>	3052	2922	3200	3055
<b>Proteína Bruta (%)</b>	22,240	22,240	19,420	19,120
<b>Cálcio</b>	0,900	0,750	0,850	0,700
<b>Fósforo Disponível</b>	0,400	0,260	0,330	0,190
<b>Met+Cist total</b>	1,010	0,950	0,900	0,850
<b>Metionina total</b>	0,669	0,604	0,593	0,542
<b>Lisina total</b>	1,290	1,200	1,150	1,100
<b>Treonina total</b>	0,849	0,854	0,738	0,729
<b>Na</b>	0,180	0,180	0,160	0,160

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico inicial (Nutron) com cada quilograma do produto contendo: ácido fólico 1000mg, ácido pantotênico 15000mg, antioxidante 0,5g, niacina 40000mg, selênio 300mg, biotina 60mg, vit B1 1800 mg, vit B12 12000mg, vit B2 6000 mg, vit B6 2800 mg, vit D3 2000000 UI, vit E 15000mg, vit K3 1800 mg.

<sup>1</sup> Suplemento vitaminico crescimento (Nutron) com cada quilograma do produto contendo: ácido fólico 700mg, ácido pantotênico 13000mg, antioxidante 0,5g, niacina 35000mg, selênio 300mg, vit B1 1600 mg, vit B12 10000mg, vit B2 5000 mg, vit B6 2600 mg, vit D3 1500000 UI, vit E 12000mg, vit K3 1500 mg.

<sup>2</sup> Suplemento mineral inicial/crescimento (Nutron) com cada quilograma do produto contendo: Manganês 150000mg, Zinco 100000 mg, Ferro 100000 mg, Cobre 16000 mg, Iodo 1500 mg.

<sup>3</sup> Monensina Sódica (20%).

<sup>4</sup> Celite.

\* Para formulação das rações foram utilizadas a composição dos ingredientes das Tabelas Brasileira para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al. 2005).

## **2.5 Variáveis de desempenho**

Aos 21 e 42 dias de idade, as aves e as sobras de rações foram pesadas para mensuração dos parâmetros de desempenho: peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CR) e conversão alimentar (CA).

## **2.6 Digestibilidade dos nutrientes**

Aos 21 e 43 dias de idade, 15 aves de cada parcela experimental foram abatidas por deslocamento cervical, totalizando 120 aves por tratamento. Imediatamente após o abate, o íleo foi exposto por incisão abdominal e um segmento de 20 cm terminando a 4,0 cm da junção íleo-cecal foi removido e o seu conteúdo recolhido em recipiente plástico devidamente identificado por tratamento e repetição. Duas horas antes do abate, os frangos foram estimulados a consumir ração, para evitar que o segmento do íleo coletado apresentasse pouco conteúdo intestinal.

A digestibilidade dos nutrientes foi determinada utilizando-se o método da digestibilidade ileal. Foi utilizada uma fonte de sílica, Celite<sup>TM</sup>, adicionado a todas as dietas experimentais em nível de 1% como indicador indigestível.

Após a coleta, as digestas foram congeladas para posterior análise. O descongelamento foi realizado à temperatura ambiente e as digestas foram homogeneizadas, pesadas e submetidas à secagem por liofilização a vácuo a uma temperatura de -40°C por 72 horas. A seguir, as amostras foram moídas em micromoinho A11 basic (IKA) e juntamente com as amostras das rações experimentais, foram encaminhadas ao laboratório. Nas amostras de digesta e rações foram determinados os teores de matéria seca (MS), energia bruta (EB), nitrogênio (N) e cinza ácida insolúvel (CAI).

A proteína analisada pelo método Kjeldahl e a matéria seca (secagem definitiva), foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por SILVA e QUEIROZ (2002). Para a determinação da energia bruta, as amostras foram peletizadas, e submetidas à combustão em bomba calorimétrica (1281, PARR, Instruments, EUA).

A cinza ácida insolúvel (CAI), fração indigerível presente nas dietas e digestas, foi determinada através de uma adaptação da metodologia de VAN KEULEN e YOUNG (1977) descrita por SANTOS et al. (2008).

Com os resultados laboratoriais, foram determinados os coeficientes de digestibilidade (CD) da matéria seca e proteína bruta e os valores de energia digestível (ED), calculados com base na análise das dietas e digesta ileal, de acordo com fórmulas descritas por SAKOMURA e ROSTAGNO (2007).

## **2.7 Analises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do SAS (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5 %.

# **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1 Digestibilidade dos nutrientes e valor energético de dietas**

A análise de variância e os coeficientes de digestibilidade médios da matéria seca (MS) e da proteína bruta (PB), bem como a energia digestível aparente (EDA) das dietas aos 21 e 43 dias de idade das aves são apresentados nas Tabelas 3 e 4 respectivamente. Houve efeito de interação ( $P<0,05$ ) entre os tipos de dietas controle e a utilização ou não de enzimas para as variáveis estudadas, com exceção da digestibilidade da MS, em ambas idades.

Tanto as aves de 21 como de 43 dias de idade alimentadas com dietas contendo enzimas apresentaram acréscimo significativo ( $P<0,05$ ) na digestibilidade da MS em relação ao grupo que não recebeu aditivo. O desdobramento da interação na EDA possibilitou constatar que, ao considerar a dieta controle negativo, houve melhora significativa ( $P<0,05$ ) quando esta esteve combinada à utilização de enzimas em relação à não adição dos aditivos para aves aos 21 e 43 dias de idade.

**Tabela 3.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e da proteína bruta (CDPB) e energia digestível aparente (EDA) na base seca e na base natural de dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para aves aos 21 dias de idade.

Variáveis	Enzima	Controle		Probabilidades			CV (%)
		Positivo	Negativo	Médias	Controle	Enzima	
CDMS (%)	Sem	68,46	63,29	65,88 b	<0,0001	0,0244	0,6393
	Com	69,83	65,34	67,58 a			
	Médias	69,15 A	64,31 B				
CDPB (%)	Sem	79,72 Aa	75,31 Ba	0,0012	0,6486	0,0038	2,38
	Com	77,37 Aa	77,07 Aa				
EDA (cal/g MS)	Sem	3226 Aa	2943 Bb	<0,0001	0,2527	0,0004	2,91
	Com	3136 Aa	3107 Aa				
EDA (cal/g MN)	Sem	2833 Aa	2554 Bb	<0,0001	0,1603	0,0002	2,91
	Com	2752 Aa	2715 Aa				

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 4.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e da proteína bruta (CDPB) e energia digestível aparente (EDA) na base seca e na base natural de dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para aves aos 43 dias de idade.

Variáveis	Enzima	Controle		Probabilidades			CV (%)
		Positivo	Negativo	Médias	Controle	Enzima	
CDMS (%)	Sem	60,58	60,57	60,57 b			
	Com	62,78	66,44	64,61 a	0,0774	0,0004	0,0769
	Médias	61,68	63,51				4,50
CDPB (%)	Sem	74,11 Aa	71,69 Ab				
	Com	74,85 Aa	76,95 Aa				
	Médias	74,48	76,47	0,8682	0,0046	0,0280	3,63
EDA (cal/g MS)	Sem	3205 Aa	3035 Bb				
	Com	3279 Aa	3308 Aa				
	Médias	3242	3171	0,1552	0,0012	0,0488	4,17
EDA (cal/g MN)	Sem	2777 Aa	2607 Bb				
	Com	2806 Aa	2818 Aa				
	Médias	2791	2763	0,0688	0,0073	0,0374	4,19

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Considerando os resultados obtidos com aves aos 21 dias de idade, ao desdobrar as interações, verificou-se que quando as enzimas não foram adicionadas, as aves que receberam a dieta controle negativo apresentaram pior coeficiente de digestibilidade da PB em relação aos frangos alimentados com a dieta controle positivo. Porém, se considerar somente as aves do controle negativo, não houve melhora significativa ( $P>0,05$ ) na digestibilidade da PB com a inclusão das enzimas. Em contrapartida, frangos com 43 dias de idade alimentados com a dieta controle negativo com adição das enzimas apresentaram melhor coeficiente de digestibilidade da PB ( $P<0,05$ ) em relação às aves alimentadas com esta mesma dieta, porém, sem inclusão de aditivo.

A suplementação enzimática em dietas com níveis nutricionais reduzidos promoveu, de modo geral, melhora no aproveitamento da MS e da PB, bem como aumento da densidade calórica em dietas para frangos de corte. Entretanto, a adição do complexo enzimático em dietas com níveis nutricionais adequados ("Over the Top") não proporcionou incremento na digestibilidade dos nutrientes e, por conseguinte, no teor energético dos alimentos.

De acordo com BARBOSA et al. (2008), o CDMS reflete a digestibilidade dos nutrientes, ou seja, um aumento na digestibilidade da MS indica maior absorção dos nutrientes de uma dieta. De modo análogo, SANTOS et al. (2008) relataram que o aumento do CDMS proporcionado pela suplementação de fitase foi justificado pela melhora na digestibilidade de nutrientes como proteína bruta e minerais, o que conduziu ao incremento no aproveitamento da energia da dieta.

Existem diversos estudos na literatura que demonstraram os efeitos benéficos da adição de enzimas exógenas à dieta de frangos de corte em relação ao aproveitamento dos nutrientes. DÄNICKE et al. (1999) relataram melhora na digestibilidade da MS devido a adição de xilanase às dietas, embora não tenham observado diferenças com relação ao peso médio e consumo de ração das aves. ZANELLA et al. (1999) e RODRIGUES et al. (2003) verificaram melhora significativa no CDMS com a inclusão de um complexo enzimático constituído por amilase, protease e xilanase. MARRON et al. (2001) encontraram melhora na digestibilidade ileal da MS e na conversão alimentar

das aves com a suplementação de xilanase, assim como, GRACIA et al. (2003) observaram melhora no CDMS aos 28 dias com a suplementação de  $\alpha$ -amilase. COWIESON e ADEOLA (2005) observaram melhora no CDMS com a combinação de Avizyme 1505® e Phyzyme XP e no desempenho de frangos de corte.

Os resultados do presente estudo validam a eficácia da combinação enzimática, uma vez que a adição da combinação enzimática promoveu nas dietas com redução dos níveis nutricionais, incrementos de 5,57% na EDA na base seca e de 6,30% na base natural em aves com 21 dias de idade. Frangos aos 43 dias demonstraram de forma mais exacerbada o efeito positivo da suplementação enzimática, com aumentos de 7,33% no CDPB e 8,99% na EDA na base seca e de 8,09% na base natural.

Ao confrontar esses resultados com alguns trabalhos que avaliaram essas enzimas isoladamente, é possível inferir que o uso da combinação é bastante promissor, visto que GOMES et al. (1998), trabalhando com aves colostomizadas, além de PACK e BEDFORD (1998), encontraram aumento na energia digestível com a suplementação de Avizyme 1500® em dietas de frangos de corte. Também ZANELLA et al. (1999) ao adicionarem o complexo amilase, protease e xilanase às dietas, encontraram melhoria de 2,44% na ED de frangos de corte aos 42 dias de idade.

BARBOSA et al. (2008) observaram que a combinação de fitase com complexo amilase, protease e xilanase nas dietas melhoraram 3,46% a EDMS comparado nas médias dos controles (positivo e negativo) e 4,07% a EDMN com níveis nutricionais não reduzidos. No entanto ZHOU et al. (2009), usando um complexo semelhante encontraram melhoria de 4,58% aos 22 e 3,55% aos 42 dias de idade na energia metabolizável da ração de frangos de corte. Já TEJEDOR et al. (2001) observaram incremento da energia digestível somente com adição de fitase em dietas deficientes de Ca e P.

Por outro lado, COWIESON e ADEOLA (2005) não encontraram melhoria na ED com a suplementação das mesmas combinações enzimáticas em frangos de corte de 28 dias, embora os mesmo autores encontraram diferenças no desempenho com a mesma suplementação das combinações. OLUKOSI et al. (2007) ao trabalharem com fitase e coquetel de amilase, xilanase e protease em dietas com reduções dos níveis

nutricionais, não encontraram diferenças na ED. Entretanto nesse ensaio, somente a adição da fitase apresentaram melhora na CDMS e digestibilidade do nitrogênio, evidenciados efeitos semelhantes no peso médio das aves no ensaio de desempenho.

A melhora na disponibilidade de energia dos alimentos ou dietas com a adição de fitase (SANTOS et al., 2008) e/ou utilização da combinação entre fitase, amilase, protease e xilanase (COWIESON & ADEOLA, 2005; BARBOSA et al., 2008) já foi demonstrada. Tal fato pode estar associado à liberação de proteínas, aminoácidos, cátions, amido e enzimas endógenas, que, possivelmente, estariam ligadas à molécula de inositol fosfato (SELLE & RAVINDRAN, 2007). Além disso, segundo GRACIA et al. (2003) a suplementação de amilase reduz a síntese de  $\alpha$ -amilase pâncreática, o que, de acordo com DOURADO et al. (2009) poderia resultar em desvio da energia para o crescimento das aves. Neste sentido, LIMA et al. (2007) atribuíram à adição de enzimas, redução de perdas endógenas de aminoácidos, resultando na conservação de energia endógena que pode ser direcionada para deposição de proteína.

Entretanto, ainda existem controvérsias com relação aos reais efeitos da suplementação de amilase na dieta de frangos de corte. MINAFRA (2007) destacaram que aves possuem deficiência de  $\alpha$ -amilase pancreática no período pós-eclosão e que, com a ingestão de alimentos contendo amilase exógena, ocorre estímulo para secreção do composto endógeno. Tal justificativa corrobora com os achados de GARCIA et al. (2003), os quais forneceram  $\alpha$ -amilase durante a primeira semana de vida de pintos de corte e verificaram melhora no desempenho das aves nas fases subsequentes de criação, evidenciando melhor aproveitamento dos nutrientes e, consequentemente, maior concentração energética do alimento.

Com relação às proteases, sabe-se que estas complementam a atividade proteolítica endógena, liberando peptídeos menores, o que facilita o aproveitamento de aminoácidos. Além disso, podem auxiliar na inativação de fatores proteináceos anti-nutritivos, ou ainda degradar proteínas da soja, especificamente, aquelas de armazenamento como a conglicina,  $\beta$ -conglicina (SHEPPY, 2001), zeína e kafirina (DARI, 2006).

Têm-se demonstrado que a suplementação de enzimas proteolíticas proporcionam respostas positivas sobre a digestibilidade da proteína (GHAZI et al. 1996 e GARCIA, 1997). De acordo com SALEH et al. (2004), a adição de proteases reduziu a atividade de enzimas celulases em ensaio *in vitro* quando avaliada mistura composta por 70% de milho e 30% de farelo de soja. Além disso, observaram aumento na digestibilidade da proteína quando adicionadas celulase, protease e fitase.

Entretanto, alguns estudos indicam que outras enzimas influem sobre o aproveitamento da proteína. De acordo com PACK e BEDFORD (1998) as carboidrases têm efeito indireto na atividade proteolítica, pois promove a degradação da parede celular, o que facilita o contato entre as enzimas endógenas e o substrato a ser digerido. Além disso, a suplementação com fitase proporciona efeito positivo sobre a digestibilidade de proteínas e aminoácidos (SEBASTIAN et al. 1997) devido, principalmente, a quebra do complexo fitato-proteína. Tal complexo inibe certas enzimas digestivas endógenas, como tripsina e pepsina, em decorrência da natureza inespecífica do complexo e da ação quelatante do ácido fítico sobre os íons Ca<sup>2+</sup>, necessários para atividade destas enzimas (COUSINS, 1999). Neste sentido, SANTOS et al. (2008) observaram melhora na digestibilidade da proteína com a adição somente de fitase.

MARSMAN et al. (1997) encontraram aumento na digestibilidade ileal da proteína bruta (85,2 vs 83,7%) com a suplementação de carboidrase e protease comparada ao tratamento sem adição, embora não tenham encontrado melhorias no desempenho na fase inicial. BEDFORD (1998) observou melhora nos coeficientes ileal da proteína (80,0 vs 82,0%) com Avizyme 1500®, assim como ZANELLA et al. (1999) que obtiveram o mesmo resultado, e SCHEIDELER et al. (2005) também observaram maior retenção de proteína ( $P<0,03$ ) com aumento de quase 3% ao trabalharem com o mesmo complexo em dietas de poedeiras.

Já MENG et al. (2005) encontraram melhoria na digestibilidade ileal da proteína com combinações de carboidrases. A adição da combinação de fitase com amilase, protease e xilanase melhoraram a digestibilidade da proteína bruta (BARBOSA et al., 2008), indicando que a combinação enzimática promove aumento na digestibilidade das

proteínas. Tais achados científicos corroboram com a melhoria apresentada no CDPB aos 43 dias, quando as aves foram suplementadas com a combinação enzimática em dietas com os níveis nutricionais reduzidos, principalmente pela ação da protease presente no complexo enzimático.

Os efeitos benéficos das xilanases sobre a utilização de nutrientes estão relacionados à redução da viscosidade da digesta, o que resulta em fracionamento, de arabinoxilananas em componentes de menor peso molecular, ou seja, há aumento da despolimerização destes compostos (RAVINDRAN et al., 1999). Outra justificativa é a liberação de nutrientes encapsulados nas estruturas da parede celular, favorecendo o contato entre tais nutrientes e enzimas endógenas, o que, segundo LIMA (2005), previne distúrbios digestórios resultantes da presença de material fibroso não digerido no trato gastrointestinal de aves.

Acredita-se que a melhora no aproveitamento dos nutrientes com a adição de enzimas exógenas deve-se à ação sinérgica entre as enzimas (DOURADO, 2008), considerando que o modo de ação é dependente do microrganismo que a produziu, podendo liberar diferentes produtos conforme o tipo de reação catalítica (BHAT e HAZLEWOOD, 2001).

### **3.2 Desempenho das aves**

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentadas, respectivamente, as médias das variáveis de desempenho e as respectivas probabilidades obtidas na análise de variância da fase inicial (1 a 21 dias) e do período total da criação (1 a 42 dias) de frangos de corte alimentados com dietas contendo ou não enzimas exógenas. Nas duas fases estudadas houve efeito de interação ( $P<0,05$ ) entre tipo de dietas controle e utilização ou não de enzimas para todas as variáveis de desempenho avaliadas, exceto para conversão alimentar (CA) das aves na fase inicial.

Com o desdobramento da interação na fase inicial foi possível observar que, de modo geral, a suplementação enzimática melhorou as características de desempenho das aves alimentadas com a dieta controle negativo em relação àquelas alimentadas com o mesmo tipo de dieta, porém, que não receberam aditivo.

**Tabela 5.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para frangos de corte na fase inicial (1 a 21 dias).

Variáveis	Enzima	Controle		Probabilidades			CV (%)
		Positivo	Negativo	Médias	Controle	Enzima	
CR (kg)	Sem	1,199 Aa	1,084 Bb	<0,0001	0,0594	0,0135	3,73
	Com	1,189 Aa	1,154 Aa				
PM (kg)	Sem	0,877 Aa	0,751 Bb	<0,0001	0,0012	0,0103	4,34
	Com	0,888 Aa	0,833 Ba				
GP (kg)	Sem	0,836 Aa	0,710 Bb	<0,0001	0,0013	0,0108	4,60
	Com	0,847 Aa	0,791 Ba				
CA (kg/kg)	Sem	1,435	1,529	1,482 b			
	Com	1,406	1,460	1,433 a	<0,0001	0,0017	2,75
	Médias	1,420 A	1,494 B				

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 6.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com dietas com e sem redução dos níveis nutricionais, suplementadas ou não com enzimas, para frangos de corte no período total de criação (1 a 42 dias).

Variáveis	Enzima	Controle			Probabilidades		CV (%)
		Positivo	Negativo	Controle	Enzima	E * C	
CR (kg)	Sem	4,635 Aa	4,238 Bb	<0,0001	0,0511	0,0001	2,64
	Com	4,536 Aa	4,507 Aa				
PM (kg)	Sem	2,761 Aa	2,400 Bb	<0,0001	0,0045	<0,0001	2,79
	Com	2,698 Aa	2,622 Aa				
GP (kg)	Sem	2,720 Aa	2,358 Bb	<0,0001	0,0045	<0,0001	2,84
	Com	2,657 Aa	2,581 Aa				
CA (kg/kg)	Sem	1,704 Aa	1,797 Bb	<0,0001	0,0153	0,0070	1,50
	Com	1,707 Aa	1,746 Ba				

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com os dados apresentados, pode-se observar que houve maior CR das aves do CP sem suplementação enzimática e as aves do CN+ enzimas. Por outro lado, o PM e GP das aves que receberam a dieta controle positivo, independente de suplementação enzimática, foram superiores ( $P<0,05$ ) aos valores apresentados pelos frangos alimentados com a dieta controle negativo. Com relação à CA, houve melhor resultado para as aves submetidas à suplementação enzimática em relação àquelas que não receberam e para os frangos alimentados com a dieta controle positivo em comparação com controle negativo.

O desdobramento da interação no período total da criação permitem observar queda no desempenho das aves alimentadas com a dieta controle negativo sem suplementação enzimática quando comparadas aos animais alimentados com a mesma dieta, porém, com suplementação. Constatou-se que a suplementação da combinação enzimática foi efetiva ( $P<0,05$ ) no CN, entretanto não sendo efetiva ( $P>0,05$ ) na dieta CP.

A adição no controle positivo da combinação de enzimas, não promoveu melhoria no desempenho das aves nas duas fases avaliadas, conforme observado nas tabelas. Porém, durante a fase inicial, a suplementação enzimática na dieta controle positivo (“Over the Top”) proporcionou, de modo geral, ligeira melhora, embora não significativa. Isto demonstra que a suplementação “over the top” pode ser recomendada nesta fase, em razão da imaturidade inata do sistema enzimático de aves jovens (BARBOSA et al., 2008).

Diante dos resultados, o aumento no consumo de ração (6,45 e 6,34%) devido a suplementação enzimática, mais precisamente em decorrência da ação da fitase, nas dietas com redução dos níveis nutricionais, refletiu na melhora do peso médio (10,92 e 9,25%) e do ganho de peso das aves.

A melhora no GP e no CR com a suplementação enzimática no CN refletiu em benefícios na CA das aves em ambas as fases, que se traduziu em melhoria de 4,51% (fase inicial) e de 2,83% (período total da criação). O efeito positivo observado na fase inicial pode estar relacionado à melhor atuação das enzimas exógenas em decorrência

da maior necessidade, em virtude da imaturidade no sistema digestório conforme já citado por BARBOSA et al. (2008).

Tais resultados sugerem que a utilização da combinação de enzimas na alimentação de aves pode ser muito benéfica (COWIESON e ADEOLA, 2005; BARBOSA et al., 2008).

O reduzido CR pelas aves do tratamento controle negativo sem suplementação enzimática ocorreu principalmente, devido provavelmente à deficiência de fósforo na dieta. Em dietas com redução nos níveis nutricionais, em geral, as aves buscam compensar a deficiência com aumento da ingestão. Entretanto, a deficiência em P provoca diminuição no consumo de alimento (VIVEIROS et al., 2002), com consequente redução acentuada na síntese e liberação de hormônios de crescimento e hormônios da tireóide, principalmente T<sub>3</sub> (PARMER et al., 1987).

Por outro lado, a adição de fitase nas dietas provoca ruptura do complexo fósforo-ácido fítico, o que libera o mineral para ser absorvido e inativa o efeito depressor de sua deficiência sobre o CR (SANTOS et al., 2008). Portanto, a fitase promove melhor aproveitamento do fósforo, o que reflete no aumento do CR e, consequentemente, na melhoria de outras variáveis de desempenho.

A suplementação enzimática na dieta controle positivo não proporcionou efeito sobre o CR, fato este explicado devido os níveis nutricionais de tais dietas atenderem adequadamente às necessidades das aves. LESSON (1999) recomenda inclusão de fitase em dietas com níveis reduzidos de Ca e P. Entretanto, para obter os efeitos desejados da enzima, tais reduções não devem ser acentuadas. Frequentemente é desconsiderada a eficiência de utilização de complexos enzimáticos, uma vez que são utilizados mesmo em dietas que já atendam as necessidades das aves para máximo crescimento. Isto faz com que os nutrientes liberados pela ação enzimática não sejam aproveitados eficientemente pelo animal (SCHANG e AZCONA, 2003).

DOURADO (2008) reporta que, quando somente a fitase é adicionada, sua habilidade torna-se limitada devido a falta de acesso ao substrato, o qual encontra-se no interior da matriz de polissacarídeos não amiláceos (PNAs). As glicosidases (xilanases) são capazes de degradar a camada de PNAs da membrana, promovendo a

despolimerização de arabinoxilanas, facilitando o acesso da fitase ao fitato armazenado na parede celular (OLUKOSI et al., 2007). Consequentemente, o acesso das enzimas endógenas e exógenas (amilase e protease) aos nutrientes encapsulados fica facilitado, o que aumenta a disponibilidade de nutrientes para o crescimento (NAGASHIRO, 2007).

No presente estudo, a melhora no desempenho das aves alimentadas com dietas deficientes nutricionalmente e suplementadas com a combinação enzimática em relação às aves não suplementadas, foi reflexo do melhor aproveitamento de nutrientes e maior energia digestível das dietas contendo enzimas (Tabelas 3 e 4). Este achado corrobora com os resultados de ZANELA et al. (1999), que atribuíram o aumento significativo no GP (2,2%) das aves que receberam alimento contendo amilase, protease e xilanase em relação àquelas não suplementadas ao melhor aproveitamento dos nutrientes pelas primeiras.

CLEMENTINO et al. (2002) e COSTA et al. (2004) observaram que a adição de enzimas (xilanase, amilase e protease) em dietas com níveis protéicos e energéticos reduzidos, promove ganho de peso semelhantes em relação às aves alimentadas com níveis nutricionais adequados.

COWIESON e ADEOLA (2005) encontraram melhoria no ganho de peso de 14% com a combinação do complexo amilase, protease e xilanase com fitase em frangos de corte aos 28 dias de idade, no entanto BRUM et al. (2006) observaram aumento no ganho de peso das aves aos 23 dias de idade com suplementação de  $\alpha$ -amilase, e OPALINSKI et al. (2006), observaram melhores resultados de GP na fase de crescimento (22 a 42 dias) com adição de enzimas. BRITO et al. (2006), ao avaliarem a adição de complexo multienzimático observaram melhora no ganho de peso (3,8%) e na conversão alimentar (4,24%) na fase inicial.

NOVAK et al. (2008) trabalhando com suplementação do complexo amilase, protease e xilanase em dietas a base de milho e farelo de soja em poedeiras, observaram pequena melhora no desempenho e na digestibilidade dos nutrientes. ZHOU et al. (2008) observaram o GP, CR e CA das aves alimentadas com as dietas CN

+ fitase foi similar a dieta CP ( $P<0,01$ ) durante todo o período total da criação (1 a 48 dias).

Esses dados não condizem com LIMA et al. (2002), que não encontraram diferenças no consumo e na conversão alimentar no período de 1 a 42 dias de idade com suplementação de amilase e protease. OPALINSKI et al. (2006) também não encontraram diferenças nessas variáveis suplementando com um complexo contendo xilanase, protease, glucanase e mannanase.

A melhora no desempenho das aves com o uso de enzimas nas dietas tem sido evidenciada em muitos estudos (ZANELLA et al., 1999; COWIESON e ADEOLA, 2005; OLUKOSI et al., 2007; BARBOSA et al., 2008; SANTOS et al., 2008). Entretanto, os benefícios no desempenho das aves com a utilização da combinação de enzimas é reflexo não apenas da melhoria no aproveitamento dos nutrientes, mas é decorrente, também, da melhora no equilíbrio da microbiota bacteriana intestinal das aves. De acordo com BEDFORD & APAJALAHTI (2001), a utilização de enzimas exógenas reduz a quantidade de digesta ou resíduo não digerido que entra no intestino grosso, como consequência do melhor aproveitamento de nutrientes no intestino delgado e, desta forma, a população microbiana no íleo terminal é reduzida.

A combinação da utilização de enzimas exógenas avaliadas em dietas de frangos de corte proporcionou resultados positivos no aproveitamento dos nutrientes e na densidade energética das dietas, e refletem na melhora do desempenho das aves. Tal fato sugere que a combinação do complexo amilase, protease e xilanase com fitase pode ser adotada em dietas estrategicamente formuladas com reduções dos níveis nutricionais visando manter o desempenho semelhante aos frangos alimentados com dietas contendo densidade nutricional adequada.

#### **4. CONCLUSÕES**

A suplementação da combinação enzimática composta por xilanase, amilase, protease e fitase em dietas com níveis nutricionais reduzidos, promoveu melhora no aproveitamento dos nutrientes e na energia digestível da dieta, com reflexos positivos sobre o desempenho das aves.

A suplementação enzimática em dietas com níveis nutricionais adequados não proporcionou efeitos positivos sobre as características avaliadas.

## 5. REFERÊNCIAS

- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; FERNANDES, J.B.K.; DOURADO, L.R.B. Enzymes exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, p.755-762, 2008.
- BEDFORD, M.R. Mechanisms of action and potential nutritional benefits from feed enzymes. In: FEED ENZYMES-REALIZING THEIR POTENTIAL IN CORN/SOYA BASED POULTRY DIETS, 1998, Atlanta, G.A. **Proceedings...** p.12.
- BEDFORD, M.R.; APAJALAHTI, J. Microbial interactions in the response to exogenous enzyme utilization. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres, Cabi international, p.299-314, 2001.
- BHAT, M.K.; HAZLEWOOD, G.P. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. In: Bedford, M.R., Partridge, G.G. (eds). Enzymes in farm animal nutrition. CABI Publishing, New York, USA, p.11–60, 2001.
- BRITO, C.O.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES , P.C.; CARVALHO, D.C. O.; CORASSAL, A. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada: valores energéticos e digestibilidade de nutrientes em pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n. 3, p.1047-1055, 2006.
- BRUM, A. R.; AVILA, V. S.; LIMA, G. J. J. M.; COLDEBELLA, A.; SCHEUERMANN, G.; USINGER, F.; TOIGO, G. C. Efeito da utilização de  $\alpha$ -Amilase em dietas à base de milho e farelo de soja na digestibilidade da energia das rações e no desempenho de frangos de corte. Concórdia:editora, 2006. (**Comunicado Técnico, 425**).
- CAMPESTRINI, E., SILVA, V.T.M., APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CLEMENTINO, R.H., COSTA, F.G.P, JÁCOME, I.M.T.D., et al. Efeito dos níveis de enzimas sobre o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife, **Anais...** CD-ROM.

COSTA, F.G.; CLEMENTINO, R.H.; JÁCOME, I.M.T.D.; NASCIMENTO, G.A.J.; PEREIRA W. E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v.5 p.63-71, 2004.

COUSINS, B. Enzimas na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL ACAV-SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, 1999, Concórdia, SC. **Anais...** Concórdia: 1999, p.118-130.

COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.84, p.1860-1867, 2005.

COWIESON, A.J.; HRUBY, M.; PIERSON, E.E.M. Evolving enzyme technology: Impact on commercial poultry nutrition. **Nutrition Research Reviews**, v.19, n.1, p.90-103, 2006a.

COWIESON, A.J.; SINGH, D.N.; ADEOLA, O. Prediction of ingredient quality and the effect of a combination of xylanase, amylase, protease and phytase in the diets of broiler chicks. 1. Growth performance and digestible nutrient intake. **British Poultry Science**, v. 47, n. 4, p. 477-489, 2006b.

DÄNICKE, S.; VAHJEN, W.; SIMON, O.; JEROCH, H. Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broilers diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed and on nutrient digestibility. **Poultry Science**, Champaign, v.78, p.1292-1299, 1999.

DARI, R. L. Porque utilizar um blend de enzimas e não apenas uma? In: SEMINÁRIOS TÉCNICOS NUTRON, 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: Nutron, 2006. CD-ROM.

DOURADO, L. R. B. **Enzimas exógenas em dietas para frangos de corte.** 2008. 80f. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

DOURADO, L. R. B.; SAKOMURA ,N.K.; BARBOSA, N. A. A.; BONATO, M. A.; KAWUAUCHI, I. M.; FERNANDES, J. B. K.; COSTA, F. G. P. Corn and soybean meal metabolizable energy with the addition of exogenous enzymes for poultry. **Revista Brasileira de Ciência Avícola/Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, p.51-55, 2009.

GARCIA, M.I.; ARANÍBAR, M.J.; LÁZARO, R.; MEDEL, P.; MATEOS, G.G. Amilase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science**, v.82, p.436-442, 2003.

GARCIA, O. Enzimas: recentes contribuições para sua aplicação em nutrição animal. In: ENCONTRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 3., 1997, São Paulo. **Anais...** p.1-9.

GHAZALAH, A.A.; ABD EL-GAWAD, A.H.; SOLIMAN, M.S.; AMANY, W. Y. Effect of enzyme preparation on performance of broilers fed corn soybean meal based diets Egypt. **Poult. Sci.**, v.25, p.295-316, 2005.

GHAZI, S. et al. Potencial for improving soybean meal in diets for chicks: treatment with different proteolytic enzymes. **British Poultry Science**, Edinburgh, v.37, suppl., p.54-55, 1996.

GOMES, L.F., MACARI, M.; FURLAN, R.L.; SECATO, E.R.; GUERREIRO, J.R. Efeito do uso de enzimas sobre a digestibilidade de dieta a base de milho e farelo de soja em frangos de corte colostomizados. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998, p.6.

GRACIA, M.I.; ARANÍBAR, M.J.; LÁZARO, R.; MEDEL, P.; MATEOS, G.G.  $\alpha$ -Amilase supplementation of broiler diets based on corn. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.436-442, 2003.

LEESSON, S. Enzimas para aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO PARA AVES, 1999, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1999. p.173-185.

LIMA, A.C.F.; HARNICH, F.A.R.; MACARI, M.; PIZAURO JR, J.M. Avaliação do desempenho de frangos de corte alimentados com suplementação enzimática e probiótica. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.18, n.2, p.153-157, 2002.

LIMA, F. R. Aditivos zootécnicos: enzimas. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. I. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: ROCA, 2005. p. 239-248.

LIMA, M. R.; SILVA, J. H. V.; ARAUJO, J. A.; LIMA, C. B.; OLIVEIRA, E. A. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasílica**, v.1, n.4, p.99-110, 2007.

MARRON, L.; BEDFORD, M.R.; McCACKEN, K.J. The effects of adding xylanase, vitamin C and copper sulphate to wheat-based on broiler performance. **British Poultry Science**, Abingdon, v.42, n.4, p.493-500, 2001.

MARSMAN, G.J.P.; GRUPPEN, H.; VANDER POEL, A.F.B.; KWAKKEL, R.P.; VERSTEGEN, M.W.A.; VORAGEN, A.G.J. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities and chime characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.6, p.864-872, 1997.

MENG, X.; SLOMINSKI, B.A.; NYACHOTI, C.M.; CAMPBELL, L.D.; GUENTER, W. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and

their on nutrient utilization and broiler chicken performance. **Poultry Science**, Champaign, v.84, p.37-47, 2005.

MINAFRA, C.S. **Produção e suplementação com α-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM 203 na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, p.141, 2007.

NOVAK, C. L.; YAKOUT, H. M.; REMUS, J. Response to Varying Dietary Energy and Protein With or Without Enzyme supplementation on Leghorn Performance and Economics. 2. Laying Period. **J. Appl. Poult. Res.** v.17, p.17–33, 2008.

OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, v.86, p.77–86, 2007.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A.; CUNHA, F.; MARTINS DA SILVA, E.C.; BORGES, S.A. Adição de níveis crescentes de complexo enzimático em rações com soja integral desativada para frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.3, p.31-35, 2006.

PACK, M., BEDFORD, M. R. Feed enzymes may improve corn and sorghum diets. **Feedstuffs**, p.18-19, 1998.

PARMER, T.G., CAREW, L.B., ALTER, F.A. Thyroid function, growth hormone, and organ growth in broiler deficient in phosphorus. **Poultry Science**, v.66, p.1995-2004, 1987.

PIQUER, P.J. Bases del utilización de complejos enzimáticos en nutrición animal: estudio comparativo entre especies. In: **CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA – AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL**, 12., 1996, Madri.

RAVINDRAN, V.; HEW, L. I., RAVINDRAN, G. Influence of xylanase supplementation on the apparent metabolisable energy and ileal amino acid digestibility in a diet containing wheat and oats, and on the performance of three strains of broiler chickens. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 50, p. 1159-1163, 1999.

RODRIGUES, P. B.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T. et al. Desempenho de frangos de corte, digestibilidade de nutrientes e valores energéticos de rações formuladas com vários milhos, suplementadas com enzimas. **R. Bras. Zootec.**, v.32, p.171-182, 2003.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 2.Ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. 186 p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, FUNEP, 2007, 283p.

SALEH, F.; OHTSUKA, A.; TANAKA, T.; HAYASHI, K. Carbohydrases are digested by proteases presents in enzymes preparations during *in vitro* digestion. **Journal of Poultry Science**, v. 41, p. 229-235, 2004.

SANTOS, F. R.; HRUBY, M.; PIERSON , E. E. M.; REMUS, J. C.; SAKOMURA, N. K. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. **J. Appl. Poult. Res.** v.17, p.191–201, 2008.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide, version 8 ed. Cary, NC. 2001.

SCHANG, M. J.; AZCONA. J.O. Natural enzyme applications to optimize animal performance.In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries of Alltech Annual Meeting,19., 2003, Lexington, **Anais...** Lexington, ALLTECH, 2003, p. 163-170.

SCHEIDELER, S. E.; BECK, M. M.; ABUDABOS, A.; WYATT, C. L. Multiple-enzyme (Avizyme) supplementation of corn-soy-based layer diets. **J. Appl. Poult. Res.** v.14, p.77–86, 2005.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R.; LAGUE, P.C. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn-soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.12, p.1760-1769, 1997.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v. 135, n.1/2, p.1–41, 2007.

SHEPPY, C. The current feed enzyme market and likely trends. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, 2001. p.1-10.

SILVA, D.J. QUEIROZ. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa:UFV, 2002. 235p.

SORBARA, J.O.B. **Carboidrases em programas enzimáticos de rações para frangos de corte**. 2007, 71p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Maringá. 2007.

TEJEDOR, A.A. et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.3, p.802-808, 2001.

VIVEIROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, Champaign, v.81, n.8, p.1172-1183, 2002.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N.K.; SILVERSIDES, F.G. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n.4, p.561-568, 1999.

ZHOU, J. P.; YANG, Z. B.; YANG, W. R.; WANG, X. Y.; JIANG, S. Z.; ZHANG, G. G. Effects of a new recombinant phytase on the performance and mineral utilization of broilers fed phosphorus-deficient diets. **J. Appl. Poult. Res.** v.17, p.331–339, 2008.

## CAPÍTULO 3 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETAÍNA NATURAL EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A ESTRESSE POR CALOR

**RESUMO** - Este trabalho foi realizado para avaliar o efeito da betaína em dietas de frangos corte, utilizando-se 1408 pintos de corte machos, distribuídos aleatoriamente em 8 tratamentos em esquema fatorial 2 x 4 (ambiente x dieta) com 8 repetições de 22 aves. As aves foram alojadas em dois ambientes com temperaturas controladas, termoneutra ( $24^{\circ}\text{C}$  a  $27^{\circ}\text{C}$ ) e cíclico ( $25^{\circ}\text{C}$  a  $31^{\circ}\text{C}$ ). Os tratamentos foram: T1- CP, dieta formulada de acordo com a exigência; T2- CN com reduções de metionina e colina; T3 – CN + betaína em substituição parcial de metionina e total da colina de acordo com Betacheck®; T4 – CN + betaína natural em substituição parcial de metionina e total da colina de acordo com a recomendação prática brasileira. Aos 21, 35 e 45 dias foram mensurados PM, GP, CR e CA das aves. Aos 25 e 45 dias foram avaliados parâmetros morfométricos intestinais, e aos 45 dias o rendimento de carcaça/partes e a perda de água por gotejamento. Não houve efeito na fase inicial, embora na fase de crescimento (22 a 35 dias) a CA do tratamento Betacheck® foi similar estatisticamente ao CP. No intervalo de 35 a 45 dias houve interação para GP e CA. No ambiente termoneutro, a CA foi semelhante para todas as dietas, no entanto, em estresse térmico, o programa brasileiro promoveu melhor CA em relação ao CN. As suplementações de betaína natural (Betacheck® e programa brasileiro) promoveram CA semelhante ao CP. As aves do CP e CN apresentaram menor GP em ambiente cíclico. Porém, estas diferenças não foram observadas para as aves do Betacheck® e o programa brasileiro, indicando um efeito positivo da betaína em condição de estresse térmico. Não houve efeito para rendimento de carcaça/partes, porém foi observada menor perda de água por gotejamento no CP em ambiente cíclico. Já na morfometria intestinal, maior altura de vilos para aves do programa brasileiro aos 25 dias de idade. A suplementação de betaína promoveu resultados positivos nas aves submetidas ao estresse por calor no final da criação.

**Palavras-chave:** aditivos, ambiente, metionina, temperatura

## EFFECT OF NATURAL BETAINE SUPPLEMENTATION IN BROILER CHICKEN DIETS SUBMITTED AT HEAT STRESS

**SUMMARY-** This work was carried out to evaluate natural betaine in broiler chicken diets. 1408 male chicks were randomly distributed into 8 treatments as factorial arrangement (2 ambient temperature x 4 diets), with 8 replicates of 20 birds. The birds were allocated in two controlled temperature rooms, one thermoneutral (24°C to 27°C) and other cyclic temperature (25°C to 31°C). The dietary treatments were: T1- PC diet formulated according to Brazilian recommendation; T2 – NC with nutrient reduction of methionine and choline; T3 - NC + natural betaine supplemented partially replace methionine and total choline requirement according to Betacheck®; T4- NC + natural betaine supplemented partially replace methionine and total choline requirement according to according Brazilian recommendation. At 21, 35 and 45 days were measured body weight, weight gain, feed intake and feed conversion ration. At 25 and 45 days were evaluated villus height and crypt depth, and 45 days the carcass/parts yield and drip loss. There was not effect of treatments in starter phase. In the growth phase (22 to 35 days) the FC of Betacheck® was statistically similar than PC. From 35 to 45d, interaction was detected for FC and BWG. In thermoneutral ambient, the FC was similar for all diets, however, in heat stress, brazilian program promoted better FC than NC. Betaine supplementation according to Betacheck® and brazilian program promoted similar FC to those of PC. For BWG, broilers fed PC and NC diets in heat stress, had lower BWG than those, respectively in thermoneutral. But, these differences were not observed for broilers fed diets supplemented with natural betaine for Betacheck® and brazilian program, indicating a positive effect of betaine supplementation in heat stress condition. There was not effect of carcass/parts yield. At 45 days showed lower drip loss in PC cyclic environment. Already in intestinal morphology, showed the increase height of villus at brasiliand program in 25 days of age. Supplementation of betaine promoted positive birds submitted to heat stress at 1 to 45 days of age.

**Key words:** additives, environment, methionine, temperature

## **1- INTRODUÇÃO**

A betaina natural é encontrada na natureza sintetizada por uma variedade de plantas e organismos (BOTCH et al., 1994), extraída do açúcar da beterraba e subseqüentemente purificada. Classificada como uma metilamônia em virtude de seus três grupamentos metila quimicamente reativos unidos ao átomo de nitrogênio de uma molécula de glicina (KIDD et al., 1997), onde que os grupos metil são necessários para sintetizar vários compostos fisiologicamente essenciais, tais como a metionina, carnitina, creatina, fosfolípideos, hormônios adrenais, RNA e DNA (FRONTIERA et al., 1994).

As principais fontes de grupo metil são betaina, colina, metionina e ácido fólico. A colina, vitamina essencial na transmissão de impulsos nervosos para as membranas celulares (KIDD, 1997) é oxidada na mitocôndria celular à betaina (REMUS, 2000) que doa grupo metil na reação de metilação. Nessa reação de homocisteína à metionina requer um acceptor metilado (PANIZ et al., 2005) cedido pela betaina, conferindo a essa molécula a capacidade de poupar metionina. Pressupõe-se também, que a betaina sintética adicionada as dietas poupariam indiretamente a colina, não gastando essa vitamina em reações de metilação, porém apenas substitui a colina como doador de metil, não em outros processos metabólicos (PEREIRA, 2008).

A ação de betaina como doadora de grupamentos metil na remetilação possibilita que a metionina seja direcionada na síntese proteíca, poupando ação desse aminoácido na doação de metil na formação da homocisteína, o que possibilita substituir parcialmente a metionina sintética por betaina (METZLER-ZEBELI et al., 2009).

A molécula de betaina também confere proteção celular contra desafios osmóticos, permitindo a manutenção de atividades da célula mesmo sob condições adversas (AGOSTINHO et al., 1997) sendo uma estratégia para minimizar o impacto causado com desafios como estresse térmico e coccidiose. A betaina atua como um osmolito, que segundo NIANG (2005), é uma substância que afeta o movimento da água, acumulando-a rapidamente em nível intracelular, sem alterar o metabolismo celular mitocondrial.

O potencial osmoprotetor confere a molécula de betaina, uma prevenção durante a exposição de estresse calórico, que segundo MATTHEW et al. (2000), a betaina é envolvida na redução do aumento da permeabilidade vascular,e consequentemente, perda de água do plasma sanguíneo em casos de hipertermia. Com resultado, aumenta a retenção de água e a tolerância de aves em altas temperaturas, podendo a inclusão de betaina ser estrategicamente útil para minimizar os efeitos negativos do estresse calórico, mantendo o desempenho da ave (CRONJÉ, 2005).

Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de betaina natural em dietas com substituições parciais de metionina e colina suplementar sobre o desempenho, características de carcaça e morfologia intestinal de frangos de corte submetidos ao estresse por calor.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e duração**

O presente experimento foi realizado nas câmaras climáticas do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal-SP, com duração de 45 dias no período de 26 de março a 08 de maio de 2007.

### **2.2 Aves experimentais, instalações e manejo**

Neste ensaio foram utilizados 1408 pintos de corte machos, com um dia de idade, da linhagem Cobb®, provenientes de matrizes de idade novas com intuito de utilizar aves com peso inicial desuniforme. Na instalação do ensaio, todas as aves foram pesadas individualmente e distribuídas em faixas de peso de forma que todas as parcelas apresentassem peso médio semelhante.

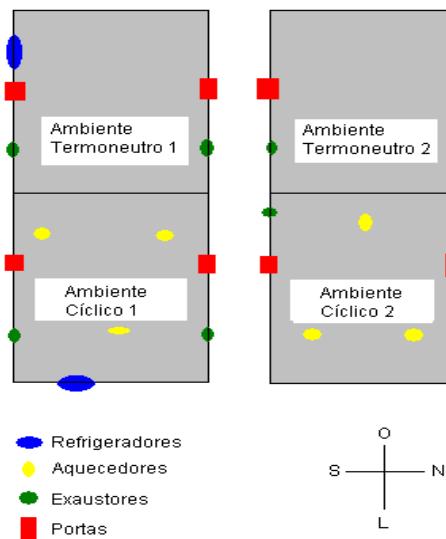
As aves foram alojadas em câmaras climáticas equipadas com aquecedores, refrigeradores e exaustores e subdivididas em boxes com dimensões de 1,00 x 2,50m (área total de 2,50 m<sup>2</sup>). Cada box foi recoberto com cama composta de cepilho de madeira e equipado com bebedouro de alumínio tipo copo, colocado sobre um estrado

de madeira e comedouros tubular infantil. Após o 7º dia de idade, bebedouros e comedouros infantis foram substituídos por bebedouros pendulares automáticos e comedouros tubulares com capacidade para 20 kg.

Os pintos foram vacinados no incubatório contra as doenças de Marek e Bouba aviária e durante o período experimental adotou-se o seguinte programa de vacinação: 7º dia de idade contra Gumboro (cepa fraca) via ocular e no 14º dia de idade vacinação contra New Castle e Gumboro (cepa forte) via água de bebida, sendo utilizado leite em pó como veículo (2g/L). No 3º dia de idade as aves foram vacinadas contra coccidiose, via água de bebida, sendo utilizado corante para observar a eficiência de vacinação. Os bebedouros foram higienizados em dias alternados com o intuito de impor maior desafio ambiental às aves.

Durante a fase inicial, do 1º ao 21º dia de idade, todas as unidades experimentais permaneceram alojadas em câmaras climáticas. A partir do 22º dia de idade até o fim do ensaio experimental, as aves foram submetidas a duas condições climáticas distintas, com o objetivo de avaliar aves submetidas ao estresse por calor. Para tanto, foram utilizadas quatro câmaras climáticas (Figura 1), compostas por dois ambientes: um com temperatura termoneutra e outro com temperatura cíclica (estresse por calor durante o dia, obtido com o uso de aquecedores e termoneutralidade durante a noite, com a utilização de refrigeradores). Foram adotados os seguintes procedimentos para controle da temperatura nos ambientes avaliados a partir dos 22 dias de idade:

- Ambiente termoneutro: câmaras mantidas fechadas e refrigeradores acionados, de forma a proporcionar um ambiente com temperatura entre 24 a 27°C durante as 24 horas do dia;
- Ambiente com temperatura cíclica: diariamente, às 8 e às 20 horas, imediatamente após os registros de temperatura e umidade relativa, aquecedores ou refrigeradores foram desligados e as câmaras mantidas abertas por 30 minutos para equalizar a temperatura interior com o ambiente externo. Decorrido este tempo, as câmaras foram mantidas fechadas e os aquecedores acionados pela manhã e refrigeradores à noite.



Diariamente, temperatura e umidade relativa máximas, mínimas e médias foram registradas utilizando-se três termohigrômetros digitais distribuídos em cada câmara climática. As mensurações foram feitas às 8, 12, 18 e 22 horas na fase pré-inicial/inicial e às 8, 11, 15, 20 e 23 horas na fase crescimento/final, conforme apresentado nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

**Tabela 1.** Médias das temperaturas ( $^{\circ}\text{C}$ ) e umidades relativas (%) máximas e mínimas registradas no galpão experimental até os 21 dias de idade das aves.

Ambiente	T°C Máx.	T°C Mín.	T°C Média	UR% Máx.	UR% Mín.	UR% Média
Cíclico 1	32,50	29,02	30,78	56,77	37,95	48,65
Cíclico 2	32,54	27,44	30,30	63,51	39,91	50,35
Termoneutro 1	32,62	27,60	30,68	61,74	40,71	50,38
Termoneutro 2	32,47	27,85	30,60	58,00	38,17	47,44

**Tabela 2.** Médias das temperaturas (°C) e umidades relativas (%) máximas e mínimas registradas no galpão experimental no período de 22 a 45 dias de idade das aves.

Período	Ambiente	T°C Máx.	UR% Máx.	T°C Mín.	UR% Mín.
Dia	Cíclico 1	33,19	60,99	25,07	41,38
Noite		28,30	58,55	24,24	43,60
Dia	Cíclico 2	32,64	64,68	25,53	44,42
Noite		27,86	62,94	24,61	50,31
Dia	Termoneutro 1	27,63	61,35	23,98	48,55
Noite		25,69	62,14	23,71	53,08
Dia	Termoneutro 2	28,73	62,30	24,46	49,30
Noite		26,43	61,21	23,75	51,86

### 2.3 Delineamento experimental e tratamentos

Os 1408 pintos de corte foram distribuídos em oito tratamentos e oito repetições com 22 aves em cada unidade experimental. Na formação das unidades experimentais, os pintos foram pesados individualmente e agrupados por faixa de peso, de forma que todas as parcelas apresentassem peso médio aproximado. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4, sendo dois ambientes (estresse cíclico de 25 a 31°C e condição termoneutra de 24 a 27°C) e quatro dietas. As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2005), sendo isentas de promotores de crescimento e anticoccidiano. As dietas avaliadas foram:

- T1- Controle Positivo (CP) atendendo as recomendações de cada fase;
- T2- Controle Negativo (CN) com reduções de metionina e colina;

T3- CN + betaína natural, em substituição parcial à metionina e total da colina, segundo as recomendações do programa Betacheck® (Danisco Animal Nutrition);

T4- CN + melhor nível de betaína natural, em substituição parcial à metionina e total da colina, de acordo com as recomendações práticas de campo (Programa Brasileiro).

A fonte de betaína natural utilizada foi a Betafin S1 (Danisco Animal Nutrition) com 96% de pureza, suplementada conforme as seguintes recomendações:

- Betacheck®: modelo econômico computacional (Danisco Animal Nutrition) que calcula a quantidade de metionina e de colina que pode ser substituída por Betafin S1 em dietas para frangos de corte. Considera idade e sexo da ave, nível de exigência de aminoácidos, condições de manejo e desafio ambiental. Utiliza margem de segurança para metionina e aminoácidos sulfurados em função da variação na qualidade dos ingredientes.

- Práticas de campo: compilados científicos de Universidades e de empresas privadas que realizam pesquisas baseadas nas recomendações do Betacheck®.

A composição centesimal e os níveis calculados de nutrientes das dietas controles para a fase pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias de idade) e final (36 a 45 dias de idade) são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 3, 4, 5 e 6.

**Tabela 3.** Composição centesimal e níveis calculados de nutrientes das dietas experimentais para a fase pré-inicial (1 a 7 dias).

Ingredientes (%)	CP	CN	Betacheck®	Prog. Bras.
Milho	52,366	52,366	52,366	52,366
Óleo de soja	3,253	3,253	3,253	3,253
Farelo de soja 45%	39,660	39,660	39,660	39,660
Sal comum	0,659	0,659	0,659	0,659
Calcáreo	0,958	0,958	0,958	0,958
Fosfato bicálcico	1,853	1,853	1,853	1,853
L-Lisine 80%	0,246	0,246	0,246	0,246
Vitamina <sup>1</sup>	0,025	0,025	0,025	0,025
Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina 60%	0,062	0,000	0,000	0,062
DL-Metionina 98%	0,368	0,266	0,266	0,368
Betafin S1	0,000	0,000	0,092	0,100
Inerte <sup>3</sup>	0,500	0,664	0,572	0,400
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
<b>Níveis calculados</b>				
Betaína %	0,000	0,000	0,088	0,096
PB %	23,000	22,940	22,940	23,000
Lis dig %	1,300	1,300	1,300	1,300
Met dig %	0,679	0,579	0,579	0,679
Met+Cist dig %	0,975	0,875	0,875	0,975
Ca %	0,970	0,970	0,970	0,970
P disponível %	0,460	0,460	0,460	0,460
Na %	0,305	0,305	0,305	0,305
Colina (mg/kg)	1700	1327	1327	1700
EM (kcal/kg)	2950	2950	2950	2950

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico pré-inicial (adição por quilograma do produto): ácido fólico 1000mg, ácido pantotênico 15000mg, antioxidante 0,5g, niacina 40000mg, selênio 300mg, biotina 60mg, vit B1 1800 mg, vit B12 12000mg, vit B2 6000 mg, vit B6 2800 mg, vit D3 20000000 UI, vit E 15000mg, vit K3 1800 mg. Inclusão do produto de 1kg/t.

<sup>2</sup>Suplemento mineral (adição por quilograma do produto): manganês 150000mg, zinco 100000 mg, ferro 100000 mg, cobre 16000 mg, iodo 1500 mg. Inclusão do produto de 0,5kg/t.

<sup>3</sup>Areia lavada

**Tabela 4.** Composição centesimal e níveis calculados de nutrientes das dietas experimentais para a fase inicial (8 a 21 dias).

Ingredientes %	CP	CN	Betacheck®	Prog. Bras.
Milho	57,039	57,039	57,039	57,039
Óleo de soja	3,932	3,932	3,932	3,932
Farelo de soja 45%	34,491	34,491	34,491	34,491
Sal comum	0,612	0,612	0,612	0,612
Calcáreo	0,907	0,907	0,907	0,907
Fosfato bicálcico	1,832	1,832	1,832	1,832
L-Lisine 80%	0,222	0,222	0,222	0,222
Vitamina <sup>1</sup>	0,025	0,025	0,025	0,025
Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina 60%	0,062	0,000	0,000	0,000
DL-Metionina 98%	0,328	0,221	0,221	0,221
Betafin S1	0,000	0,000	0,096	0,100
Inerte <sup>3</sup>	0,500	0,669	0,573	0,569
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
<b>Exigências nutricionais</b>				
Betaína %	0,000	0,000	0,088	0,096
PB %	21,000	20,937	20,937	20,937
Ca %	0,930	0,930	0,930	0,930
P disponível %	0,450	0,450	0,450	0,450
EM (kcal/kg)	3050	3050	3050	3050
Lis dig %	1,160	1,160	1,160	1,160
Met dig %	0,616	0,511	0,511	0,511
Met+Cist dig %	0,893	0,788	0,788	0,788
Colina (mg/kg)	1600	1229	1229	1229
Na %	0,283	0,283	0,283	0,283

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico inicial com cada quilograma do produto contendo: ácido fólico 1000mg, ácido pantotênico 15000mg, antioxidante 0,5g, niacina 40000mg, selênio 300mg, biotina 60mg, vit B1 1800 mg, vit B12 12000mg, vit B2 6000 mg, vit B6 2800 mg, vit D3 2000000 UI, vit E 15000mg, vit K3 1800 mg. Inclusão do produto de 1kg/t.<sup>2</sup> Suplemento mineral com cada quilograma do produto contendo: Manganês 150000mg, Zinco 100000 mg, Ferro 100000 mg, Cobre 16000 mg, Iodo 1500 mg. Inclusão do produto de 0,5kg/t.

<sup>3</sup> areia lavada

**Tabela 5.** Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes na fase de crescimento (22 a 35 dias).

Ingredientes %	CP	CN	Betacheck®	Prog. Bras.
Milho	59,998	59,998	59,998	59,998
Óleo de soja	5,997	5,997	5,997	5,997
Farelo de soja 45%	29,501	29,501	29,501	29,501
Sal comum	0,458	0,458	0,458	0,458
Calcáreo	0,974	0,974	0,974	0,974
Fosfato bicálcico	1,870	1,870	1,870	1,870
L-Lisine 80%	0,248	0,248	0,248	0,248
Vitamina <sup>1</sup>	0,025	0,025	0,025	0,025
Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina 60%	0,062	0,000	0,000	0,000
DL-Metionina 98%	0,318	0,252	0,252	0,252
Betafin S1	0,000	0,000	0,065	0,075
Inerte <sup>3</sup>	0,500	0,627	0,562	0,552
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
<b>Exigências nutricionais</b>				
Betaína %	0,000	0,000	0,624	0,072
PB %	19,000	18,962	18,962	18,962
Ca %	0,950	0,950	0,950	0,950
P disponível %	0,450	0,450	0,450	0,450
EM (kcal/kg)	3218	3218	3218	3218
Lis DIG %	1,060	1,060	1,060	1,060
Met dig %	0,581	0,516	0,516	0,516
Met+Cist dig %	0,837	0,772	0,772	0,772
Colina (mg/kg)	1500	1129	1129	1129
Na %	0,220	0,220	0,220	0,220

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico crescimento com cada quilograma do produto contendo: ácido fólico 700mg, ácido pantotênico 13000mg, antioxidante 0,5g, niacina 35000mg, selênio 300mg, vit B1 1600 mg, vit B12 10000mg, vit B2 5000 mg, vit B6 2600 mg, vit D3 1500000 UI, vit E 12000mg, vit K3 1500 mg. Inclusão do produto de 1kg/t.

<sup>2</sup> Suplemento mineral com cada quilograma do produto contendo: Manganês 150000mg, Zinco 100000 mg, Ferro 100000 mg, Cobre 16000 mg, Iodo 1500 mg. Inclusão do produto de 0,5kg/t.

<sup>3</sup> areia lavada

**Tabela 6.** Composição centesimal e os níveis calculados dos nutrientes na fase final (36 a 45 dias).

Ingredientes %	CP	CN	Betacheck®	Prog. Bras.
Milho	58,741	58,741	58,741	58,741
Óleo de soja	7,279	7,279	7,279	7,279
Farelo de soja 45%	27,799	27,799	27,799	27,799
Sal comum	0,543	0,543	0,543	0,543
Calcáreo	0,932	0,932	0,932	0,932
Fosfato bicálcico	2,160	2,160	2,160	2,160
L-Lisine 80%	0,165	0,165	0,165	0,165
Vitamina <sup>1</sup>	0,025	0,025	0,025	0,025
Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina 60%	0,053	0,000	0,000	0,000
DL-Metionina 98%	0,254	0,205	0,205	0,205
Betafin S1	0,000	0,000	0,050	0,075
Inerte <sup>3</sup>	2,000	2,101	2,051	2,026
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
<b>Exigências nutricionais</b>				
Betaína %	0,000	0,000	0,048	0,072
PB %	18,000	17,972	17,972	17,972
Ca %	1,000	1,000	1,000	1,000
P disponível %	0,499	0,499	0,499	0,499
EM (kcal/kg)	3250	3250	3250	3250
Lis DIG %	0,950	0,950	0,950	0,950
Met dig %	0,506	0,458	0,458	0,458
Met+Cist dig %	0,751	0,703	0,703	0,703
Colina (mg/kg)	1400	1083	1083	1083
Na %	0,252	0,252	0,252	0,252

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico crescimento com cada quilograma do produto contendo: ácido fólico 700mg, ácido pantotênico 13000mg, antioxidante 0,5g, niacina 35000mg, selênio 300mg, vit B1 1600 mg, vit B12 10000mg, vit B2 5000 mg, vit B6 2600 mg, vit D3 1500000 UI, vit E 12000mg, vit K3 1500 mg. Inclusão do produto de 1kg/t.

<sup>2</sup> Suplemento mineral com cada quilograma do produto contendo: Manganês 150000mg, Zinco 100000 mg, Ferro 100000 mg, Cobre 16000 mg, Iodo 1500 mg. Inclusão do produto de 0,5kg/t.

<sup>3</sup> areia lavada

## **2.4 Características de desempenho avaliadas**

Aos 7, 21, 35 e 45 dias de idade, aves e dietas foram pesadas para cálculo do peso médio (g), ganho de peso (g/ave), consumo médio de ração (g/ave) e conversão alimentar (g/g). Para tanto, o número de aves foi corrigido considerando-se a data de mortalidade, para ajuste do consumo de ração e da conversão alimentar.

A uniformidade das aves foi determinada aos 7 e 45 dias de idade, pesando-as individualmente. Calculou-se o coeficiente de variação (CV) de cada parcela e, em seguida, cada CV foi transformado pela fórmula ASEN (RAIZ (CV/100)) e o resultado utilizado somente para análise estatística no software SAS (2001). As médias de uniformidade apresentadas no presente estudo foram originadas das médias do CV (%) de cada tratamento.

## **2.5 Rendimento de carcaça e de partes e perda de água por gotejamento (Drip Loss)**

Aos 45 dias de idade, duas aves de cada unidade experimental foram selecionadas com base no peso médio da parcela, identificadas e, posteriormente, submetidas a jejum por 12 horas, quando receberam somente água. Após este período, as aves foram novamente pesadas, atordoadas com dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) por dois minutos e, então, procedeu-se à sangria, escaldada ( $65^\circ\text{C}$ ), sendo em seguida colocadas em depenadeira. As aves foram evisceradas e pesadas (sem cabeça, pescoço e pés) para cálculo do rendimento de carcaça. Esta foi, então, separada em partes (peito, coxa+sobre, coxa e asa+dorso), sendo estas pesadas para cálculo de seu respectivo rendimento, com base no peso da carcaça e de partes em relação ao peso corporal da ave em jejum.

Para avaliação da perda de água por gotejamento, os cortes foram colocados em sacos plásticos de polietileno identificados, lacrados sob pressão atmosférica, e submetidos a congelamento por 48 horas a  $4^\circ\text{C}$ . Após esse período, os cortes foram novamente pesados (BRIDI et al., 2003) e a perda de peso determinada em relação ao peso inicial, sendo o resultado expresso em porcentagem. Para determinar a perda de água da carcaça foi utilizada a soma de todas as partes de cada ave.

## **2.6 Avaliação da morfometria intestinal**

Para análise dos parâmetros morfométricos intestinais, uma ave de cada repetição foi sacrificada aos 25 e 45 dias de idade, após jejum de 12 horas para que apresentassem o trato gastrointestinal vazio. De cada ave foram extraídas amostras dos segmentos intestinais com aproximadamente 2 cm de comprimento. Coletou-se amostras do jejuno a partir da porção distal da alça do duodeno até o divertículo de Meckel. O segmento foi extirpado, aberto longitudinalmente e fixado imediatamente em solução de Bouin por 24 horas. Em seguida, as amostras foram lavadas em álcool 70% para remoção do fixador e desidratadas em série crescente de alcoóis, diafanizadas em xanol e incluídas em parafina.

Foram avaliados cortes histológicos semi-seriados, de 5 $\mu$ m de espessura, corados com hematoxilina e eosina, segundo metodologia de BEHMER et al. (1976). As lâminas foram confeccionadas com Bálsamo do Canadá, sendo, posteriormente, fotografadas em lupa (LEICA DM 2500) com lente objetiva com capacidade de aumento de 5x, com auxílio do programa LEICA QWin V3. Para análise morfométrica da mucosa intestinal em microscopia de luz utilizou-se o programa Image J® (RASBAND, 2004), sendo avaliadas altura de vilos e profundidade de cripta, sendo realizadas 30 leituras de cada repetição/região intestinal/variável.

## **2.7 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento GLM do SAS (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5 %.

Na fase pré-inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias) como as aves não foram submetidas ao estresse por calor, ou seja, foram criadas sob a mesma condição ambiental, os dados foram analisados considerando apenas as dietas.

Nas fases crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 45 dias) como houve diferenças na condição ambiental (termoneutro e cíclico com estresse calórico), os dados foram analisados em esquema fatorial, avaliando-se efeitos de ambiente e dietas.

## 3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 - Desempenho

De acordo com os dados apresentados na Tabela 7 referentes às características de desempenho das aves aos 7 dias de idade (fase pré-inicial), houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) no consumo de ração, sendo que as aves alimentadas com a dieta CN e aquelas submetidas ao programa brasileiro apresentaram maior CR, em relação ao verificado para as demais dietas. Nessa fase, houve redução no CN em 9,9% de metionina digestível e 22,6% de Colina (mg/kg), reduzindo a inclusão de DL-metionina em 19,92% na dieta. Por outro lado, não foi possível detectar diferença significativa ( $P>0,05$ ) no PM, GP, CA e na uniformidade das aves aos 7 dias de idade.

**Tabela 7.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e uniformidade de aves (UNIF) na fase pré-inicial (1 a 7 dias de idade) alimentadas com as dietas experimentais.

Tratamentos	CR (kg)	PM (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)	UNIF (%)
CP	0,117 b	0,147	0,104	1,123	8,647
CN	0,122 a	0,151	0,107	1,135	8,835
Betacheck®	0,117 b	0,148	0,106	1,114	8,844
Prog Brasileiro	0,122 a	0,150	0,107	1,144	9,315
Probabilidades	0,0073	0,3650	0,3232	0,3457	0,7341
CV (%)	4,81	4,30	5,09	4,36	19,09

Na fase inicial (8 a 21 dias de idade) não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) para as variáveis estudadas (Tabela 8). Durante este período, as aves que receberam a dieta CN, independente da inclusão de betaína, foram alimentadas com dietas que apresentavam redução de 17,05% de metionina digestível e 23,19% de colina (mg/kg), o que, consequentemente, diminuiu a inclusão de DL-metionina em 32,62% (1,07

kg/ton). Isto, porém, não implicou em efeito sobre as características de desempenho avaliadas, uma vez que as aves que receberam a dieta CN não diferiram daquelas do CP, conforme dados reportados na Tabela 8.

De forma similar ao presente estudo, PEREIRA (2008) não observou diferença significativa nas características de desempenho de frangos de corte inoculados com *Eimeira*, aos 21 dias de idade, quando alimentados com dietas com redução de 37% de DL-metionina e suplementadas com betaina natural. Por outro lado, AUGUSTINE et al. (1997) observaram melhora na CA de frangos de corte inoculados com oocistos de *Eimeira*, aos 21 dias de idade, alimentados com dietas suplementadas com betaina.

**Tabela 8.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte na fase inicial (8 a 21 dias de idade), alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos	CR (kg)	PM (kg)	GP (kg)	CA (kg/kg)
CP	1,069	0,807	0,771	1,393
CN	1,083	0,821	0,778	1,393
Betacheck®	1,065	0,813	0,768	1,392
Prog Brasileiro	1,077	0,825	0,781	1,382
Probabilidades	0,3796	0,7268	0,8561	0,9526
CV (%)	2,81	5,86	5,94	4,81

Não houve interação significativa ( $P>0,05$ ) entre os fatores avaliados (dieta vs ambiente) durante a fase de crescimento (22 a 35 dias de idade), conforme dados apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 22 a 35 dias de idade (fase de crescimento).

Variável	Dieta	Ambiente		Média	Probabilidade	D* A	CV (%)
		Cíclico	Termoneutro				
<b>CR (kg)</b>	CP	1,551	1,770	1,661 B			
	CN	1,637	1,854	1,746 A			
	Betacheck®	1,606	1,815	1,710 AB	0,0362	<0,0001	0,9954
	Prog, Brasileiro	1,570	1,773	1,672 AB			5,27
	Medias	1,591 b	1,803 a				
<b>PM (kg)</b>	CP	1,796	1,921	1,858			
	CN	1,788	1,920	1,854			
	Betacheck®	1,788	1,938	1,864	0,8153	<0,0001	0,9389
	Prog, Brasileiro	1,781	1,906	1,844			3,30
	Medias	1,787 b	1,921 a				
<b>GP (kg)</b>	CP	0,965	1,138	1,051			
	CN	0,956	1,110	1,033			
	Betacheck®	0,961	1,141	1,052	0,4592	<0,0001	0,9153
	Prog, Brasileiro	0,944	1,094	1,019			6,63
	Medias	0,956 b	1,121 a				
<b>CA (kg/kg)</b>	CP	1,609	1,556	1,582 A			
	CN	1,722	1,653	1,690 B			
	Betacheck®	1,673	1,596	1,635 AB	0,0071	0,0044	0,9277
	Prog, Brasileiro	1,664	1,623	1,644 B			4,92
	Medias	1,698 b	1,605 a				

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Assim sendo, a comparação das médias de cada fator permite observar que as aves submetidas ao ambiente termoneutro apresentaram melhores valores de CR, PM, GP e de CA em relação aquelas mantidas em ambiente cílico. Isto indica que o estresse por calor prejudicou o desempenho dos frangos. Com relação às dietas, foram observadas diferenças ( $P<0,05$ ) no CR e na CA das aves. Os frangos submetidos ao CN apresentaram maior consumo em relação aqueles do CP, porém ambos controles não diferiram ( $P>0,05$ ) das dietas suplementadas com betáína. Os melhores índices de CA foram reportados pelas aves submetidas ao CP e Betacheck<sup>®</sup>, o qual, porém, não diferiu estatisticamente ( $P>0,05$ ) dos índices proporcionados pelo CN e programa brasileiro.

Na dieta CN houve redução de 20,75% de DL Metionina (0,66 kg/ton); 11,18% de metionina digestível e 24,73% de colina (mg/kg) e inclusão de 0,65kg/ton ou 0,75kg/ton de betáína natural, conforme recomendações do Betacheck<sup>®</sup> e programa brasileiro, respectivamente. As aves alimentadas conforme o Betacheck<sup>®</sup> tiveram CA estatisticamente similar ao CP, indicando que há viabilidade de reduzir a metionina sintética na dieta e incluir Betafin S1 nas dietas nessa fase.

De acordo com os resultados obtidos na fase final de criação (36 a 45 dias de idade) apresentados na Tabela 10, houve interação significativa ( $P<0,05$ ) entre os fatores avaliados (dieta vs ambiente) para as variáveis GP e CA das aves. Assim, o desdobramento da interação permite constatar que o GP dos frangos apresentou redução significativa quando estes foram alimentados com as dietas CP e CN sob condição de estresse cílico quando comparados com aqueles submetidos a condição termoneutra. Por outro lado, essa redução no GP em função do estresse por calor, não foi observada nas aves suplementadas com betáína segundo as recomendações do Betacheck<sup>®</sup> e do programa brasileiro. Quando considerado efeito de dietas foi possível verificar que não houve diferença estatística ( $P>0,05$ ) para as variáveis avaliadas dentro de cada condição ambiental.

**Tabela 10.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso corporal (PM), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 36 a 45 dias de idade (fase final).

Variável	Dieta	Ambiente			Probabilidade			CV (%)
		Cíclico	Termoneutro	Média	Dieta	Ambiente	D*A	
<b>CR (kg)</b>	CP	1,640	1,880	1,767 B				
	CN	1,830	1,922	1,886 A				
	Betacheck®	1,769	1,904	1,846 A	0,0121	<0,0001	0,0720	4,43
	Prog. Brasileiro	1,734	1,920	1,848A				
	Medias	1,736 b	1,911 a					
<b>PM (kg)</b>	CP	2,791	3,074	2,953				
	CN	2,872	3,105	3,015				
	Betacheck®	2,873	3,048	2,973	0,4794	<0,0001	0,3657	3,16
	Prog. Brasileiro	2,860	3,031	2,965				
	Medias	2,847 b	3,058 a					
<b>GP (kg)</b>	CP	0,964 Ab	1,153 Aa					
	CN	1,054 Ab	1,184 Aa					
	Betacheck®	1,042 Aa	1,110 Aa		0,1239	<0,0001	0,0433	6,30
	Prog. Brasileiro	1,075 Aa	1,125 Aa					
	CP	1,676 ABa	1,632 Aa					
<b>CA (kg/kg)</b>	CN	1,748 Bb	1,624 Aa					
	Betacheck®	1,701 ABa	1,716 Aa					
	Prog. Brasileiro	1,615 Aa	1,707 Aa		0,02241	0,4818	0,0063	4,44

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A CA apresentada pelas aves que receberam a dieta CN e foram mantidas em ambiente com estresse calórico foi estatisticamente pior ( $P<0,05$ ) do que a observada em aves criadas em ambiente termoneutro. Estas últimas, porém, não apresentaram diferença significativa na CA quando alimentadas com as diferentes dietas experimentais. Já as aves criadas sob condições de estresse cíclico apresentaram melhor CA quando submetidas à dieta CN formulada de acordo com o programa brasileiro em relação aos frangos do CN sem adição de betaina. As aves tratadas com as dietas CP e Betacheck® não diferiram dos demais tratamentos.

Ao avaliar os parâmetros que não apresentaram interação ( $P>0,05$ ), observou-se que o PM e CR foram maiores para as aves alojadas sob condições termoneutras. Além disso, observou-se menor CR das aves alimentadas com a dieta CP quando comparadas com as demais dietas.

Os resultados desta fase indicaram que a inclusão de Betafin S1 na dieta CN segundo as recomendações de Betacheck® (0,5kg/ton) e do programa brasileiro (0,75kg/ton) proporcionou melhora na CA de aves submetidas ao estresse calórico. Tal fato permitiu a redução de 19,29% na inclusão de DL Metionina (0,49 kg/ton) em dietas destinadas à fase final de criação. No entanto, verificou-se uma tendência de melhor CA das aves quando considerado o programa brasileiro, o que pode ser consequência do maior teor de inclusão de betaina (0,25kg/tonelada de ração) quando comparado com a adição recomendada por Betacheck®.

Ao analisar o período total de criação (Tabela 11), não foi possível observar efeito da interação ( $P>0,05$ ) para os parâmetros avaliados. As aves criadas em ambiente termoneutro apresentaram maior GP e CR em relação àquelas mantidas em ambiente cíclico. Com relação às dietas, observou-se maior consumo do CN e menor do CP, porém, a ingestão das dietas com inclusão de betaina foi similar, apesar do consumo da dieta Betacheck® não diferir do CN. Para a CA, verificou-se que as aves do CP apresentaram melhor resultado ( $P<0,05$ ) em relação àquelas do CN. A adição de betaina proporcionou resultados de CA semelhantes aos verificados pelos frangos dos grupos CP e CN.

**Tabela 11.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e uniformidade de frangos de corte alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais no período de 1 a 45 dias de idade (período total de criação).

Variável	Dieta	Ambiente		Média	Probabilidade		CV (%)
		Cíclico	Termoneutro		Dieta	Ambiente	
<b>UNIF. (%)</b>	CP	10,15	10,80	0,8528	0,7596	0,9766	21,11
	CN	9,86	9,54				
	Betacheck®	9,59	9,73				
	Prog. Brasileiro	10,52	10,12				
<b>GP (kg)</b>	CP	2,725	3,030	2,877	2,972	0,3494	3,28
	CN	2,828	3,062				
	Betacheck®	2,830	3,005				
	Prog. Brasileiro	2,817	2,988				
<b>Médias</b>		2,795 b	3,021 a				
<b>CR (kg)</b>	CP	4,263	4,716	4,489 C	4,751 A	<0,0001	0,5058
	CN	4,571	4,863				
	Betacheck®	4,475	4,786				
	Prog. Brasileiro	4,395	4,763				
<b>Médias</b>		4,414 b	4,784 a				
<b>CA (kg/kg)</b>	CP	1,564	1,556	1,561 A	1,599 B	0,0350	0,1909
	CN	1,618	1,588				
	Betacheck®	1,582	1,593				
	Prog. Brasileiro	1,560	1,594				
<b>Médias</b>		1,579	1,583				

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A queda no desempenho das aves mantidas em ambiente cíclico pode ser justificada pelo estresse por calor, o qual afeta o equilíbrio ácido-básico com consequente desenvolvimento de alcalose respiratória. Tal quadro resulta do aumento da respiração, quando maior teor de CO<sub>2</sub> é eliminado pelos pulmões, reduzindo a pCO<sub>2</sub> e a concentração de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a valores abaixo do valor normal (BORGES et al., 2003). O estresse por calor dificulta a dissipação de calor, o que incrementa a temperatura corporal da ave e resulta em efeito negativo sobre o desempenho.

Frangos de corte em condição de alcalose respiratória devido ao estresse por calor podem apresentar aumento da necessidade de potássio devido à perda do cátion K<sup>+</sup> por excreção urinária (BELAY e TEETER, 1996). Isto causa redução na retenção do íon o que, consequentemente, se reflete em alterações na concentração plasmática (SALVADOR et al., 1998). Além disso, o íon potássio é um dos constituintes do principal fluido intracelular envolvido em muitos processos metabólicos, principalmente, aqueles associados à manutenção da homeostasia intracelular, ao balanço osmótico e ao equilíbrio ácido-básico (BORGES et al., 2003). De acordo com BELAY e TEETER (1996) aves submetidas ao ambiente com estresse cíclico (25 a 35 °C), apresentam menor taxa de retenção de fósforo, potássio, sódio, manganês, cobre e zinco, quando comparadas com aquelas criadas em ambiente termoneutro (24°C).

Neste contexto, a betaína atua ativamente nas células, substituindo o potássio intracelular e mantendo o balanço hídrico (YANCEY et al., 1982), mantendo constante a concentração hídrica, promovendo economia de energia na bomba de sódio-potássio. Com isso, atribui maior resistência osmótica e protege as funções de trocas iônicas e temperatura, promovendo a diminuição dos prejuízos da desidratação celular em condições de estresse (SAYED e SCOTT, 2007).

A melhora do desempenho com a adição de betaína, pode ser devido a função osmolítica no intestino de frangos (KIDD et al., 1997), com capacidade de estabilizar o metabolismo celular sob diferentes condições de estresse osmótico (DRAGOLOVICH, 1994) com baixo custo energético (NIANG, 2005).

GOLDFLUS (1997) e REMUS (2001) destacaram que a manutenção do volume celular implica em gasto de energia metabólica (ATP), o qual está relacionado ao

mecanismo da bomba de sódio-potássio. Assim, a suplementação de betaina possivelmente favoreceu o bombeamento de eletrólitos nas células, proporcionando menor gasto energético para manutenção da concentração hídrica celular e, consequentemente, destinando a energia poupada para outros processos metabólicos relacionados à produção e ao crescimento, trazendo, assim, benefícios ao desempenho das aves. Tais inferências podem ser justificadas pela melhora na CA das aves mantidas em ambiente com estresse cíclico e alimentadas com dieta contendo betaina durante a fase final de criação. Assim, é possível que a betaina tenha exercido função osmoprotetora.

Os resultados positivos verificados com a inclusão de betaina em dietas para frangos de corte submetidos ao estresse por calor corroboram com os achados de outros estudos (AUGUSTINE e DANFORTH, 1999; TEETER et al., 1999). Assim, observou-se, de modo geral, que a inclusão de betaina em dietas para frangos de corte proporcionou efeitos positivos sobre o balanço hídrico de aves mantidas em situação de estresse por alta temperatura ambiental ou por coccidiose. HRUBY (2002) ao fornecer 0,10 e 0,15% de betaina em dietas para frangos de corte submetidos a estresse por calor e/ou coccídio, observou melhora na CA das aves. De forma similar, FAROOQI et al. (2005) observaram que a inclusão de 0,1% de betaina aumentou o ganho de peso de aves submetidas a estresse por calor em relação ao grupo controle.

Os resultados positivos observados com a inclusão de betaina em dietas para frangos de corte podem estar relacionados, entre outros fatores, à sua característica de doar grupamentos metil em reações de transmetilação. No organismo animal, a betaina é sintetizada por meio da oxidação da colina na mitocôndria (REMUS, 2000), quando ocorre a reação de metilação e cedendo um grupamento metil, poupando a metionina nessa função, direcionando esse aminoácido para a síntese proteíca, e consequentemente, poupando a inclusão de metionina sintética nas dietas (METZLER-ZEBELI et al., 2009).

A metionina é o primeiro aminoácido limitante em dietas de frangos de corte, a qual participa da síntese protéica e no processo de transmetilação, atuando como doadora de grupamento metil, sendo que é convertida em homocisteína (METZLER-

ZEBELI et al., 2009) produzindo o aminoácido cistina. Ambos os aminoácidos são fisiologicamente essenciais para manutenção e crescimento dos animais (PINTO et al., 2003). Com isso, uma dieta deficiente em metionina, pode comprometer a síntese de cistina na reação de transmetilação (TEIXEIRA, 2007).

A adição de betaína possibilita também poupar colina para síntese de betaína. Segundo STEKOL (1953), a betaína tem capacidade de metilar homocisteína com mais eficiência que a colina, o que explica a ineficiência da colina em substituir a metionina dietética como fornecedora de grupamentos metílicos. No entanto, grande parte da colina dietética é incorporada à lecitina e esfingomielina, disponibilizando pouca quantidade para oxidação à betaína (NIANG, 2005). Portanto, a inclusão de betaína natural nas dietas poderia ser mais efetiva na doação de grupo metil (VIRTANEN, 1995).

Segundo GONZALES (2006), a inclusão de betaína nas dietas poderia economizar 25% de colina e metionina que seriam usada para doar o grupo metil. Entretanto, a betaína não substitui a colina nem a metionina em suas funções vitais.

VIRTANEN e RUMSEY (1996) constataram em ensaios com frangos de corte, que a betaína foi mais eficiente no incremento do desempenho que a metionina, e recomendaram substituir duas partes de metionina por uma parte de betaína. Da mesma forma, ATTIA et al. (2005) relatou que 0,07% de betaína pode substituir 0,05% de metionina na dietas de aves de crescimento lento sem afetar o desempenho. ZHAN et al. (2006) também observaram que a suplementação de betaína a 0,05% nas dietas com reduções de metionina, foi eficiente para melhorar o desempenho das aves, podendo poupar a inclusão de metionina sintética.

No entanto, alguns relatos na literatura não suportam função de substituir a metionina por betaína. ROSTAGNO e PACK (1996), não encontraram resultados satisfatórios da substituição (total e parcial). Resultados observados por SCHUTTE et al. (1997), SILVERSIDES et al. (1999), ESTEVE-GARCIA e MACK (2000), McDEVITT et al. (2000), KERMANSAAHI (2001) não evidenciaram resultados satisfatórios da substituição parcial de metionina por betaína.

Por outro lado, algumas pesquisas científicas reportam viabilidade da substituição de colina pela betaina (MILES et al., 1987; LOWRY et al., 1987; HASSAN et al., 2005; HRUBY et al., 2005). De acordo com HASSAN et al. (2005), a inclusão de betaina foi mais efetiva na melhora do desempenho do que a colina, no entanto, DILGER et al., (2007) propõem uma substituição de 50% da colina por betaina.

No presente experimento as reduções dos níveis de metionina digestível e colina nas dietas de 0,05; 1,07; 0,66 e 0,49 kg/ton de DL- Metionina e 0,53; 0,62; 0,62 e 0,53 kg/ton de Colina (60%) adicionadas as dietas pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente. Os dados demonstram uma melhoria na CA das aves comparados ao CP quando adicionada betaina conforme o Betacheck® aos 35 dias, além de uma melhoria de ambos os tratamentos suplementados na fase final da criação. Porém, analisando os dados da fase de final (36 a 45 dias), o potencial osmoprotetor da betaina atuou significativamente na melhoria do GP e CA em aves submetidas ao estresse calórico, com destaque ao efeito mais evidenciado na CA das aves do programa brasileiro da qual não foi estatisticamente similar ao CN. Tal efeito pode ser provavelmente atribuído pela maior inclusão de betaina na dieta quando comparado com o programa Betacheck®.

Esses resultados estão de acordo com trabalhos realizados por MATTEWS et al., 1997; WANG et al., 2004 e ZHAN et al., 2006, que avaliaram a substituição parcial de metionina e colina por betaina. A eficiência na doação de grupo metil, junto ação osmoprotetora e melhora na digestibilidade e absorção de nutrientes (EKLUND et al., 2005), explica o potencial da molécula de betaina em melhorar o desempenho das aves no período final da criação.

### **3.2- Rendimento de carcaça e das partes e perda de água por gotejamento (Drip loss)**

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão de betaina, tampouco da condição ambiental, sobre o rendimento de carcaça e das partes de frangos de corte (Tabela 12).

**Tabela 12.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância dos percentuais (%) de rendimento de carcaça, coxa com sobre coxa, peito, asa com dorso de frangos de corte aos 45 dias de idade, alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais.

Variável	Dieta	Ambiente			Probabilidades	CV (%)
		Cíclico	Termoneutro	Dieta	Ambiente	
<b>Carcaça</b>	CP	72,24	72,65			
	CN	72,11	72,57	0,8430	0,4209	0,9716
	Betacheck®	71,73	72,36			2,24
	Prog. Brasileiro	72,61	72,63			
<b>Coxa com sobrecoxa</b>	CP	21,90	21,73			
	CN	21,84	21,87	0,3474	0,7807	0,8853
	Betacheck®	21,29	21,50			4,19
	Prog. Brasileiro	22,19	21,85			
<b>Peito</b>	CP	26,06	26,59			
	CN	26,40	26,70	0,7546	0,1566	0,9381
	Betacheck®	26,66	26,83			3,92
	Prog. Brasileiro	26,28	26,92			
<b>Asa com dorso</b>	CP	24,23	23,80			
	CN	23,83	24,34	0,9492	0,2195	0,4068
	Betacheck®	24,70	23,74			4,73
	Prog. Brasileiro	24,33	23,70			

Como mencionado anteriormente, a betaina pode atuar como doadora de grupos metil, o que aumentaria a disponibilidade de metionina para síntese de proteína e, consequentemente, o crescimento muscular (NIANG, 2005). Segundo HRUBY (2002), o metabolismo da betaina produz glicina, aminoácido importante na síntese de proteína e que colabora para o crescimento muscular. Além disso, a betaina pode contribuir por diferentes rotas metabólicas no sentido de diminuir a deposição de gordura na carcaça em função da síntese de metionina e S-adenosilmetionina, via transmetilação da homocisteína, o que pode promover maior desenvolvimento e síntese de tecido muscular, proporcionando maior rendimento de carcaça (PARTRIDGE, 2002). Portanto, espera-se que o efeito da betaina nas características de carcaça ocorra em função de sua propriedade doadora de grupamentos metil, o que aumentaria a biodisponibilidade de metionina e cisteína na deposição protéica (McDEVITT et al., 2000).

Entretanto, este mecanismo de ação não foi evidenciado no presente estudo, o que sugere que a ação da betaina foi mais efetiva, possivelmente, no sentido de atuar como osmoprotetora.

De forma similar à observada no presente estudo vários trabalhos (ROSTAGNO e PACK, 1996; MATTEWS et al., 1997; SCHUTTE et al., 1997; TURKER et al., 2004; FRITZ, 2005) não verificaram melhora no rendimento de partes e de carcaça ao utilizarem betaina em substituição parcial e total à metionina em dietas para frangos de corte. KONCA et al., (2009) não encontraram efeito da adição de betaina sobre o rendimento de carcaça de aves alojadas em ambiente favorável ao estresse por calor.

Por outro lado, alguns trabalhos reportaram melhora no rendimento de peito em virtude da suplementação de betaina em dietas para frangos de corte (SCHUTTE et al., 1997; McDEVITT et al., 2000; REMUS, 2001; HRUBY, 2002). Já SCHUTTE et al., (1997) e ESTEVE-GARCIA e MACK (2000) observaram aumento ( $p<0,05$ ) no rendimento de carcaça com a suplementação de betaina. MAILFERT e DRIVER (2008) observaram que a inclusão de betaina aumentou a tolerância ao estresse, com melhora na composição da carcaça e no desempenho de aves submetidas ao estresse por calor.

Com relação à perda de água da carcaça e das partes (Tabela 13) verificou-se interação significativa (dieta vs ambiente) apenas para a variável peito. No desdobramento da interação, não houve efeito da dieta, contudo foi observado efeito de ambiente entre as aves que consumiram a dieta CP, com perda de água no ambiente termoneutro em relação ao ambiente em que as aves foram submetidas ao estresse calórico.

A avaliação das médias das variáveis para as quais não houve efeito de interação, possibilitou verificar que houve maior perda de água pelas carcaças de aves alojadas em ambiente termoneutro ( $P<0,05$ ) em relação ao cíclico. Observou-se maior perda de água pelas asas com dorsos de aves alimentadas com dieta suplementada com betaina de acordo com o Betacheck® em relação àquelas que receberam as dietas CP e CN, apesar da inclusão de betaina de acordo com o programa brasileiro não diferir dos demais tratamentos.

Esperava-se, no presente estudo, maior retenção de água e, consequentemente, menor perda por gotejamento em virtude da teoria de ação da molécula de betaina como osmoprotetora. No entanto, não foi possível demonstrar tal efeito sendo este fato não condizente com relatos científicos acerca do efeito da betaina sobre a retenção de água.

O acúmulo de betaina protege as células do estresse osmótico, auxiliando na regulação das atividades metabólicas (KO et al., 1994), o que previne a desidratação celular (PETRONINI et al., 1993). Com isso, durante o estresse calórico aumenta a retenção de água no corpo, auxilia no controle do balanço hídrico celular e estabiliza as enzimas celulares (NIANG, 2005), auxiliando no desempenho de aves desafiadas com coccidiose (REMUS et al., 1996), promovendo melhor absorção de proteína, lisina e metionina em aves submetidas ao estresse (REMUS, 2001). Tais benefícios ainda são somados ao efeito de doador metil, promovendo um aumento no rendimento de peito de aves comerciais (LUNDEEN, 2001).

**Tabela 13.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância dos percentuais (%) de perda de água por gotejamento da carcaça, coxa com sobre coxa, peito e asa com dorso de frangos de corte aos 45 dias de idade, alimentados com as dietas experimentais e submetidos a diferentes condições ambientais.

Variável	Dieta	Ambiente		Média	Probabilidades		CV (%)
		Cíclico	Termoneutro		Dieta	Ambiente	
<b>Carcáça</b>	CP	1,578	2,520	2,084			
	CN	2,077	2,348	2,240			
	Betacheck®	2,177	2,433	2,322	0,4634	0,0283	0,2003
	Prog. Brasileiro	1,980	1,986	1,983			
	Média	1,939 b	2,351 a				25,11
<b>Coxa com sobrecoxa</b>	CP	1,306	1,523				
	CN	1,100	1,463				
	Betacheck®	1,398	1,440		0,6128	0,1785	0,5826
	Prog. Brasileiro	1,275	1,246				26,05
<b>Peito</b>	CP	1,366 bA	2,104 aA				
	CN	1,760 aA	1,753 aA				
	Betacheck®	1,956 aA	1,747 aA				
	Prog. Brasileiro	1,608 aA	1,796 aA		0,8103	0,1399	0,0295
							22,45
<b>Asa com dorso</b>	CP	2,205	2,871	2,513 B			
	CN	2,698	2,725	2,715 B			
	Betacheck®	4,538	3,250	3,745 A	0,0030	0,6794	0,0672
	Prog. Brasileiro	2,830	2,991	2,929 AB			30,92
	Médias	2,989	2,965				

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tais relatos apresentados concordam com as constatações de MOONEY et al. (1998), que observaram maior retenção de água em aves alimentadas com betaina em relação ao grupo controle, quando expostos a estresse cíclicos de temperatura e/ou desafio por coccidiose.

### **3.3 - Morfologia intestinal**

Os resultados das características morfométricas de cripta e vilo aos 25 e 45 dias são apresentados na Tabela 14. De acordo com os resultados apresentados não houve interação significativa nas variáveis estudadas nas duas fases.

Apenas na altura de vilo aos 25 dias de idade, observou-se efeito entre as dietas, onde a inclusão de betaina natural de acordo com o programa brasileiro foi maior estatisticamente em relação a adição conforme o Betacheck®, contudo ambos os controles não diferem entre os tratamentos estudados.

Alguns estudos indicam que a suplementação de betaina pode auxiliar beneficamente o epitélio intestinal (KETTUNEN et al., 2001) pela capacidade de agir como um osmólito, mantendo a integridade das vilosidades e promovendo melhora na digestibilidade e absorção dos nutrientes (NIANG, 2005). Em situações de desafios, a inclusão de betaina através da função osmoprotetora, promove a manutenção do epitélio intestinal, evitando distúrbios nas quais levariam alteração metabólica e interrupção na absorção de nutrientes (TEIXEIRA, 2007).

KETTUNEN et al. (2001) estudaram o efeito da betaina em frangos de corte, e observaram uma proteção nas células do duodeno contra a perda de água no meio hiperosmótico, embora não tenha protegido o tecido do jejuno.

**Tabela 14.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância da profundidade de cripta (mm) e altura de vilos (mm) do jejuno de frangos de corte aos 25 e aos 45 dias de idade.

Variável	Dietas	Ambiente		Médias	Probabilidades	CV (%)
		Cíclica	Termoneutra			
<b>25 dias de idade</b>						
<b>Profundidade de Cripta</b>	CP	0,358	0,343	0,348		
	CN	0,365	0,393	0,378		
	Betacheck®	0,349	0,319	0,337	0,4546	0,7582
	Prog. Brasileiro	0,359	0,357	0,358		17,23
	Médias	0,357	0,353			
<b>Altura de Vilo</b>	CP	0,909	1,142	1,057 AB		
	CN	1,116	1,268	1,192 AB		
	Betacheck®	1,029	0,970	1,005 B	0,0502	0,4122
	Prog. Brasileiro	1,189	1,242	1,215 A		17,87
	Médias	1,061	1,159			
<b>45 dias de idade</b>						
<b>Profundidade de Cripta</b>	CP	0,317	0,323	0,320		
	CN	0,375	0,328	0,349		
	Betacheck®	0,332	0,368	0,347	0,3142	0,1870
	Prog. Brasileiro	0,429	0,331	0,370		17,23
	Médias	0,353	0,334			
<b>Altura de Vilo</b>	CP	1,156	1,227	1,192		
	CN	1,301	1,215	1,253		
	Betacheck®	1,349	1,404	1,372	0,1292	0,5931
	Prog. Brasileiro	1,305	1,241	1,266		17,87
	Médias	1,277	1,258			

Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

KLASING et al. (2002), após 7 dias da inoculação com *Eimeria*, observaram maiores vilosidades com aves alimentadas com 0,10% de betaina na ração, porém sem efeitos na profundidade de cripta. Já NIANG (2005) ao trabalhar com diferentes inclusões de betaina em dietas de frangos de corte não encontrou diferenças nas características morfométricas aos 14 dias, porém após essa idade as aves foram submetidas a desafio de coccidiose, e encontrou melhoria na altura das vilosidades com as aves alimentadas com 0,05% de betaina e controle.

Achados científicos apresentam relatos sobre o efeito osmoprotetor e doador de grupamento metil conferido a molécula de betaina no auxílio da manutenção da integridade intestinal, principalmente em aves submetidas a desafios por coccidiose (KETTUNEN et al.; 2001, NIANG, 2005; TEIXEIRA, 2007), porém o modo de ação não encontra-se completamente entendido (AUGUSTINE et al., 1997).

Resultados mais expressivos em aves desafiadas podem ocorrer devido à destruição das vilosidades pelo patógeno, realçando o efeito promovido pela betaina na mucosa intestinal. Mesmo sem desafios de coccidiose e estresse calórico (não houve efeito para o ambiente), a inclusão de betaina de acordo com as recomendações brasileiras melhorou a altura de vilos aos 25 dias de idade, provavelmente proporcionada ao seu efeito osmoprotetor.

#### **4- CONCLUSÕES**

A adição de betaina natural em dietas com reduções de metionina digestível e colina apresentou melhoria na conversão alimentar das aves submetidas ao estresse calórico.

Não foram observados diferenças significativas nas características de carcaça com a inclusão de betaina natural em substituição parcial da metionina e colina suplementar.

A maior altura de vilos foi observada aos 25 dias de acordo com as recomendações do programa brasileiro. A suplementação não promoveu melhoria nas características morfométricas aos 45 dias.

## 5- REFERÊNCIAS

- ALLEN, P.C.; DANFORTH, H.D.; AUGUSTINE, P.C. Dietary modulation of avian coccidiosis. **Intl J. Parasit.** v.28, p.1131-1140, 1998.
- ATTIA, Y.A.; HASSAN, R.S.; SHEHATTA, M.H.; ADD EL-HADY, S.B. Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing as affect by betaine addition to diets containing 2. Different levels of methionine. **In. J. Poult. Sci.**, v.4, p.856-865, 2005.
- AUGUSTINE P.C.; DANFORTH, H.D Influences of betaine and salinomycin on intestinal absorption of methionine and glucose and on the ultrastructure of the intestinal cells and parasite developmental stage in chicks infected with *Eimeria acervulina*. **Avian Disease**, v.43, p.89-97, 1999.
- AUGUSTINE, P.C.; MCNAUGHTON, J.L.; VIRTANEN, E.; ROSI, L. Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo, **Poultry Science**, v.76, n.6, p.802-809, 1997.
- BEHMER, A. O.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS-NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia e patológica**. São Paulo: EUSPE, 239p, 1976.
- BELAY, T.; TEETER, R.G. Effects of environmental temperature on broiler mineral balance partitioned into urinary and fecal loss. **Brit. Poultry Sci**, London, v.37 n.2, p. 423-433, 1996.
- BOCH, J.; KEMPF, B; BREMER, E. Osmoregulation in *Bacillus subtilis*: Synthesis of the osmoprotectant glycine betaine from exogenously provided choline. **J. Bacteriol**, v.176, p.5364–5371, 1994.
- BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.3, n..5, Santa Maria/RS, 2003.

BRIDI, A.M.; RÜBENSAM, J.M.; NICOLAIIEWSKY, S.; LOPES, R.F.F.; LOBATO, J.F.P. Efeito do genótipo halotano e de diferentes sistemas de produção na qualidade da carne suína. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.32, n.6, Viçosa, Nov./Dec, 2003.

CRONJÉ, P.B. In: **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, v.15, p.107-122, 2005.

DILGER, R.N.; GARROW,T.A.; BAKER, D.H. Betaine can partially spare choline in chicks but only when added to diets containing a minimal level of choline. **Journal of Nutrition**, v.137, p.2224-2228, 2007.

DRAGOLOVICH, J. Dealing with salt stress in animal cells: the role and regulation of glycine betaine concentrations. **Journal of Experimental Zoology**, v.168, p.139-144, 1994.

EKLUND, M.; BAUER, E.; WAMATU, J.; MOSENTHIN, R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. **Nutr. Res. Rev.** v.18, p.31-48, 2005.

ESTEVE-GARCIA, E.; MACK, S. The effect of DL-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 87, p. 85-93, 2000.

FAROOQI, H.A.G. ; KHAN, M.S.; KHAN, M.A.; RABBANI, M.; PERVEZ, K.; KHAN, J.A. Evaluation of betaine and vitamin c in alleviation of heat stress in broilers. **Int. J. Agri. Biol.**, v. 7, n. 5, 2005.

FERKET, P.R. Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical experience and recommendations In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries **Proceedings of Alltech's Twentieth Annual Symposium** Ed. by TP Lyons e KA Jacques. Nottingham University Press. 2004. p. 57-68.

GOLDFLUS, F. Aplicação de Betaína em Dietas de Frangos de Corte. In: **SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS**, Campinas, 1998, p. 21-26.

GONZALES, E. **Aditivos para rações de aves e suínos**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. UNESP. Campus de Botucatu. APOSTILA. 139p. 2006.

HARMS, R.H.; RUSSEL, G.B. Betaine does not improve performance of laying hens when the diet contains adequate choline. **Poult. Sci.**, v.81, p.99-101, 2002.

HASSAN, R.A. et al. Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing different levels of choline. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.11, p.840-850, 2005.

HRUBY, M. Increasing breast meat yield in broilers and turkeys. **Warr Publishing Company**, Poultry International, 2002.

HRUBY, M.; OMBABI, A.; SCHLAGHECK, A. Natural betaine maintains layer performance in methionine/choline chloride reduced diets. 15<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition – **Conference Proceedings**, Balatonfured, Hungary, p.507-508, 2005.

KERMANSHAHI, H. Betaine replacement for DL-methionine in the performance and carcass characteristics of broiler chicks. **J. Agric. Sci. Technol.** v.3, p.273-279, 2001.

KETTUNEN, H.; TIIHONEN, K.; PEURANEN, S.; SAARINEN, M.T.; REMUS, J.C. Dietary betaína accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidian-infected broiler chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.130, p.759-769, 2001.

KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.125-139, 1997.

KLASING, K.C.; ADLER, K.L.; REMUS, J.C.; CALVERT, C.C. Dietary betáína increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidian-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. **Journal of Nutrition**, v.132, p.2274-2282, 2002.

KO, R.; SMITH, L.T.; SMITH, G.M. Glycine betaine confers enhanced osmotolerance and cryotolerance on *Listeria monocytogenes*. **J. Bacteriol.**, v.176, p.426–431, 1994.

LUNDEEN, T. Methionine, betaine supplementation improves turkey breast meat yield. **Feedstuffs**, v.1, 2001.

MATTEWS, J.O.; SOUTHERN, L.L.; BIDNER, T.D. Interactive effects of betaine (Betafin-BCR), crude protein, and net energy on growth, carcass traits, and serum metabolites of gilts. **Journal of Animal Science**, v.75 (Suppl. 1), n.62 (Abstr.), 1997.

McDEVITT, R. M.; MACK, S.; WALLIS, I. R. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcase characteristics. **Br. Poult. Sci.** v.41, p.473–480, 2000.

METZLER-ZEBELI, B.U.; EKLUND, M.; MOSENTHIN,R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.65, p.419-441, 2009.

MOONEY, M.; BELAY, T.; TEETER, R.G.; VIRTANEN, E.; REMUS, J. Effect of betaine on loss of corporal water. In: SOUTHERN POULTRY SCIENCE SOCIETY AND SOUTHERN CONFERENCE ON AVIAN DISEASES, 1998, Atlanta, GA, **Proceedings...** Atlanta: jan.19-20, 1998.

NIANG, T. M. S. **Suplementação de betáína em rações de frangos de corte infectados experimentalmente com *Eimeria acervulina* (Tyzzer, 1929)**. 2005. 105p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2005.

PANIZ, C.; GROTTO, D.; SCHMITT, G.C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K.L.; POMBLUM, V.J.; GARCIA, S.C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 5, p. 323-34, 2005.

PARTRIDGE, G. Betaine from sugarbeet gives an energy boost. **Pig International**, v.32, n.1, p.21, 2002.

PEREIRA, P.W.Z. Avaliação de complexo enzimático e betaina natural nas rações de frangos de corte criados em aviário comercial. 2008. **Dissertação de Mestrado**, 64p. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”. 2008.

PETRONINI, P.G.; DEANGELIS, E.M.; BORGHETTI, P.; BORGHETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. **Biochemistry Journal**, v.282, p.69-73, 1992.

RASBAND, W.S. Image J. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 2004.

REMUS, J. Betaine for increased breast meat yield. **Int. Poult. Prod.** v.9, p.22–23, 2001.

REMUS, J.; VIRTANEN E.; ROSI, L. McNAUGHTON, J. In: THE WORLD'S POULTRY CONGRESS, 1996. **Proceedings...** 1996, v.4, n.336, p.2-5.

REMUS, J.C.; QUARLES, C.L. **Poultry Science**, v.79 (suppl. 1), n.118, 2000.

ROSTAGNO, et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2005. 186p. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; PACK, M. Can betaine replace supplemental DL-methionine in broiler diets? **J. Appl. Poultry Res.** v.5, p.150-154, 1996.

SALVADOR, D.; ARIKI, J.; PEDRO, A. A.; BORGES, S. A. Efeitos do estresse calórico e do bicarbonato de sódio na ração e fisiológicos de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 35., 1998, Botucatu, SP. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 312-313.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide, version 8 ed. Cary, NC. 2001.

SAYED, M.A.M.; SCOTT, T A. Maintaining electrolyte and water balance to alleviate heat stress in broiler chickens. **Aust. Poult. Sci. Symp.** 2007...19.

SCHUTTE, J. B. ; DE JONG, J.; SMINK, W.; PACK, M. Replacement value of betaine for DL-methionine in male broiler chicks. **Poultry Science**, v.76, p.321–325, 1997.

SCHUTTE, J. B.; DE JONG, J.; SMINK, W.; PACK, D. M. Replacement value of betaine for DL-methionine in male broiler chicks. **Poultry Science**, v.76, p.321-325, 1997.

STEKOL, J.A.; HSU, P.T.; WEISS, S.; SMITH, P. Labile methyl group and its synthesis in relation to growth in chicks. **Journal of Biological Chemistry**, v. 203, p. 763- 773, 1953.

TEETER, R.G.; REMUS, J.C.; BELAY, T.; MOONEY, M. VITANEN, E.; AUGUSTINE, P. The effects of betaine on water balance and performance in broilers reared under differing environmental conditions. In: AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 1999, Australia. **Proceedings...** Australia, 1999, p. 165.

TEIXEIRA, M. **Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com *Eimeria acervulina* e suplementados com betaina**. 2007. 60p. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

TURKER, M.; ALP, M.; KOCABAGLI, N. Performance of broilers chicks fed on reduced methionine diets supplemented with betaine. **XXII Poultry Congress, Istanbul**, Turkey, 2004.

VIRTANEN, E. Piecing together the betaine puzzle. **Feed Mix**, v.3, n.1, p.12-17, 1995.

VIRTANEN, E.; ROSI, L. Effects of betaine on methionine requirements of broilers under various environmental conditions. In: AUSTRALIAN POUTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 1995, Sidney. **Proceedings**... Sidney: University of Sidney, Australia, 1995, v.7, p.88-98.

WALDROUP, P. W.; MOTL, M. A.; YAN, F.; FRITTS, C. A. Effects of betaine and choline on response to methionine supplementation to broiler diets formulated to industry standards. **J. Appl. Poult. Res.** v.15, p.58–71, 2006.

WANG, Y. Z.; XU, Z. R.; FENG, J. The effect of betaine and DL-methionine on growth performance and carcass characteristics in meat ducks. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.116, p.151-159, 2004.

YANCEY, P.H.; CLARK, M.E.; HAND, S.C.; BOWLUS, R.D.; SOMERO, G.N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. **Science**, v.217, p.1214-1223, 1982.

ZHAN, X.A.; LI, J.X.; XU, Z.R.; ZHAO, R.Q. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broilers. **Br. Poult. Sci.**, v.47, n.5, p-576-580, 2006.

## CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE SOBRE O DESEMPENHO E MORFOMETRIA INTESTINAL

**RESUMO** - A presente pesquisa objetivou avaliar o desempenho zootécnico e a morfometria intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo distintas fontes de mananoligossacarídeos (MOS). Foi conduzido um experimento com 1280 pintos de corte machos da linhagem Cobb, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições, sendo a unidade experimental composta por 40 aves. Os tratamentos corresponderam a um controle negativo (dieta isenta de antibiótico), um controle positivo (dieta contendo antibiótico) e dois tratamentos nos quais foram adicionados ao controle negativo duas fontes distintas de MOS. Foi formulada uma dieta basal com milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos de acordo com as exigências nutricionais para cada fase das aves. Foi realizado um desafio sanitário com o uso de cama reutilizada, limpeza dos bebedouros somente duas vezes por semana e oferta semanal de água contaminada com cama. As variáveis de desempenho zootécnico e morfometria intestinal avaliadas foram: consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, viabilidade criatória e fator de produção e características de vilos e cripta. A adição de MOS, independente da fonte, proporcionou índices de conversão alimentar melhores em relação aos obtidos pelas aves alimentadas com a dieta controle negativo, sendo similares aos índices apresentados pelas aves do controle positivo. Além disso, houve melhora na profundidade de cripta no jejuno e incremento da altura de vilos na região do íleo, somente para as aves alimentadas com a fonte de MOS 2. As fontes comerciais de mananoligossacarídeos mostraram potencial para serem usadas como aditivos alternativos aos promotores de crescimento nas dietas de frangos de corte. A fonte de MOS 1 proporcionou desempenho ligeiramente superior ao MOS 2.

**Palavras-chave:** aditivos, desafio, nutrição, prebióticos, promotor de crescimento, saúde intestinal

## EFFECTS OF DIETARY MANNANOLIGOSACCHARIDES (MOS) ON THE GROWTH PERFORMANCE AND INTESTINAL MORPHOLOGY OF BROILERS

**ABSTRACT** - One experiment was conducted to evaluate the effects of two mannanoligosaccharide (MOS) sources on broiler performance. 1280 Cobb male broilers were distributed in 32 floor pens with used litter in a completely randomized design with four treatments and eight replicates of 40 birds in each. The following treatments were analyzed: control, antibiotic (virginiamycin, 20 ppm), MOS-1, and MOS-2. A corn and soybean meal basal diet with meat and bone meal and free of anticoccidial drugs was used. Birds were vaccinated against coccidiosis. Feed additives were supplemented according to treatments replacing inert material. MOS were added at 1.5, 1.0 and 0.5 kg/ton in starter, grower and finisher diets, respectively. Drinkers were cleaned only twice a week to increase microbial challenge conditions. Body weight gain (BWG), feed intake, feed conversion ratio, viability, production efficiency factor (PEF), depth of crypt and height of villis were evaluated from 1 to 42 days of age. Significant differences ( $P<0.05$ ) among treatments were observed on BWG, feed conversion and PEF. Broilers fed diets with both MOS products had similar BWG than the ones fed diets with antibiotic. However, the BWG of these treatments were not significantly different from the control group. Dietary inclusions of MOS-1 and antibiotic promoted significant positive effects on feed conversion and PEF compared to the control group. The sources of MOS improved depth of crypt in jejunum, but just the birds fed MOS 2 had an increase in height of villis in ileum. MOS could be used as an alternative to antibiotic growth promoters for broilers.

**Keywords:** additives, challenge, growth promoter, intestinal health, nutrition, prebiotics

## **1 – INTRODUÇÃO**

As evidências dos efeitos residuais e da resistência bacteriana nos animais vem motivando o mercado consumidor a impor restrições ao uso de antibióticos e quimioterápicos em rações para aves e suínos com a aplicação de promotores de crescimento. Com isso, cresce a demanda por produtos alternativos, como os prebióticos, os quais modulam a microbiota nativa do hospedeiro, favorecendo os microorganismos benéficos do trato gastrointestinal, o que proporciona melhor desempenho.

GIBSON e ROBERFROID (1995) definiram prebióticos como sendo ingredientes alimentares que não são digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de animais monogástricos e são benéficos ao hospedeiro por estimular, seletivamente, o crescimento e/ou atividade de um limitado número de bactérias no cólon, as quais proporcionam um ambiente intestinal saudável.

Os mananoligossacarídeos fosforilados (MOS) derivados de cepas específicas da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* têm sido utilizados como prebiótico. As glicomananas presentes na parede celular são resistentes à degradação enzimática e as bactérias do trato digestório, além de serem capazes de aglutinar patógenos no lúmen intestinal.

Os mananoligossacarídeos modulam a flora intestinal, reduzem a taxa de renovação da mucosa intestinal (turnover) e estimulam o sistema imune (ALBINO et al., 2006), o que melhora e protege a mucosa, reduzindo lesões intestinais e propiciando maior altura dos vilos e profundidade de cripta (PELICANO et al., 2005). Tais propriedades podem melhorar o desempenho e diminuir a mortalidade de frangos de corte.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivos avaliar o desempenho zootécnico e a morfometria do trato gastrointestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo MOS em substituição ao antibiótico.

## **2- MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local, período e aves experimentais**

Foi realizado um ensaio de desempenho no galpão experimental do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal-SP. O ensaio teve duração de 42 dias, no período de 19 de setembro a 31 de outubro de 2007. Foram criados 1280 pintos de corte machos da linhagem Cobb, com um dia de idade.

### **2.2 Dietas e delineamento experimental**

Para formação das unidades experimentais, as aves foram pesadas individualmente e distribuídas de forma que todas as parcelas apresentassem peso médio similar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 8 repetições de 40 aves cada, totalizando 32 unidades experimentais.

Os tratamentos experimentais consistiram de um controle negativo (dieta isenta de antibiótico), um controle positivo (dieta com antibiótico) e duas dietas nas quais foram adicionadas ao controle negativo duas fontes distintas de MOS, denominadas de MOS 1 e MOS 2.

As duas fontes de MOS comerciais, originários de cepas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), porém obtidos por diferentes processos. A levedura usada para a produção do MOS 1 é obtida pela reprodução em meio aeróbico, com o objetivo principal de produzir biomassa de levedura para a produção de MOS e outras frações da célula para serem usados na alimentação animal. Já o MOS 2, é produzido a partir de levedura que é subproduto da indústria de fermentação alcoólica. As análises físicos-químicas de ambas as fontes são apresentadas abaixo:

- ❖ MOS 1 - 27% proteína; 6,2% umidade; 5,5 pH; 535 densidade (g/l); 25,3% mananas; 34,6% glucanas.
- ❖ MOS 2 - 35,71% proteína; 5,54% umidade; 7,19 pH; 510 densidade (g/l); 15,2% mananas; 22,5% glucanas.

O antibiótico utilizado no controle positivo foi a virginiamicina na concentração de 50% e com inclusão de 40 g/tonelada de alimento. Nas dietas com MOS, a inclusão de

ambas as fontes do produto foi na proporção de 1,5; 1,0 e 0,5 kg/tonelada de dieta para as fases inicial, crescimento e final, respectivamente.

Foi formulada uma dieta basal com milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos, de acordo com as exigências nutricionais para cada fase de criação das aves (Tabela 1). A composição dos alimentos e os níveis nutricionais considerados nas formulações foram baseados nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2005). O antibiótico e as fontes de MOS foram adicionados em substituição ao inerte.

**Tabela 1.** Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das dietas inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 42 dias) para frangos de corte.

Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento	Final
Milho	63,58	64,50	67,13
Farelo de soja 45%	29,29	27,54	24,92
Farinha de carne e ossos	3,00	2,50	2,50
Óleo degomado de soja	1,03	2,43	2,67
Calcário	0,74	0,72	0,67
Fosfato bicálcico	0,64	0,68	0,53
Inerte <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,45	0,43	0,39
L-Lisina 78%	0,27	0,24	0,25
DL-Metionina 99%	0,26	0,24	0,22
L-Treonina	0,08	0,06	0,06
Suplemento vitamínico <sup>2,3</sup>	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral <sup>4</sup>	0,05	0,05	0,05
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição nutricional</b>			
EMA (kcal/kg)	3000	3100	3150
PB (%)	20,50	19,50	18,50
Lisina digestível (%)	1,15	1,07	1,02
Met+Cist digestível	0,81	0,77	0,73
Metionina digestível (%)	0,54	0,51	0,47
Treonina digestível (%)	0,74	0,69	0,66
Ca (%)	0,88	0,82	0,76
P disponível (%)	0,44	0,41	0,38
P total (%)	0,65	0,61	0,57
Na (%)	0,220	0,20	0,19

<sup>1</sup>Areia lavada

<sup>2</sup>Adição por quilograma de dieta (ou kg de produto): folic acid 1000mg, pantotenico acid 15000mg, antioxidant 0,5g, niacin 40000mg, selenium 300mg, biotin 60mg, vit B1 1800 mg, vit B12 12000mg, vit B2 6000 mg, vit B6 2800 mg, vit D3 2000000 UI, vit E 15000mg, vit K3 1800 mg, NUTRON ALIMENTOS

<sup>3</sup>Fase crescimento e final

<sup>4</sup>Adição por quilograma de dieta (ou kg de produto):Mn 150,000mg, Zn 100,000 mg, Fe 100,000 mg, Cu 16,000 mg, I 1,500 mg. NUTRON ALIMENTOS

## **2.3 Instalações e manejo**

As aves foram alojadas em galpão experimental de alvenaria coberto por telha francesa, com cortinas, piso cimentado e muretas laterais de 0,5 m de altura, e tela de arame até o pé direito. A instalação era subdividida em boxes com 1,40 m x 2,50 m ( $3,50\text{ m}^2$ ), nos quais adotou-se cama reutilizada proveniente de lotes comerciais, bebedouro pendular automático, comedouro tubular infantil e fonte de aquecimento por meio de lâmpada infravermelho de 250 watts, posicionada a 0,4 m de altura do piso. Aos 7 dias de idade das aves, o comedouro infantil foi substituído por tubular adulto com capacidade para 20 kg e o aquecimento estabelecido de acordo com o manual da linhagem e necessidade dos animais. Adotou-se, durante todo o período experimental, programa de iluminação de 23 horas de luz e 1 hora de escuro no início da noite. O alimento foi fornecido *ad libitum* durante todo experimento.

Os pintos foram vacinados no incubatório contra as doenças de Marek e Bouba aviária. No 4º dia de idade contra coccidiose via água de bebida e, após 3 dias, contra Gumboro (cepa fraca, via ocular). Aos 14 dias de idade foi feita vacinação contra New Castle e o reforço de Gumboro (cepa forte), ambas administradas via água de bebida, sendo utilizado leite em pó (2g/L) como veículo.

Com intuito de reproduzir as condições de campo e proporcionar desafio às aves, foi utilizada na formulação das dietas farinha de carne e ossos (45% de proteína bruta), os boxes foram forrados com cama reutilizada de lotes comerciais e os bebedouros foram higienizados apenas duas vezes por semana. Além disso, as aves foram submetidas à ingestão de água contaminada com cama uma vez por semana, sendo adotada a proporção de 1 kg de cama para cada 4 litros de água. Tal mistura era filtrada e, após as aves passarem por jejum hídrico de duas horas, fora disponibilizada nos bebedouros até o final da tarde.

Temperatura e umidade relativa máximas e mínimas foram registradas diariamente por meio de termohigrômetros digitais distribuídos em dois pontos do galpão e posicionados a 0,1 m de altura da cama. Os valores semanais são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Temperatura e umidade relativa médias semanais das máximas e mínimas registradas diariamente no galpão experimental.

Períodos (dias)	Temperatura (°C)			Umidade (%)		
	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média
1 a 7	33,65	25,36	29,51	45,00	30,93	37,97
8 a 14	33,28	23,59	28,44	53,67	31,08	42,38
15 a 21	33,21	22,64	27,93	47,67	31,17	39,42
22 a 28	35,37	23,51	29,44	61,00	30,00	45,50
29 a 35	34,92	24,06	29,49	53,79	32,00	42,90
36 a 42	33,05	23,61	28,33	69,43	42,43	55,93
<b>Média geral</b>	<b>33,91</b>	<b>23,80</b>	<b>28,85</b>	<b>55,09</b>	<b>32,93</b>	<b>44,01</b>

#### 2.4 Características de desempenho

Aos 21, 33 e 42 dias de idade, as aves e as sobras de rações foram pesadas para determinação das características de desempenho: peso médio (kg/ave), ganho de peso (kg/ave), consumo médio de ração (kg/ave), conversão alimentar (kg/kg), fator de produção e viabilidade criatória (%).

O consumo de ração das aves foi corrigido pela mortalidade, sendo considerado para o cálculo a data da mortalidade e, consequentemente, o número de aves vivas, conforme SAKOMURA e ROSTAGNO (2007). Para estimativa da viabilidade criatória foram consideradas apenas as aves mortas, não sendo consideradas para o cálculo as aves refugo. O fator de produção foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$FP = Gmd * VC * EA * 100$$

Sendo:

Gmd (ganho médio diário, kg/dia) = peso corporal (kg) / idade da ave (dias)

VC (viabilidade criatória, %) = 100 – % mortalidade

EA (eficiência alimentar) = 1 / conversão alimentar

## **2.5 Características morfométricas intestinal**

A avaliação morfométrica do intestino das aves foi realizada aos 21 e 42 dias de idade, quando uma ave por unidade experimental foi sacrificada após jejum de 12 horas. Foram extraídas amostras de, aproximadamente, 2 cm de comprimento de cada um dos seguimentos do intestino delgado: duodeno (a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal); jejun (a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel) e íleo (porção anterior aos cecos). Foi feita abertura dos seguimentos no sentido longitudinal, sendo estes estirpados e imediatamente fixados em solução de *Bouin* por 24 horas. Na sequência, as amostras foram lavadas em álcool 70% com o intuito de remover o fixador e, posteriormente, foram realizadas desidratações em série crescente de alcoóis. Foram, então, diafanizadas em xanol, incluídas em parafina e feitos cortes histológicos semi-seriados de 5 µm de espessura, corados com hematoxilina e eosina, segundo metodologia de BEHMER et al. (1976). As lâminas foram preparadas com Bálamo do Canadá e fotografadas em lupa (LEICA DM 2500) com lente objetiva 5x utilizando o programa LEICA QWin V3. As análises morfométricas da mucosa intestinal em microscopia de luz foram realizadas com auxílio do programa Image J® (RASBAND, 2004). As características avaliadas foram: altura de vilos e profundidade de cripta, sendo consideradas 30 leituras de cada repetição/região intestinal/variável.

## **2.6 Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SAS (2001). Foram atendidas as pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade de variância pelos testes de Cramer-von Mises e Brown e Forsythe's, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM e as médias comparadas pelo teste de Duncan, considerando nível de significância de 5%.

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1- Desempenho

Os resultados médios das características de desempenho das aves nas três fases de criação estão apresentados na Tabela 3 e 4.

**Tabela 3.** Médias e valores de P associado ao teste F da analise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade criatória (VC) e fator de produção (FP) de frangos de corte nas fases inicial e crescimento.

Tratamentos	CR	PM	GP	CA	VC	FP
<b>Fase inicial (1 a 21 dias de idade)</b>						
Controle	1,218 ab	0,922	0,878	1,386 b	98,21	297
Antibiótico	1,222 a	0,948	0,904	1,349 a	98,75	316
MOS 1	1,197 ab	0,925	0,881	1,358 ab	99,64	308
MOS 2	1,191 b	0,922	0,887	1,341 a	98,92	312
<b>Probabilidades</b>	0,0384	0,1464	0,1702	0,0416	0,3430	0,0884
<b>CV (%)</b>	1,95	2,73	2,41	2,13	1,39	4,07
<b>Fase de crescimento (22 a 33 dias de idade)</b>						
Controle negativo	1,735	1,889	0,967	1,797 c	98,29	443
Antibiótico	1,675	1,936	0,988	1,695 a	99,66	485
MOS 1	1,686	1,881	0,956	1,765 bc	98,66	446
MOS 2	1,711	1,903	0,982	1,744 ab	100,00	470
<b>Probabilidades</b>	0,4340	0,2984	0,7163	0,0030	0,4031	0,1336
<b>CV (%)</b>	3,89	2,80	5,19	2,71	2,28	7,73

<sup>a,b,c</sup>Médias com letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p>0,05$ ).

**Tabela 4.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância do consumo de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade criatária (VC) e fator de produção (FP) de frangos de corte na fase final e no período total de criação.

Tratamentos	CR	PM	GP	CA	VC	FP
<b>Fase final (34 a 42 dias de idade)</b>						
Controle	1,525	2,616 b	0,755 b	2,017 b	99,08	413 b
Antibiótico	1,594	2,753 a	0,801 b	1,991 b	96,60	446 b
MOS 1	1,599	2,772 a	0,822 a	1,814 a	100,00	541 a
MOS 2	1,546	2,640 b	0,770 b	2,013 b	98,58	418 b
<b>Probabilidades</b>	0,1869	0,0007	<0,0001	0,0021	0,1067	<0,0001
<b>CV (%)</b>	4,18	2,73	5,60	5,01	1,71	9,79
<b>Período total de criação (1 a 42 dias de idade)</b>						
Controle	4,483	2,616 b	2,587 b	1,734 b	97,08	345 b
Antiobiótico	4,467	2,753 a	2,715 a	1,645 a	98,92	385 a
MOS 1	4,475	2,772 a	2,691 ab	1,664 a	98,21	379 a
MOS 2	4,465	2,640 b	2,626 ab	1,701 ab	97,50	359 ab
<b>Probabilidades</b>	0,9424	0,0007	0,0299	0,0166	0,8509	0,0100
<b>CV (%)</b>	2,31	2,73	3,47	3,05	3,25	6,75

<sup>a,b,c</sup>Médias com letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p>0,05$ ).

Na fase inicial (1 a 21 dias), houve efeito significativo dos tratamentos ( $p<0,05$ ) no consumo de ração e na conversão alimentar. As aves alimentadas com antibiótico apresentaram maior consumo em relação àquelas arraçoadas com a dieta MOS 2. Para a conversão alimentar foi possível observar que as aves que consumiram as dietas com antibiótico, MOS 1 e MOS 2 apresentaram melhores resultados em relação aos animais do grupo controle. Esses resultados indicam que as fontes de MOS tiveram efeitos positivos sobre a CA.

Os resultados da fase de crescimento (22 a 33 dias) reportam efeito significativo somente para conversão alimentar e, assim como na fase anterior, os frangos

alimentados com a dieta de antibiótico e MOS 2 apresentaram melhor conversão em relação ao grupo controle.

Tanto na fase final (34 a 42 dias) quanto no período total da criação (1 a 42 dias), a inclusão do prebiótico nas dietas proporcionou melhorias no peso médio, ganho de peso, conversão alimentar e fator de produção. Na fase final, especificamente, ao contrário do observado nos períodos precedentes, a dieta MOS 1 proporcionaram melhores características de desempenho das aves em relação aos demais tratamentos. No período total de criação, a inclusão de MOS 1 proporcionou melhor peso médio, conversão alimentar e fator de produção em relação ao controle, sendo semelhante ao antibiótico e à dieta MOS 2.

A melhora no desempenho das aves com a inclusão de prebiótico às dietas pode ser justificada pela possível redução do pH intestinal, o que deprime o crescimento de microrganismos patogênicos favorecendo, consequentemente, a microbiota benéfica, com provável melhora na integridade da mucosa intestinal, melhora no aproveitamento dos nutrientes das dietas e, por conseguinte, no desempenho das aves.

De acordo com SILVA (2000), os microorganismos eutróficos são responsáveis pela saúde intestinal, principalmente, quando a velocidade de multiplicação destas bactérias é superior a sua taxa de eliminação pelo peristaltismo, sendo encontradas livres na luz intestinal. Em contrapartida, os microorganismos patógenos colonizam as vilosidades por meio de sua interação específica com as células epiteliais da parede intestinal. Tal junção é característica de bactérias gram-negativas, as quais possuem fímbrias que atuam como suporte na ligação entre as lectinas presentes na superfície dos microorganismos e o receptor do epitélio, representado pelas manoses. Há, então, produção de toxinas que provocam destruição ou atrofia das vilosidades, resultando em estruturas desiguais ou irregulares, com menor área para absorção de nutrientes (FLEMMING, 2005).

Tais fatos demonstram a importância de estratégias, como a adição de prebióticos às dietas de frangos de corte, que, reduzem a concentração de microorganismos patógenos. ITO et al. (2004) observaram que a inclusão de probióticos e de mananoligossacarídeos à dieta de frangos de corte impossibilitou o

estabelecimento de *Escherichia coli*, *Clostridium sp*, *Salmonella sp*, entre outros microorganismos indesejáveis, aumentando o número de bactérias benéficas produtoras de ácidos orgânicos como lático, acético e butírico.

Como observado no presente estudo, a possível melhora na condição da microbiota intestinal pode traduzir-se em ganho no desempenho dos animais. Alguns estudos têm demonstrado benefícios sobre a performance de frangos de corte ao se utilizar prebiótico em suas dietas. Neste contexto, ROSTAGNO et al. (2003) ao avaliarem o efeito de MOS em rações com milhos de diferentes qualidades nutricionais, verificaram melhora no ganho de peso, na conversão alimentar e no fator de produção das aves.

Segundo FLEMMING e FREITAS (2005) a associação probiótico e mananoligossacarídeos promoveram melhor ganho de peso em relação à dieta controle, especificamente, na fase de crescimento. Em contrapartida, SILVA (2006) observou que na fase pré-inicial houve maior ganho de peso e melhor conversão alimentar em frangos de corte alimentados com prebiótico e criados sob alta temperatura.

Todavia, alguns estudos não reportaram resultados expressivos em decorrência da inclusão de MOS em dietas para frangos de corte. McCANN et al. (2006) não observaram diferenças significativas no desempenho de aves alimentadas com dieta contendo MOS em relação aquelas que consumiram dieta isenta de MOS e de antibiótico. No entanto, quando comparado o desempenho de aves arraçoadas com dieta contendo MOS e que consumiram alimento isento do produto, mas com antibiótico, observaram piores resultados para as primeiras. Os autores concluíram que a adição de MOS não foi eficiente em substituir o antibiótico em dietas para frangos de corte.

De forma similar, GODOI et al. (2008) não verificaram diferença na CA de frangos de corte quando adicionado MOS às suas dietas, porém, houve melhora no GP das aves. Já YANG et al. (2007) não observaram melhora significativa no desempenho de aves alimentadas com adição de MOS às suas dietas.

Observa-se que ainda existe grande contradição em relação aos potenciais benefícios advindos da utilização de MOS em dietas para frangos de corte. Porém, é importante salientar que as condições experimentais proporcionadas são muito importantes no comportamento dos dados e, portanto, na detecção de efeitos significativos. Assim, as respostas positivas observadas no presente estudo com a inclusão de MOS à dieta de frangos de corte podem ter sido evidentes em decorrência do desafio sanitário à que as aves foram submetidas. Além disso, parece haver resultados distintos em função do período de criação considerado e também da fonte de MOS utilizada.

Ao considerar o fator de produção, índice que resume os dados de produção de uma exploração avícola, este apresentou sensível melhora com a inclusão de MOS à dieta de frangos de corte quando considerada a fase final e o período total de criação, concordando com SANTOS et al. (2005), porém, não corrobora com os achados de ALBINO et al. (2006) e GODOI et al. (2008), que não encontraram diferença significativa ao utilizarem MOS em dietas para frangos de corte. No presente estudo não foi verificada diferença entre os tratamentos com relação à viabilidade criatória, assim como observado por CORRÊA et al. (2000) e por DIONÍZIO et al. (2002). SILVA et al. (2009), porém, encontraram melhorias nesse índice quando consideradas aves com 21 dias de idade.

De modo geral, foi possível constatar que a adição de mananoligossacarídeos à dieta de frangos de corte proporcionou benefícios sobre o desempenho das aves, sendo este similar ao apresentado pelas aves alimentas com antibiótico, sugerindo que o prebiótico foi eficiente em substituir o antibiótico nas condições de desafio sanitário a que as aves foram submetidas. Tal fato foi ratificado por PARKS et al. (2001) em estudo com perus e por ALBINO et al. (2006) ao avaliarem frangos de corte alimentados com prebióticos à base de mananoligossacarídeos.

### **3.2- Morfometria intestinal**

As características morfométricas do intestino das aves, aos 21 e 42 dias de idade, alimentadas com as dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Médias e valores de P associado ao teste F da análise de variância da profundidade de cripta (mm) e altura de vilos (mm) dos segmentos duodenal, jejunal e ileal do intestino de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	PC	AV	PC	AV	PC	AV
<b>21 dias de idade</b>						
Controle	0,259	1,199	0,217	0,898	0,188	0,663
Antibiótico	0,242	1,219	0,217	0,900	0,179	0,715
MOS 1	0,289	1,212	0,224	0,905	0,187	0,751
MOS 2	0,304	1,179	0,184	0,918	0,168	0,729
<b>Probabilidades</b>	0,101	0,959	0,138	0,992	0,073	0,113
<b>CV (%)</b>	18,26	12,08	15,98	14,42	8,65	9,33
<b>42 dias idade</b>						
Controle	0,304	1,413	0,176 b	0,853	0,171	0,797 b
Antibiótico	0,267	1,258	0,242 a	1,152	0,162	0,796 b
MOS 1	0,297	1,363	0,238 a	1,137	0,182	0,883 b
MOS 2	0,309	1,464	0,222 a	1,212	0,180	1,066 a
<b>Probabilidades</b>	0,593	0,183	0,005	0,091	0,719	0,007
<b>CV (%)</b>	16,58	9,47	11,01	18,62	17,55	12,30

<sup>a,b</sup>Médias com letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p>0,05$ ).

Aos 21 dias, houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) na relação cripta:vilo do segmento ileal, sendo que as aves alimentadas com a dieta contendo antibiótico apresentaram maiores valores em relação aos demais tratamentos. Porém, as aves com 42 dias de idade que consumiram dietas contendo MOS e o antibiótico apresentaram maior profundidade de cripta na porção jejunal em comparação com o controle. Verificou-se, também, maior altura de vilo no segmento ileal ( $p<0,05$ ) de frangos que receberam a dieta MOS 2 em relação aos demais tratamentos.

Sabe-se que as vilosidades desempenham importante papel no processo de absorção de nutrientes no intestino delgado, sendo que o aumento desta estrutura proporciona maior superfície de contato e, como consequência, pode haver aumento na absorção dos nutrientes no lúmen intestinal (GARTNER e HIATT, 2001). Assim, pequenos incrementos, como os verificados no presente estudo, são fundamentais para manutenção da integridade da mucosa intestinal.

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento tanto de altura como de densidade de vilos, mediante incremento do número de células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas) por meio de renovação celular. Tal renovação, segundo UNI et al. (1998), é resultante de divisões mitóticas das células totipotentes (*stem cells*) localizadas na cripta e ao longo dos vilos, além da perda de células ou extrusão, processo este que ocorre, em geral, no ápice dos vilos. Em resumo, as células da base das vilosidades proliferam-se e migram para seu ápice onde são descamadas (RANDALL et al., 2000). Esse equilíbrio de renovação e perda é chamado de turnover celular.

MACARI et al. (2002) relataram que o número de enterócitos, assim como a altura, o número de microvilos e a estrutura da membrana (transporte de enzimas digestivas), determinam a dimensão da superfície e, consequentemente, a capacidade digestiva e absortiva do intestino. MAIORKA (2002), de forma complementar, afirmou que quanto maior for a altura do vilo, maior será a capacidade de absorção de nutrientes e quanto menor for a contaminação por patógenos, maior será o crescimento de tais vilosidades.

As criptas contém várias células especializadas, tais como, células de absorção, caliciformes e regenerativas, que são responsáveis pela produção de muco e pelo turnover celular. Uma maior altura de cripta é oriunda do processo mitótico na tentativa de reparo da mucosa à medida que as vilosidades intestinais são destruídas (LUQUETI, 2005). Isto é indicativo de boa função proliferativa das células, o que garante adequada taxa de renovação epitelial em função da alta demanda por novo tecido (PLUSKE et al., 1997), fato explicado pelos dados de maior profundidade de cripta no jejuno aos 42 dias com adição dos prebióticos nas dietas.

A maior altura de vilos na porção ileal apresentada pelas aves com 42 dias de idade e que consumiram a dieta MOS 2, pode ser justificada pela ação da manose, que protege diretamente a mucosa intestinal, uma vez que substitui os sítios alternativos (ou convencionais), ao ligarem-se as bactérias patogênicas (MATEW et al., 1993), bloqueando, deste modo, a aderência de patógenos, evitando sua colonização (COLLET, 2000), o que promove melhora na saúde intestinal.

Os mananoligossacarídeos atuam como ligantes de alta afinidade, proporcionando um meio de aglutinação competitivo para determinados tipos de bactérias (UTIYAMA, 2004). Quando são adicionados às dietas, a especificidade de sua fermentação estimula o crescimento e a estabilidade das populações microbianas produtoras de ácidos orgânicos, em especial ácidos lático e acético (SANTOS, 2006), das quais reduzem o pH luminal e inibem a proliferação dos microrganismos nocivos que seriam prejudiciais para a integridade intestinal. Com adição às dietas segundo IJI e TIVEY, (1998), resulta em uma mucosa intestinal inteiramente apta à suas funções de secreção, digestão e absorção de nutrientes.

MACARI e MAIORKA (2000), SPRING et al. (2000) e SANTIN et al. (2001) encontraram maior altura de vilos no duodeno com a adição de prebiótico à ração de frangos de corte aos 7 dias de idade. Estes autores atribuíram o aumento na altura dos vilos ao efeito trófico do prebiótico sobre a mucosa intestinal. IJI et al. (2001) avaliaram diferentes níveis de inclusão de prebiótico na ração de frangos de corte, que proporcionaram maior altura de vilos no jejuno, mas não houve diferenças na profundidade de cripta aos 21 dias de idade.

GEYRA et al. (2001) relataram melhoria na profundidade de cripta em aves alimentadas com prebiótico, em função da rápida maturação das criptas ocorrerem nas primeiras semanas de vida; assim como SOLIS de LOS SANTOS et al. (2005) observaram aumento dos vilos no duodeno e na profundidade de cripta em aves alimentadas com prebiótico aos 3 e 7 dias, sendo notado a maior diferença aos 7 dias de idade. SANTOS (2006) observou maior altura de vilos no duodeno e jejuno, além da profundidade de cripta no jejuno em aves aos 42 dias de idades alimentadas com MOS adicionados nas dietas.

Entretanto YANG et al. (2007) não observaram diferenças significativas na altura de vilos e profundidade de criptas aos 14 e 35 dias no duodeno, jejunum e íleo nas aves alimentadas com adição MOS nas dietas. OLIVEIRA et al. (2008) observaram aumento da altura dos vilos ( $P<0,005$ ) e a profundidade de cripta ( $P<0,02$ ) no duodeno das aves alimentadas com MOS.

De acordo com MAIORKA, (2002), as substâncias que têm ação trófica sobre a mucosa intestinal, pode aumentar a capacidade funcional, além de melhorar o desempenho das aves pela maior capacidade de digerir e absorver os nutrientes da dieta.

No entanto, alguns trabalhos mostraram que a adição de MOS às dietas aumentou as espessuras da muscular longitudinal e da mucosa, o que refletiu em maior superfície de absorção no intestino delgado de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade (OLIVEIRA et al., 2008), com respostas positivas no desempenho das aves (OLIVEIRA e MORAIS, 2007). Já SILVA et al. (2008) também observaram que os mananoligossacarídeos fosforilados (MOS) podem substituir a adição dos antibióticos promotores de crescimento na criação de frangos de corte, mantendo o ganho de peso e a integridade da mucosa intestinal.

A melhora do desempenho das aves observados nas Tabelas 3 e 4 mediante a inclusão dos prebióticos às dietas pode ser atribuído a melhoria da qualidade intestinal, aumentando a superfície absorptiva e, consequentemente, melhor aproveitamento do alimento e o que deve ter proporcionado maior equilíbrio a microbiota intestinal das aves.

#### **4- CONCLUSÕES**

Conclui-se que os mananoligossacarídeos avaliados promoveram melhoria na qualidade intestinal e também no desempenho das aves, podendo serem utilizados como aditivo alternativo aos promotores de crescimento em dietas para frangos de corte.

## 5- REFERÊNCIAS

ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; et al. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, Viçosa, 2006.

BEHMER, A. O.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS-NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia e patológica**. São Paulo: EUSPE, 239p, 1976.

COLLET, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: RONDA LATINO-AMERICANA ALLTECH: O FUTURO DA ALIMENTAÇÃO, Campinas. **Anais...** Campinas: Alltech Biotechnology, v.10, p.20-30, 2000.

CORRÊA, G.S.S.; GOMES, A.V.C.; CORRÊA, A.B.; SALLES, A.S. Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes promotores de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ., CD- ROM

DIONIZIO, M. A; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K.; TEIXEIRA, A. S. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – Desempenho e rendimento de carcaça. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, n.3, p. 1580-1587. 2002.

FLEMMING, J.S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 111p. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2005.

FLEMMING, J.S.; FREITAS,R.J.S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

GARTNER, L. P., AND J. L. HIATT. **Color Textbook of Histology**. 2nd ed. W. B Saunders, Baltimore, MD. 2001.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D.. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v.80, p.776–782. 2001.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GODOI, M. J. S.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BARRETO, S. L. T.; VARGAS JUNIOR, J. G. Utilização de aditivos em rações formuladas com milho normal e de baixa qualidade para frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.37, n.6, p.1005-1011, 2008.

IJI, P.A., SAKI, A., TIVEY, D.R. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. **British Poultry Science**, v.42, p. 5005-5013, 2001.

IJI, P.A.; TIVEY, D.R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **Word's Poultry Science Journal**, Oxford, v. 54, p. 129-143, 1998.

ITO, N.M.K.; MIAJI, C.I.; LIMA, A E.; OKABAHASHI, S. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE, 2004, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA. 2004. p 206-260.

LUQUETTI, B.C. **Efeito da vacinação contra coccidiose aviária e da suplementação de glutamina ou prebiótico sobre a mucosa intestinal em frangos.** 2005. 106f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

MACARI, M.; FURLAN R.L.; GONZÁLES E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Capítulo: Estrutura Funcional do Trato Digestório**, p.75-95, Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Estudo sobre uso de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre desenvolvimento das vilosidades intestinais. **Anais da Conferência APINCO 2000 de Ciência e Tecnologia**, p.170, 2000

MAIORKA, A. **Efeito da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte.** 2002. 103 p. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MATHEW, A.G. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. **Journal Animal Science**, Savoy, v.71, n.6, p.1503-1509, 1993.

McCANN, M.E.E.; NEWELL, E.; PRESTON, C.; FORBES, K. The use of mannan-oligosaccharides and/or tannin in broiler diets. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.9, p.873-879, 2006.

OLIVEIRA, M.C.; MORAES, V.M.B. Mananoligosacarídeos e enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para aves. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.3, p.339-357, jul./set. 2007.

OLIVEIRA, M.C.; RODRIGUES, E.A.; MARQUES, R.H.; GRAVENA, R.A.; GUANDOLINI, G.C.; MORAES, V.M.B. Performance and morphology of intestinal mucosa of broilers fed mannan-oligosaccharides and enzymes. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.442-448, 2008.

PARKS, C. W.; GRIMES, J. L.; FERKET, P. R.; FAIRCHILD, A. S. The effect of mananoligosaccharides, bambermycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. **Poultry Science**, v.80, p.718–723, 2001.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. et al. Microscopia eletrônica de varredura da mucosa intestinal de frangos de 21 dias de idade produzidos com probióticos e prebióticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.7, p.63, 2005.

PLUSKE, J.R.; WILLIANS, I.H.; AHERE, F.X. Maintence of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, v. 62, p.131-144, 1997.

RANDALL, D.; BUGGEN W.; FRENCH, K. **Fisiologia Animal: Mecanismo de Adaptações**. Capítulo 15: Adquirindo energia: ingestão de alimentos, digestão e metabolismo, 582-18, Ed:Guanabara/Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 2000.

RASBAND, W.S. Image J. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 2004.

ROSTAGNO, et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005, 186p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; TOLEDO, R.S.; et al. Avaliação de prebióticos à base de mananoligossacarídeos em rações de frangos de corte contendo milhos de diferente qualidade nutricional. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 5, p.52, 2003.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, FUNEP, 2007, 283p.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; GRECCO, M.; SANCHEEZ, J.C.; OKADA, T. M.; MYASAKA, A.M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal Applied Poultry Research**, v. 10, p. 236–244, 2001.

SANTOS, E.C.; TEIXEIRA A.S.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; DIAS, E.S.; MURGAS, L.D.S. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 223-231, 2005.

SAS INSTITUTE, **SAS/STAT**: user's guide, version 8 ed, Cary, NC, 2001.

SILVA, C.J.; VARGAS JR., F.M.; SILVA, I.S.; ARIAS, E.R.A.; CARRIJO, A.F.; GARCIA, R.G.; GOMES, R.F. Uso de prebiótico (Bio-Mos) associado a diferentes níveis protéicos em rações de frango de corte. **Agrarian**, v.1, n.1, jul./set. 2008

SILVA, E.N. Probióticos e Prebióticos na Alimentação de Aves. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. p. 204-215.

SILVA, V. K. ; SILVA, J. D. T.; GRAVENA, R. A.; MARQUES, R. H.; HADA, F. H.; MORAES, V. M. B. Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade alimentados com rações contendo extrato de leveduras e prebiótico e criados em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, n.4, p.690-696, 2009.

SILVA, V.K. **Extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e prebiótico na dieta pré-inicial para frangos de corte criados em diferentes temperaturas.** 2006. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 151f, 2006.

SOLIS DE LOS SANTOS, F.; FARRELL, M. B.; TELLEZ, G.; BALOG, J. M.; ANTHONY, N. B.; TORRES-RODRIGUEZ, A.; HIGGINS, S.; HARGIS, B. M.; DONOGHUE, A. M.. Effect of prebiotic on gut development and ascites incidence of broilers reared in a hypoxic environment. 2005, **Poultry Science**, v.84, p.1092–1100.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, K. A.; NEWMAN, K. E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria

in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, p.205–211, 2000.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Post hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v.77, p.75-82, 1998.

UTIYAMA, C.E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores do crescimento em leitões recém-desmamados**. 110f. Tese de Doutorado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – Piracicaba, 2004.

YANG, Y.; IJI, P. A.; KOCHER, A.; MIKKELSEN, L. L.; CHOCT, M. Effects of mannanoligosaccharide on growth performance, the development of gut microflora, and gut function of broiler chickens raised on new litter. **J. Appl. Poult. Res.** v.16, p.280–288, 2007.

## CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DE PROBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

**RESUMO** - Objetivou - se avaliar o efeito de probióticos e óleos essenciais no desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho, farelo de soja e resíduos secos de destilaria mais solúveis. Para isso, foram conduzidos três ensaios experimentais com frangos de corte da linhagem Ross 708 em DIC com 7 tratamentos nos dois primeiros ensaios e 8 tratamentos no terceiro ensaio. No primeiro e segundo foram utilizados 1680 pintos de corte com 12 repetições de 20 aves. Os tratamentos foram: Antibiótico; Controle; 3 fontes de probióticos (BC30, B2B e Calsporin) e 2 fontes de óleos essenciais (CRINA 300ppm e CRINA 150/100ppm). No 3º ensaio, foram utilizados 384 pintos de corte machos, distribuídos em DIC com 4 repetições de 12 aves. Foram utilizados 7 dietas: sem adição de antibiótico e ionóforo; Antibiótico, Controle; 2 fontes de probióticos (BC30 e Calsporin) e 2 fontes de óleos essenciais (CRINA 300ppm e CRINA 100ppm). Até os 14 dias as aves foram criadas sob efeito de tratamentos avaliados, após esse período foram selecionadas 6 aves e deslocadas para outra unidade, das quais foram alojadas em baterias e inoculadas via oral com oocistos esporulados de *Eimeria spp*. Nessa fase, apenas um grupo de aves não medicadas não foram inoculadas, formando 8 tratamentos. Os parâmetros de desempenho foram mensurados aos 18, 35 e 43 dias no 1º; 14, 35 e 43 dias no 2º e aos 14 e 22 dias de idade no 3º ensaio. No 1º ensaio, as aves alimentadas com CPP300 apresentaram melhores resultados de CA e GP, já no 2º ensaio as aves alimentadas com BC-30 apresentaram menor CR. No 3º ensaio antes da inoculação, houve efeito somente no CR. Após inoculação, as aves não medicadas e não infectadas apresentaram melhor desempenho em relação às aves não medicadas e infectadas. A adição de probióticos e óleos essenciais apresentaram melhora no desempenho das aves.

**Palavras-chave:** aditivo, desafio, eubióticos, nutrição, promotor de crescimento, saúde intestinal

## EVALUATE THE EFFECTS OF PROBIOTICS AND ESSENTIAL OILS ON BROILER CHICKEN PERFORMANCE

**ABSTRACT** - Three experiments were conducted to evaluate the effects of eubiotics on broiler chicken performance. Ross 708 broilers were used in all experiments using a completely randomized design with seven treatments in experiments one and two, and eight treatments in the third experiment. In the first and second experiment, 1680 broilers chickens were used with 12 replicates of 20 birds each. The following treatments were analyzed: Antibiotic, Control; 3 probiotic sources (BC30, B2B e Calsporin) and 2 essential oil levels or sources (CRINA 300ppm e CRINA 150/100ppm). Broilers were raised in previously used litter. During the third experiment, 384 broiler chickens (males) were used with 4 replicates and 12 birds in each. Treatments were: Unmedicated – Uninfected (UU) control, Unmedicated – Infected (UI) control, Antibiotic, Control, 2 probiotic sources (BC30 e Calsporin) and 2 essential oil sources (CRINA 300ppm e CRINA 100ppm). After 14 days, 36 birds per treatment were selected to represent the body weight distribution of each treatment and randomized into six groups per treatment. These chickens were transported to another facility for a coccidia challenge study. Chickens were distributed according to treatments into groups of 6 broilers per cage. An inoculum of mixed *Eimeria* spp. was given to each bird by gavage. Live performance was evaluated at 18, 35 and 43 days in the first; 14, 35 and 43 days in the second experiments, and at 14 and 22 days in the third one. During the first experiment broilers fed CRINA 300ppm showed better BW and FCR. In the second experiment, the birds fed BC-30 diets showed lower feed intake. The third experiment after infection broilers from UU control showed the best live performance. Treatments supplemented with either probiotics or essential oils improved live performance.

**Keywords:** additives, coccidia infection, essential oils, intestinal health, growth promoter, probiotic.

## **1- INTRODUÇÃO**

O Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango, com vendas de 3,6 milhões de toneladas em 2008, com seu principal mercado no mundo é a União Européia, que no ano de 2008, os 27 países do bloco importaram 525 mil toneladas de frango (ABEF, 2009). Para manter a competitividade no mercado mundial, a avicultura brasileira cresce agregada a novas tecnologias (SARTORI et al., 2009), buscando reduzir custos e aumentar a produtividade (SARCINELLI et al., 2007).

A manutenção da saúde intestinal é fundamental na otimização da expressão genética das aves, permitindo adequada absorção de nutrientes pelo organismo, o que proporciona melhor desempenho (BARRETO, 2007). A adição de antibióticos promotores de crescimento em dietas avícolas permite a manutenção do equilíbrio da flora gastrointestinal normal, promovendo assim, a melhora no desempenho da ave (GONZALES, 2006).

No entanto, a utilização tem sido criticada pelo seu eventual papel na ocorrência de resistência bacteriana, o que compromete a saúde humana (PENZ Jr., 2003), através da ingestão de carnes e subprodutos contendo resíduos destes antibióticos. Visto a exigência da sociedade moderna com alimentos de qualidade e segurança, a partir de 2006, a União Européia proibiu qualquer tipo de antibiótico e quimioterápico como promotor de crescimento na produção animal (MISSOTTEN et al., 2007), o que repercute no mercado internacional com o comportamento do mercado europeu. As diretrizes e normas estão presentes, competindo ao Brasil o cumprimento das determinações para continuar fornecendo carne de frango para o mercado internacional.

Neste panorama, os produtores brasileiros já começaram a se reestruturar e evoluir no manejo alimentar de suas produções, buscando garantir a qualidade dos alimentos e a segurança da população. Diante disso, baseado em novos conceitos de segurança alimentar, alguns produtos alternativos aos antibióticos foram pesquisados e desenvolvidos, visando a substituição dessas fontes e permitir o máximo desempenho produtivo animal (MILTBURG, 2000), disponibilizando ao mercado consumidor um produto final saudável, com ausência de resíduos de drogas. Alguns desses atributos

relacionados à saúde e segurança dos alimentos aumentam a importância para conquistar a confiança do mercado europeu.

Nesta nova geração de produtos que atuam na microbiota intestinal encontram-se os óleos essenciais. A utilização de óleos essenciais preserva o equilíbrio no trato gastrointestinal, promovendo aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes (MELLOR, 2000), que desestabiliza a camada fosfolipídica da membrana celular e do material genético bacteriano (KIM et al., 1995). Essa ação gera um distúrbio na membrana citoplasmática e nos componentes celulares (BURT, 2004), o que confere aos óleos essenciais ampla gama de efeitos biológicos, como propriedades antioxidantes e antimicrobianas (BOTSOGLOU et al., 2002; LEE et al., 2004; ORAL et al., 2009) sobre bactérias gram positivas e gram negativas (HELANDER et al., 1998).

Alguns trabalhos reportam resultados promissores com a adição de óleos essenciais às dietas, promovendo redução na proliferação e colonização de *Clostridium perfringens* (MITSCH et al., 2004), controle de coccidiose (GIANNENAS et al., 2003, SAINI et al., 2003a; SILVA et al., 2009) e consequentemente podendo reduzir enterite necrótica (SAINI et al., 2003b).

Com mesmo objetivo, muitos trabalhos têm demonstrado a ação de probióticos no estabelecimento de uma microbiota desejada, melhorando o balanço microbiano intestinal que compete com bactérias deletérias no intestino (WILLIS e REID, 2008; WALTER et al., 2008), melhorando a saúde intestinal do animal (HIGGINS et al., 2008) e promovendo incremento no desempenho (KABIR et al., 2004; MOUNTZOURIS et al., 2007; SAMLI et al., 2007).

Os probióticos são microorganismos com alta afinidade de adesão a mucosa intestinal que auxiliam na modulação da resposta imunológica do animal (PATTERSON e BURKHOLDER, 2003 e PATURI et al., 2007), diminuindo o pH intestinal e inibem o crescimento de patógenos, favorecendo o desenvolvimento de microorganismos favoráveis ao organismo animal (BELLAVER, 2000 e SUN, 2005), além de competirem com patógenos por receptores celulares (ZÁRATE e NADER-MACIAS, 2006) e a indução da secreção de mucina (MACK et al., 2003). Pesquisas demonstram que a adição de probióticos em dietas de frangos de corte são eficiente contra *Salmonella*

(CORRIER et al., 1995; HIGGINS et al., 2008), *Clostridium perfringens* (LODDI et al., 2009) e coccidiose (DALLOUL et al., 2003a; DALLOUL et al., 2003b).

Diante do exposto, esta pesquisa teve por objetivos avaliar o efeito de probióticos e óleos essenciais no desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho, farelo de soja e resíduos secos de destilaria mais solúveis (DDGS).

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1- Local e duração

Os experimentos foram desenvolvidos na Fazenda experimental do Departamento de Avicultura na Universidade do Estado da Carolina do Norte em Raleigh, Estados Unidos da América.

### 2.2- Ensaios Experimentais

#### Primeiro e Segundo Ensaio

Foram conduzidos dois ensaios experimentais no piso com cama reutilizada com 1680 pintos de corte com um dia de idade da linhagem Ross 708 alojados em boxes com cama reutilizada, distribuídas num delineamento experimental inteiramente casualizado com 7 tratamentos e 12 repetições com 20 aves em cada unidade experimental, sendo 10 machos e 10 fêmeas. Os tratamentos foram:

- T1. ANT (BMD+COBAN) - Antibiótico (bacitracina 110 g/kg)
- T2. CONT (COBAN) - Controle (sem antibiótico)
- T3. BC30 - Probiótico BC30<sup>®</sup> (*Bacillus coagulans*) – 0,45kg/ton
- T4. B2B - Probiótico B2B<sup>®</sup> (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*) – 0,9 kg/ton
- T5. CALSP - Probiótico Calsporin<sup>®</sup> (*Bacillus subtilis* C-3102) - 0,45kg/ton
- T6. CPP300 - Crina Poultry Plus 300 ppm – 0,27kg/ton
- T7. CPP150 - Crina Poultry Plus\* 150 ppm (1º ensaio) – 0,13kg/ton
- e CPF100 - Crina Poultry AF\*\* 100 ppm (2º ensaio) – 0,09 kg/ton.

\* Crina Poultry Plus (Benzoic acid 70-90%, Thymol <2.5%, Eugenol 1-10%, Silicon dioxide 1-10%, Piperine <2.5%, Isopentyl salicylate <1%)

\*\* Crina Poultry AF (Thymol 1-10%, m-cresol 1-5%, Eugenol 1-10%, Piperine <3%, Isopentyl salicylate <3%, BHT ~1%)

Cuidado especial foi tomado para evitar contaminação cruzada dos microorganismos probióticos.

Ambos os ensaios foram conduzidos no mesmo galpão com intervalo de vazio sanitário de 21 dias. No primeiro ensaio, as aves foram alojadas sob cama reutilizada por todo o período experimental. Após o término, equipamentos e identificações permaneceram em cada box experimental para condução do segundo ensaio, repetindo o experimento anterior com apenas a mudança de CPP150 para CPF100.

Diariamente, as temperaturas e umidades relativas máximas e mínimas foram registradas, utilizando-se termohigrômetros digitais distribuídos em quatro pontos do galpão. As aves mortas foram retiradas e registradas para a correção do consumo de cada parcela experimental.

**Tabela 1.** Médias semanais da temperatura máxima e mínima durante o primeiro e segundo ensaio experimental.

Semanas	1º ensaio		2º ensaio	
	T°C máx	T°C min	T°C máx	T°C min
1º	34,36	31,86	34,14	30,12
2º	30,20	27,44	28,85	26,49
3º	28,12	24,07	27,01	25,32
4º	26,64	22,91	26,79	23,18
5º	26,06	22,87	23,61	20,21
6º	25,30	19,94	24,06	20,82

Aos 18/14, 35 e 43 dias de idade, as aves e as sobras das rações foram pesadas para mensuração dos parâmetros de desempenho: peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA).

### Terceiro Experimento

Inicialmente foram utilizados 336 pintos de corte machos com um dia de idade da linhagem Ross-708 alojados em cama reutilizada dos mesmos tratamentos dos dois experimentos anteriores das aves, utilizando um DIC casualizado com 7 grupos (descritos por letras) e 4 repetições com 12 aves em cada unidade, que foram deslocados para outra unidade aos 14 dias de idade. Os sete grupos foram: A - sem ionóforo e sem antibiótico (que deram origem ao T1 e T2 aos 14 dias); B-Antibiótico (T3); C-Controle (T4); D-BC30 (T5); E-Calsporin (T6); F-Crina Poultry Plus® 300 ppm (T7) e G- Crina Poultry AF® 100 ppm (T8).

Aos 14 dias, um grupo de cada tratamento foram transferidas para uma unidade com isolamento contra patógenos para avaliar o desempenho das aves desafiadas com coccidiose. Com isso, todas as aves foram pesadas individualmente para obter a distribuição de pesos da população, selecionando-se 36 aves de cada tratamento. Foram avaliados 8 tratamentos em DIC com 4 repetições e 6 aves em cada unidade. Para formação dos tratamentos 1 e 2, foram utilizadas aves do grupo A (criadas até os 14 dias). Todas as aves, exceto o grupo A receberam dietas com ionóforo.

Os novos grupos foram:

- T1. NMNI - não medicado (sem adição de ionóforo/antibiótico) e não infectado;
- T2. NMI - não medicado (sem adição de ionóforo/antibiótico) e infectado;
- T3. ANT – Antibiótico;
- T4. CONT – Controle;
- T5. BC30 – Probiótico BC-30®;
- T6. CALSP – Probiótico Calsporin®;
- T7. CPP300 - Crina Poultry Plus® 300 ppm;
- T8. CPF100 - Crina Poultry AF® 100 ppm.

Todas as aves selecionadas foram transportadas para a unidade Dearstyne Avian Health Center, alojadas em baterias para inoculações das aves. As aves, exceto

o grupo A, foram inoculadas via oral por oocistos esporulados de *Eimeria acervulina*, *E. Maxima* e *E. tenella* com 200, 100 e  $50 \times 10^3$  oocistos viáveis/mL, respectivamente.

Aos 14 e 22 dias de idade, as aves e as sobras de rações foram pesadas para mensuração dos parâmetros de desempenho: peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA).

### **2.3- Dietas experimentais**

Em todos ensaios experimentais, foram fornecidas ração triturada até os 7 dias, logo após ração peletizada até o fim da fase experimental. A inclusão do probiótico e óleo essencial foram de acordo com as recomendações do fabricante.

As dietas basais e as exigências nutricionais para cada fase de criação estão dispostas na Tabela 3. O ionóforo Coban® 60 (monensina) a 132 g/kg foi retirado das dietas aos 35 dias de idade. Em todas as dietas foram acrescentados fitase com inclusão de 0,167 kg/ton.

**Tabela 2.** Dietas basais e exigências nutricionais nas fases inicial (1 a 14/18 dias), crescimento (19 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

Ingrediente (%)	Inicial	Crescimento	Final
Milho	56,76	60,61	62,14
Farelo de Soja 48%	27,67	24,51	22,89
DDGS	5,00	5,00	5,00
Farinha de vísceras de aves	3,25	2,50	1,50
Gordura de frango	2,43	2,98	3,83
Fosfato bicálcico	1,61	1,33	1,16
Calcáreo	1,15	1,13	1,16
Sal comum (NaCl)	0,38	0,38	0,43
Bicarbonato de sódio	0,22	0,17	0,10
Vermiculita (Inerte)	0,40	0,40	1,00
Cloridato de Colina 60%	0,20	0,20	0,20
NCSU Premix mineral <sup>1</sup>	0,20	0,20	0,20
DSM Tyson Vitamina premix <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10
DL-Metionina 99%	0,28	0,21	0,14
L-Lisina 78%	0,24	0,20	0,11
L-Treonina	0,11	0,09	0,04
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição Nutricional</b>			
EM kcal/kg	3075	3150	3200
Proteína Bruta	22,80	21,00	19,50
Lisina Digestível	1,20	1,07	0,93
Metionina Digestível	0,61	0,52	0,44
Met + Cist Digestível	0,93	0,82	0,73
Treonina Digestível	0,81	0,73	0,64
Cálcio	0,96	0,86	0,80
Fósforo disponível	0,38	0,33	0,30

<sup>1,2</sup> vitamina A 15873016 IU; vitamina D3 11023000 IU; vitamina E 34171 IU; vitamina B12 26,5 mg; riboflavina 13228 mg; niacina 77161 mg; α-ácido pantotênico 19841 mg; menadione 3003 mg; α-ácido fólico 1764 mg; vitamina B6 5512 mg; tiamina 3086 mg; biotina 132 mg; selênio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) 0,30 mg; manganês 120 mg; zinco 120 mg; ferro 80 mg; cobre 10 mg; iodo 2,5 mg; cobalto 1,0 mg; clorato de colina 1,200 mg.

## **2.4. Analises estatísticas dos dados**

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do SAS (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%. O método de contrastes ortogonais foi utilizado para comparar entre grupo de aditivos, antibiótico e controle.

## **3 - RESULTADOS**

### **3.1- Ensaio de desempenho Exp 1 e 2**

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, Experimento 1, houve efeito ( $p<0,05$ ) na conversão alimentar (CA) na fase de crescimento, final e período total, e para o ganho de peso (GP) ( $P=0,049$ ) apenas no período de 36 a 43 dias de idade. A melhor CA na fase de crescimento foi apresentada entre os tratamentos com antibiótico e CPP300, entretanto as aves alimentadas com CPP150 apresentaram a pior CA. No período final, as aves alimentadas com CPP300 também apresentaram melhor CA e GP diferindo das aves CALSP. Os demais tratamentos não diferem entre eles. No período total da criação, a melhor CA foi observada pelas aves do CPP300 e a pior para CPP150, com os demais tratamentos não diferindo também entre eles.

Na analise de contrastes do primeiro ensaio (Tabela 5), foi observado efeito ( $P<0,05$ ) apenas na avaliação de Antibiótico vs Óleo Essencial na CA (1,643 vs 1,669) aos 35 dias, e aos 42 dias de idade no GP (0,689 vs 0,716) e CA (1,995 vs 1,935). Tais analises estatísticas, leva a discorrer que os tratamentos com adição de óleos essenciais foram melhores que o tratamento com antibiótico ao analisar o GP aos 42 dias e a CA no período total. No entanto, os dados não mostram indicativo de melhoria quando compara-se os probióticos com as aves alimentadas com as dietas controle e antibiótico.

**Tabela 3.** Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao primeiro ensaio experimental.

Variáveis	ANT	CONT	BC30	B2B	CALSP	Tratamentos		Prob	CV (%)	
						Fase Inicial (1 a 18 dias)				
<b>Fase de Crescimento (19 a 35 dias)</b>										
<b>PM (g)</b>	1,975	1,986	1,955	1,960	1,970	1,971	1,940	0,214	2,22	
<b>GP (g)</b>	1,384	1,402	1,381	1,375	1,385	1,382	1,358	0,112	2,52	
<b>CR (g)</b>	2,274	2,325	2,282	2,296	2,301	2,284	2,305	0,399	2,54	
<b>CA (g/g)</b>	1,643	1,658	1,664	1,664	1,662	1,652	1,687	0,050	1,85	
<b>Fase Final (36 a 43 dias)</b>										
<b>PM (kg)</b>	2,664	2,671	2,665	2,675	2,648	2,694	2,650	0,382	2,26	
<b>GP (kg)</b>	0,689 ab	0,697 ab	0,697 ab	0,715 ab	0,678 b	0,723 a	0,710 ab	0,049	5,15	
<b>CR (kg)</b>	1,359	1,367	1,349	1,376	1,365	1,378	1,392	0,701	4,35	
<b>CA (kg/kg)</b>	1,995ab	1,960 ab	1,957 ab	1,958 ab	2,021 <sup>a</sup>	1,908 b	1,962 ab	0,023	2,72	
<b>Período Total da Criação (1 a 43 dias)</b>										
<b>GP (kg)</b>	2,621	2,639	2,621	2,631	2,604	2,650	2,606	0,379	2,28	
<b>CR (kg)</b>	4,440	4,506	4,432	4,461	4,460	4,459	4,494	0,601	2,37	
<b>CA (kg/kg)</b>	1,695 bc	1,707 abc	1,695 bc	1,696 bc	1,713 ab	1,682 c	1,724 a	0,002	1,44	

Médias seguidas de letras desiguais diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Prob: probabilidade. CV: coeficiente de variação

**Tabela 4.** Probabilidades dos contrastes ortogonais dos parâmetros ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao primeiro ensaio experimental.

Contrastes	CA 35d	GP 43d	CA 43d	CA 1 a 43d
<b>Antibiótico</b>				
<b>Ant vs Probiótico</b>	ns	ns	ns	ns
<b>Ant vs Óleo essencial</b>	0,024	0,037	0,031	ns
<b>Controle</b>				
<b>Contr vs Probiótico</b>	ns	ns	ns	ns
<b>Contr vs Óleo Essencial</b>	ns	ns	ns	ns

No ensaio 2 (Tabela 6) os dados reportam diferenças para o CR ( $P=0,017$ ) e CA ( $P=0,032$ ) na fase inicial, e GP ( $P=0,047$ ) e CA ( $P=0,045$ ) na fase de crescimento. Na fase inicial, as aves do BC30 e B2B apresentaram o menor consumo diferindo das aves do CONT e CALSP. Foi observada melhor CA para as aves do CPF100 e pior para CALSP nessa fase mencionada. Os demais tratamentos não diferem entre eles. Já na fase de crescimento, a melhor CA foram das aves do B2B e CALSP, e a pior CA e GP para CPF100. Todavia, CALSP apresentou também o maior GP.

Ao analisar os dados de PM e GP das aves aos 14 dias no segundo ensaio, pode-se observar tendência à significância, que segundo VOLPATO (2004) isso pode ser devido uma imprecisão técnica na quantificação das variáveis, de forma que a variabilidade pode ter camouflado possíveis diferenças.

Com os dados apresentados de PM ( $P=0,051$ ) e GP ( $P=0,059$ ) a linha de tendência mostrou resultados estatísticos semelhantes para os dois parâmetros, com melhor PM e GP para as aves ANT e CONT e menor para as aves B2B. No entanto, as aves CALSP, CPP300 e CPF100 não diferem entre todos os tratamentos avaliados.

**Tabela 5.** Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao segundo ensaio experimental.

Variáveis	ANT	CONT	BC30	Tratamentos				Prob	CV (%)
				B2B	CALSP	CPP300	CPF100		
<b>Fase Inicial (1 a 14 dias)</b>									
<b>PM (g)</b>	427 a	429 a	415 bc	414 c	421 abc	420 abc	423 abc	0,051	3,09
<b>GP (g)</b>	382 a	384 a	371 bc	369 c	377 abc	376 abc	379 abc	0,059	3,45
<b>CR (g)</b>	542 ab	547 a	528 b	528 b	547 a	544 a	537 ab	0,017	3,15
<b>CA (g/g)</b>	1,420ab	1,438ab	1,434ab	1,440ab	1,458a	1,455ab	1,418b	0,032	2,86
<b>Fase de Crescimento (15 a 35 dias)</b>									
<b>PM (kg)</b>	2,025	2,044	2,019	2,032	2,043	2,028	2,012	0,552	2,22
<b>GP (kg)</b>	1,598ab	1,615ab	1,604ab	1,618ab	1,621a	1,607ab	1,588b	0,047	2,50
<b>CR (kg)</b>	2,692	2,719	2,695	2,682	2,682	2,672	2,665	0,545	2,47
<b>CA (kg/kg)</b>	1,679ab	1,692ab	1,686ab	1,654b	1,653b	1,676ab	1,701a	0,045	2,39
<b>Fase Final (36 a 43 dias)</b>									
<b>PM (kg)</b>	2,787	2,801	2,783	2,778	2,805	2,787	2,772	0,799	2,04
<b>GP (kg)</b>	0,762	0,757	0,764	0,746	0,762	0,759	0,761	0,949	5,32
<b>CR (kg)</b>	1,592	1,617	1,602	1,584	1,587	1,603	1,621	0,799	4,34
<b>CA (kg/kg)</b>	2,126	2,137	2,099	2,162	2,110	2,112	2,135	0,423	3,38
<b>Período Total da Criação (1 a 43 dias)</b>									
<b>GP (kg)</b>	2,742	2,756	2,738	2,733	2,760	2,742	2,728	0,799	2,07
<b>CR (kg)</b>	4,826	4,883	4,825	4,794	4,816	4,819	4,823	0,743	2,54
<b>CA (kg/kg)</b>	1,760	1,772	1,762	1,754	1,745	1,757	1,768	0,490	1,82

Médias seguidas de letras desiguais diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Prob: probabilidade. CV: coeficiente de variação

Na analise de contrastes do segundo ensaio (Tabela 7), foi observado apenas efeito ( $P<0,05$ ) comparação de Controle vs Óleo Essencial aos 14 dias no CR (0,542 vs 0,534), com menor consumo para aves alimentadas com óleos essenciais. Não houve efeito correlacionado aos probióticos e ao grupo controle. Contudo as adições de óleo essencial e probiótico não promoveram efeito ao comparar com as aves alimentadas com as dietas contendo antibiótico.

**Tabela 6.** Probabilidades de contrastes ortogonais dos parâmetros consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte Ross 708 alimentados com eubióticos (probióticos e óleos essenciais) nas fases estudadas referentes ao segundo ensaio experimental.

Contrastes	CR 14d	CA 14d	GP 35d	CA 35d
<b>Antibiótico</b>				
<b>Ant vs Probiótico</b>	ns	ns	ns	ns
<b>Ant vs Óleo essencial</b>	ns	ns	ns	ns
<b>Controle</b>				
<b>Contr vs Probiótico</b>	0,033	ns	ns	ns
<b>Contr vs Óleo Essencial</b>	ns	ns	ns	ns

### 3.2- Terceiro ensaio: Desafio com coccidia

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, na fase de 1 a 14 dias houve efeito ( $P=0,047$ ) apenas para o consumo de ração, no entanto período de 15 a 22 dias de idade, houve diferenças ( $P<0,0001$ ) em todos parâmetros de desempenho avaliados. O consumo na primeira fase, as aves alimentadas com as dietas sem adição de antibiótico/ionóforo e do grupo controle (sem antibiótico e com ionóforo) foram maiores em relação às aves alimentadas com CALSP e CPP300. Os demais tratamentos não diferem entre eles.

**Tabela 7.** Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte machos Ross 708 aos 14 dias e infectados aos 16 dias com um inoculo de *Eimeria spp.*, alimentados com diferentes eubióticos no período de 15 a 22 dias de idade.

Variáveis	Tratamentos						CV (%)	
	NMNI	NMI	ANT	CONT	BC30	CALSP	CPP300	CPF100
<b>1 a 14 dias de idade</b>								
<b>15 a 22 dias de idade</b>								
<b>PM (g)</b>	441	434	441	441	426	447	426	0,489
<b>GP (g)</b>	389	394	396	396	381	402	381	0,493
<b>CR (g)</b>	599 a	601 ab	598 ab	591 ab	558 b	554 b	564 b	0,047
<b>CA (g/g)</b>	1,541 a	1,475 ab	1,512 ab	1,498 ab	1,466 ab	1,381 b	1,485 ab	0,051
<b>Médias seguidas de letras desiguais diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Prob: probabilidade.</b>								
<b>PM (g)</b>	985 a	689 c	814 b	807 b	823 b	740 b	768 b	802 b
<b>GP (g)</b>	556 a	251 c	372 b	367 b	387 b	315 bc	318 b	369 b
<b>CR (g)</b>	632 a	405 d	463 bcd	479 bcd	516 b	397 bcd	427 cd	486 bc
<b>CA (g/g)</b>	1,136 c	1,638 a	1,245 bc	1,368 b	1,334 bc	1,246 bc	1,348 b	1,325 bc
<b>CV: coeficiente de variação.</b>								

Considerando a linha de tendência nessa fase, a CA ( $P=0,051$ ) das aves alimentadas sem adição de antibiótico e ionóforo apresentaram a pior CA diferindo das aves CPP300, entretanto aos demais tratamentos não diferem entre todos avaliados.

No período de 15 a 22 dias de idade, houve diferenças significativas em todas as variáveis de desempenho avaliadas. As aves NMNI apresentaram melhor desempenho (PM, GP, CR e CA) que as aves NMI, como já era esperado, as aves deste último tratamento mostraram queda no desempenho. Os demais tratamentos apresentaram uma melhora ( $p<0,05$ ) no desempenho comparado com as aves NMI, embora alguns tratamentos não diferem estatisticamente do NMNI. Na CA dos tratamentos ANT, BC30, CALSP e CPF100 são estatisticamente similares as aves NMNI.

#### **4 - DISCUSSÕES**

Nos ensaios onde as aves não foram submetidas à inoculação de oocistos, os dados apresentados indicaram melhoria com a inclusão de eubióticos, no entanto, as aves alimentadas com CPP300 no primeiro, e B2B e CALSP no segundo experimento apresentaram melhores índices de desempenho zootécnico.

Um detalhe a ser argumentado, foi a sequência de ensaios realizados, ambos com a utilização de cama reutilizada, sendo que o esperado a princípio era promover um desafio as aves instaladas. Sabe-se que o manejo de cama reutilizada é uma prática importante no intervalo de lotes, como o processo fermentativo para promover o equilíbrio da população microbiana, culminando na redução de algumas espécies de bactérias, vírus e principalmente fungos (ANDRADE, 2005).

No entanto, têm sido relatados que aditivos como probióticos e óleos essenciais proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento da microbiota benéfica, resultando em melhor digestão e absorção de nutrientes (SANTOS et al., 2002), o que promove a melhoria na qualidade intestinal e resultam na redução da carga de microorganismos indesejáveis na cama do aviário. De acordo com FIORENTIN (2006), a adição desses aditivos exerce um papel importante ao gerar uma fonte de bactérias benéficas para a cama também, além da sua ação no trato digestivo. O mesmo autor ressalta ainda que não se deve reutilizar a cama sem a adoção de pelo menos um

método de redução da carga bacteriana. Com isso, a cama reutilizada pode ter um incremento significativo em nutrientes (COUFAL et al., 2002), desde que não tenham ocorridos problemas sanitários nos lotes anteriores (TRALDI et al., 2009).

Diante disso, a instalação do primeiro ensaio pode ter proporcionado uma melhora na microbiota presente para o ensaio posterior, principalmente pela ação dos probióticos e óleos essenciais, o que levanta a hipótese que a cama reutilizada pode não ter atuado como um fator de desafio as aves no segundo ensaio, e sim como um fator benéfico às aves instaladas.

Resultados positivos têm sido reportados com a inclusão de óleos essenciais em dietas de frangos de corte (FRANCESCH et al., 1999; LEE et al., 2003; BUCHANAM et al., 2008; CYPRIANO et al., 2009; PHANDANOUVONG et al., 2009). Por outro lado, alguns relatos não estão condizentes com os dados apresentados. TOLEDO et al. (2007) não encontraram diferenças na CA e CR adicionando óleos essenciais associados ou não à antibiótico quando comparados ao tratamento testemunha. BARRETO et al. (2008) também não observaram diferenças significativas com óleos essenciais sobre o desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Os mecanismos das quais os óleos essenciais melhoram o desempenho dos animais ainda não estão muito claros, no entanto, as hipóteses mais aceitas são de que aumentam a palatabilidade da dieta, estimulam a secreção de enzimas endógenas, facilitam a digestão, alteram a microbiota intestinal e ajudam na redução de infecções sub-clínicas (BONATO et al., 2008).

O principal mecanismo de ação desse aditivo está diante da capacidade de aumentar a permeabilidade da parede celular do micrório (SIKKEMA et al., 1995), possuindo um potencial antimicrobiano significativo (COSTA et al., 2007; SANTURIO et al., 2007), além de outras propriedades, como de estimular as enzimas digestivas e pancreáticas (JANG et al., 2007), melhora a resposta imune do animal (MELLOR, 2000) e de modificações morfohistológicas do trato gastrointestinal (BRUGALLI, 2003). Esses mecanismos de ações discorridos corroboram com a melhoria do desempenho das aves quando foram alimentadas com CRINA, principalmente no primeiro ensaio, quando foi adicionado na maior concentração do produto.

Outro produto investigado que promoveu melhoria no desempenho juntamente com os óleos essenciais nos experimentos estudados, foram probióticos comerciais a base de *Bacillus spp.* às dietas, da qual têm sido muito relatado em artigos científicos que esses aditivos protegem a mucosa intestinal contra patógenos, resultando no melhor desempenho das aves (CAVAZZONI et al., 1998; LA et al., 2001; BARROS, 2007).

Essa teoria é baseada em alguns relatos científicos. GUILLOT, (2000) reporta que a prevalência dos microrganismos probióticos no intestino dificulta a fixação dos patógenos, por exclusão competitiva e/ou antagonismo direto, havendo menor produção de amônia, toxinas e aminas pelos patógenos, contribuindo para a integridade do epitélio intestinal. Sugere-se, então (ROTH, 2000), que os probióticos afetam a permeabilidade do epitélio intestinal, proporcionando maior eficiência na digestão (secreção de enzimas) e absorção de nutrientes (enterócitos íntegros). Além de proteger o epitélio intestinal, os probióticos evitam que os patógenos utilizem aminoácidos, minerais e carboidratos para fermentação e produção de toxinas (GUILLOT, 2000).

Assim, o *Bacillus subtilis*, utilizado como probiótico nas dietas, é um agente de exclusão competitiva com capacidade de prevenir a colonização intestinal por *E. coli* em frangos de corte (LA et al., 2001), promovendo a ocupação em sítios de ligação na mucosa intestinal, na qual forma uma barreira física às bactérias patogênicas (LA e WOODWARD, 2003), o que reduz a área de interação nos cecos por estas bactérias (LA et al., 2001), segmento de maior colonização de microorganismos, com grande número de bactérias gram positivas e negativas (MENTEN e PEDROSO, 2005).

A inclusão dos probióticos B2B (*B. licheniformis* e *B. subtilis*) e Calsporin (*B. subtilis*) apresentaram melhoria na CA e GP do segundo ensaio, entretanto não expressivamente no primeiro experimento. Tais mecanismos de ações mencionados na melhoria da saúde intestinal poderiam em hipótese justificar a melhoria no desempenho das aves.

No ensaio onde as aves foram desafiadas, a inclusão dos aditivos apresentaram respostas positivas no desempenho das aves. A queda de desempenho das aves

inoculadas e sem adição de medicamentos ou eubióticos mostraram uma redução no GP e CR de 55% e 36%, respectivamente, e aumento de 31% na CA em aves infectadas com o inoculo mixto de *Eimeria spp.* comparados com o grupo de aves não medicadas e não infectadas. A presença de uma flora indesejável ocasiona um desequilíbrio da microbiota intestinal com alteração na população de microorganismos, chamado de disbacteriose, que resulta na diminuição da absorção de nutrientes, aumento da espessura da mucosa e velocidade de passagem da digesta (FLEMMING, 2005), produção de enterotoxinas (MACARI e MAIORKA, 2000) que são altamente prejudiciais à integridade da mucosa e à saúde intestinal (GARLICH, 1999) e consequentemente, queda de desempenho conforme observado com as aves não medicadas porém infectadas do 3º ensaio experimental.

A adição de óleos essenciais em dietas de frangos de corte atua no controle de coccidiose (SAINI et al., 2003 e HERMADEZ et al., 2004), redução de *Clostridium perfringens* no jejuno, ceco, na cloaca e excretas (MISTCH et al. 2004), e redução na proliferação *Salmonella enteritidis* (HIGGINS et al. 2008). Nas condições das quais as aves foram inoculadas, a adição de CPP300 e CPF100 promoveram respectivamente, melhoria de 21,06 e 47,01% no GP e de 17,59 e 19% na CA das aves.

GIANNENAS et al. (2003) ao avaliarem frangos de corte infectados por *Eimeria tenella* aos 14 dias de idade, observaram semelhança no GP e CA das aves alimentadas com adição de óleo essencial e aves não infectadas e sem suplementação, porém com desempenho inferior as aves infectadas e suplementadas com anticoccidiano. GREATHEAD e KAMEL (2006) avaliaram a adição de óleos essenciais (timol e carvacrol) nas dietas de aves infectadas com *E. acervulina* e resultaram no aumento da integridade intestinal e redução do impacto por coccidiose.

Já GUO et al. (2004) encontraram aumento das respostas imune celular e humoral durante a infecção com *Eimeria tenella* em aves alimentadas com extratos herbais. As informações de melhora na resposta imune são muito reportadas na literatura. No entanto, OVIEDO-RONDON et al. (2005) avaliaram o efeito de duas misturas de óleos essenciais (CRINA POULTRY e CRINA ALTERNATE) em aves

vacinadas ou não contra coccidiose e não observaram resposta benéfica ou deletéria para o desempenho das aves.

Ao avaliarem o efeito da infecção da coccidiose sobre a microbiota intestinal de frangos de corte, OVIEDO-RONDON et al. (2006a) observaram que após a vacinação existe mudanças drásticas na microbiota quando as aves foram inoculadas. A suplementação de CRINA POULTRY e CRINA ALTERNATE em dietas de aves vacinadas proporcionaram melhora na comunidade intestinal evitando grandes mudanças da microbiota após a infecção. Para OVIEDO-RONDON et al. (2006b), a inclusão de CRINA ALTERNATIVE manteve o GP e CA similares às aves não medicadas e não infectadas, porém a adição de CRINA POULTRY promoveu aumento na CA das aves, e a inclusão das misturas de óleos essenciais proporcionaram reduções das lesões no intestino.

Com os resultados de desempenho alcançado com CPP300 sem desafio e a inclusão de CRINA em aves desafiadas, corroboram com os resultados positivos já mencionados encontrados na literatura, que provavelmente promoveu a melhoria da saúde intestinal e refletindo no desempenho das aves.

Já os microrganismos probióticos competem com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente (CROSS, 2002), o que promove a melhora no ambiente intestinal incrementando a absorção de nutrientes (PELICANO et al., 2004), sendo evidente com os dados apresentados das aves alimentadas com a adição dos probióticos no terceiro ensaio experimental quando as aves foram inoculadas com *Eimeria spp*. LEE et al. (2007), LEE et al. (2008) e LEE et al. (2009) ressaltam que os probióticos auxiliam na imunidade intestinal e aumentam a resistência das aves contra coccidiose. No entanto, GARCIA (2008) relata que algumas espécies de *Bacillus* são produtoras de substâncias estruturalmente semelhantes aos antibióticos, conhecidas como bacteriocinas (peptídeos antimicrobianos), capazes de inibir ou eliminar uma grande variedade de patógenos.

Algumas pesquisas apresentam resultados positivos na inclusão de probióticos nas dietas. CAVAZZONI et al., (1998) observaram resultados de desempenho semelhantes com inclusão de outra cultura específica de *B. coagulans* e de

virginamicina em dietas de frangos de corte. SILVA et al. (2000) observaram menor consumo de ração das aves alimentadas com probióticos em relação às aves com antibióticos, podendo esses resultados estarem associados com uma palatabilidade da ração suplementada com probiótico, podendo ser interferida pelo tipo de bactérias probióticas utilizadas, além de outras variáveis ambientais

A inclusão de B2B (*Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*) e Calsporin (*Bacillus subtilis*) melhorou CA e GP aos 35 dias de idade no segundo ensaio. FRITTS et al. (2000) também observaram que a administração de *Bacillus subtilis* nas dietas aumentou o GP e melhorou a CA de frangos de corte. CORREA et al. (2003) reportaram menor CR e CA com aves alimentadas com uma cultura específica de *Bacillus subtilis* em comparação ao antibiótico bacitracina de zinco na fase inicial e PELICANO et al. (2004) observaram uma melhora na CA no período de 22 a 35 dias com inclusão de *Bacillus subtilis* em dietas de frangos de corte. No entanto, CARAMORI Jr et al. (2008) ao adicionarem mistura de probiótico e simbiótico nas dietas, observaram melhora na CA e aumento no CR, mas diferenças no GP das aves e AWAD et al (2009) encontraram melhores índices de GP e CA em relação ao grupo controle quando adicionaram probióticos às dietas de frangos de corte.

MEDEIROS et al. (2009), concluíram ser possível a substituição aos antimicrobianos sem prejuízos no desempenho e no custo de produção. Já EDENS (2003) não observou incremento no GP com adição de *Bacillus subtilis* aos 42 dias de idade, porém promoveu melhor conversão alimentar. TRALDI et al. (2009) também não observaram efeito no desempenho de frangos de corte com a inclusão de *Bacillus subtilis* e *B. coagulans* em dietas de frangos de corte. Os mesmos autores justificam um provável desequilíbrio na microbiota intestinal, em virtude da suplementação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus coagulans*, conhecida como eubacteriose. Esses relatos de TRALDI et al. (2009) não estão condizentes com os achados de melhoria na CA aos 35 dias no segundo ensaio com as aves alimentadas com B2B (*Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*).

Alguns relatos científicos apresentam resultados contraditórios e inconclusivos no uso de probióticos em dietas de frangos de corte (TRALDI et al., 2009), e atribuem à

falta de desafio nas instalações (LODDI et al., 2000) ou às diferenças nas condições experimentais (LAURENTIZ, 2000).

Diante desse exposto, a falta de desafios semelhantes à realidade de campo (alta densidade, alojamento de diferentes idades, manejo, qualidade de água fornecida, entre outros) que comprometeriam a saúde intestinal das aves, pode-se então corroborar com os dados pouco elucidado positivamente do primeiro e segundo ensaio, principalmente ao observar que as aves do controle (sem adição de antibiótico) foi estatisticamente similar ou até superior aos probióticos.

FURLAN et al. (2004) citaram que nem sempre são observados resultados benéficos com o uso de probióticos, pois para tanto depende de fatores como a idade do animal, tipo de bactérias a ser utilizada, viabilidade dos microorganismos no momento de serem agregados às rações, condições de armazenamento, qualidade dos microorganismos, condições de manejo e sanidade.

Quando as aves foram inoculadas, desafiadas no terceiro ensaio experimental, os probiótico apresentam uma melhoria de 31,60 e 20,32% para o GP e de 18,55 e 23,93% para CA nos tratamentos BC30 e CALSP comparados as aves do grupo NMI. Esse efeito reforça a teoria de ação dos probióticos em situações de desafios. KNAP et al., (2009) também observaram melhora no desempenho de frangos de corte desafiados com a inclusão de *Bacillus licheniformis* nas dietas, embora que ROSSI et al. (2007) não observaram eficiência em frangos de corte alimentados com probiótico e inoculados com salmonelas patogênicas, que proporcionou um desafio as aves.

Em vista dos melhores resultados com adição de óleos essenciais e ou probióticos adicionados às dietas, mais evidentes no terceiro ensaio experimental onde as aves foram inoculadas (maior desafio), deve-se provavelmente à melhor utilização dos nutrientes em função da possível melhora do balanço microbiológico do trato gastrointestinal, consequentemente resultaram no incremento do desempenho das aves.

## **5 - CONCLUSÕES**

Os experimentos realizados em cama reutilizada, a adição de CRINA 300ppm no primeiro e dos probióticos B2B e Calsporin no segundo ensaio indicaram melhoria mais expressiva no desempenho das aves.

Quando as aves foram inoculadas, os eubióticos apresentaram melhoria no desempenho perante o grupo de aves não medicadas e infectadas, validando os relatos científicos da maior ação dos eubióticos em ambientes desafiados.

## **6 - REFERÊNCIAS**

ABEF. Alemanha: Abef apresenta na feira Anuga 2009 a presença europeia na avicultura brasileira. Disponível em [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br). Publicado em 13 de outubro de 2009.

ANDRADE, R.C. Reutilização de cama em aviários de frangos de corte. **Boletim Informativo Vaccinar**, Ano 3, n. 36, Março de 2005.

AWAD; W.A.; GHAREEB, K.; ABDEL-RAHEEM, S.; BÖHM, J. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 88, p.49–55, 2009.

BARRETO, M.S.R.; MENTEN, J.F.M., RACANICCI, A.M.C.; PEREIRA, P.W.Z.; RIZZO, P.V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 2, p. 109-114, 2008.

BARROS, D.S. **Probiótico e prebiótico na ração de matrizes suínas e seu efeito sobre a leitegada e intervalo desmama estro**. 2007. 65p. Dissertação de Mestre, Universidade Federal de Mato Grosso. 2007.

BELLAVER, C. O uso de microingrediente (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. **Congreso Mercosur de Producción Porcina**. Buenos Aires. 2000.

BONATO, M.A.; SAKOMURA, N.K.; PIVA, G.H.; BARBOSA, N.A.A.; MENDONÇA, M.O.; FERNANDES, J.B.K. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal/SP ,v.24, n.3, p.186-192, 2008.

BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P. ; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; SPAIS, A.B. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British Poultry Science**, v. 43, p. 223- 230, 2002.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003. **Anais...** Campinas, CBNA, 2003. p.167-182.

BUCHANAN, N. P.; HOTT, J. M.; CUTLIP, S.E.; RACK, A. L.; ASAMER, A.; MORITZ, J. S. The effects of a natural antibiotic alternative and a natural growth promoter feed additive on broiler performance and carcass quality. **Journal of Applied Poultry Research**, v.17, p.202–210, 2008.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223–253, 2004.

CARAMORI JR,J.G. ; ROÇA, R.O.; FRAGA, A.L.; VIEITE, F.M.; MORCELLI, L.; GONÇALVES, M.A. Efeito de simbiótico na ração inicial de frangos de corte sobre odesempenho, qualidade de carcaça e carne. **Acta Scieterium Animal. Science Maringá**, v. 30, n. 1, p. 17-23, 2008.

CAVAZZONI, V.; et al. Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. **British Poultry Science**, v.39, n.4, p.526-529, 1998.

CORRÊA, G.S.S.; GOMES, A.V.C.; CORRÊA, A.B.; SALLES, A.S. Utilização de antibiótico e probiótico como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural**, série Ciências da Vida, v.22, p.2, p.75-81, 2003.

CORRIER, D.E.; NISBET, D.J.; SCANLAN, C.M.; HOLLISTER, A.G.; DELOACH, J.R. Control of *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks with a continuous-flow characterized mixed culture of cecal bacteria. **Poultry Science**, v. 74, p.916–924, 1995.

COSTA, L.B. et al. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia** , v.36, n.3, p.589-595, 2007.

COUFAL , C.D.; CHAVEZ , C.; CAREY, J.B. Quantification of nutrients in recycled rice hull broiler litter. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, Suppl 1, p. 53, 2002.

CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 245-253, 2002.

CYPRIANO, L.; PICCINI, I.; FILHO, L.B.P.; WENDLER, K.R. Uso de aditivo fitogênico em dietas de frangos de corte – 1º ciclo. In: CONFERENCIA FACTA DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 27, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, 2009. CD ROOM.

DALLOUL, R.A. et al. Enhanced mucosal immunity against *Eimeria acervulina* in broilers fed a *Lactobacillus*- based probiotic. **Poultry Science**, v.82, n.1, p.62-66, 2003a.

DALLOUL, R.A. et al. Intestinal immunomodulation by vitamin A deficiency and *Lactobacillus*-based probiotic in *Eimeria acervulina*-infected broiler chickens. **Avian Diseases**, v.47, n.4, p. 1313-1320, 2003b.

EDENS, F.W. An alternative for antibiotic use in poultry: Probiotics. **Brazilian Journal of**

**Poultry Science**, Campinas, v.5, n.2, p.75-97, 2003.

FIORENTIN, L. Aspectos bacteriológicos da reutilização da cama de aviários de frangos de corte. V Seminário Internacional de Aves e Suínos. **Anais...** Florianópolis, SC, 25 a 27 de abril de 2006. Concórdia: Embrapa. Suínos e Aves, 2006

FLEMMING, J.S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte.** 2005. 111p. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2005.

FRANCESCH, M.; BRUFAU, J.; BADIOLA, I.; LLURADO, L.L.; LLACH, J. R. 1999. Effects of the essential oil blend Crina HC in feed on broiler performance and digesta viscosity. Page 128 in **Proceedings of the 12th European Symposium on Poultry Nutrition.** WPSA-Dutch Branch, Veldhofen, The Netherlands, 1999.

FRITTS, C.A. et al. *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.9, n.2, p.149-155, 2000.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. **5º Simpósio Técnico de Incubação, matrizes de corte e nutrição.** Balneário Camboriú/SC, 2004.

GARCIA, G.R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de bacillus subtilis no desempenho de bezerros da raça holandesa.** 2008. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. 68p.

GARLICH, J.D. Microbiología del tracto intestinal aviar. In: **CONGRESO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA**, Lima/Peru, v.16, p.110-121, 1999.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZAHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLUO, N.A.; SPAIS, A.B. Effect of dietary supplementation with oregano

essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*.  
**Archives of Animal Nutrition**, v.57, n.2, p.99-106, 2003.

GONZALES, E. ADITIVOS PARA RAÇÕES DE AVES E SUÍNOS. **Apostila**, FMVZ-UNESP, Botucatu/SP, p.139, 2006.

GREATHEAD, H.; KAMEL, C. Encapsulated plant extracts to fight coccidiosis. **Feed Mix**, v.14, p.18-21, 2006.

GUILLOT, J. F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work for poultry. **Feed Mix**, v. 23, n. 8, p. 28-30, 2000. Special number.

GUO, F.C.; KWAKKEL, R.P.; WILLIAMS, B.A.; PARMENTIER, H.K.; LI, W.K.; YANG, Z.Q.; VERSTEGEN, M.W.A. Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella*-infected chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 1124-1132, 2004.

HELANDER, I.M.; et al. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3590– 3595, 1998.

HERNANDEZ, F., MADRID, J.; GARCIA, V.; ORENGO, J.; MEGIAS, M. D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, p.169–174. 2004.

HIGGINS, S.E.; HIGGINS, J.P.; WOLFENDEN, A.D.; HENDERSON, S.N.; TORRES-RODRIGUEZ, A.; TELLEZ, G.; HARGIS, B. Evaluation of a *Lactobacillus*-based probiotic culture for the reduction of *Salmonella enteritidis* in neonatal broiler chicks. **Poultry Science**, v. 87, p.27–31, 2008.

JANG, I.S. et al. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.304–315, 2007.

KABIR, S. M. L., M. M. RAHMAN, M. B. RAHMAN, M. M. RAHMAN, AND S. U. AHMED. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International **Journal Poultry Science**, v.3, p.361–364, 2004.

KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. I. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **Journal Agricu. Food Chem.** v.43, p.2839–2845, 1995.

KNAP, I.; LUND, B.T.; JENSEN, M.M. *Bacillus licheniformis* (GalliPro Tect) prevents necrotic enteritis and improves performance in broiler chickens. n.196, p. 62. ABSTRACTS OF PAPERS. **Poultry Science Association 98th Annual Meeting**, North Carolina, July 20–23, 2009.

LA, R.M.; CASULA, G.; CUTTING, S.M.; WOODWARD, M.J. *Bacillus subtilis* competitively exclude *Escherichia coli* in poultry. **Vet Microbial**. v.79, p. 133-142, 2001.

LA, R.M.; WOODWARD, M.J. Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* and *Clostridium perfringens* in young chickens. **Vet Microbiol**. v.94, p. 245-256, 2003.

LAURENTIZ, A. C. **Efeito do probiótico e alturas de cama sobre o desempenho de frangos de corte submetidos a diferentes temperaturas**. 2000, 79 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

LEE, K.W.; EVERTS, H.; BEYNEN, A.C. Essential oils in broiler nutrition. **International Journal Poultry Science**, v.3, p.738-752, 2004.

LEE, K.W.; H. EVERTS; H.J. KAPPERT; K.H. YEOM; A.C. BEYNEN. Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. **Jorunal Applied Poultry Research**, v.12, p.394-399, 2003.

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H. S.; DALLOUL, R. A.; PARK, D. W.; HONG, Y. H.; LIN, J. J. Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.63–66, 2007.

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H. S.; PARK, D. W.; JANG, S. I.; MORALES, A.; GARCÍA, D.; LUCIO, E.; LARIOS, R.; VICTORIA, G.; MARRUFO, D.; LILLEHOJ, E. P. Induction of passive immunity in broiler chickens against *Eimeria acervulina* by hyperimmune egg yolk immunoglobulin Y1. **Poultry Science**, v.88, p.562–566, 2009.

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H.S.; CHO, S. M.; PARK, D. W.; HONG, Y. H.; CHUN, H. K.; PARK, H. J. Immunomodulatory properties of dietary plum on coccidiosis. **Comp. Immunological Microbiology. Infectiosu. Disease**, v.31, p.389–402, 2008.

LODDI, M.M.; CAMARGO, L.A.R.; OSTROVSKI, K.R.; ROX, W.; BRANDES, A.; SANTOS, D.R. Uso de probióticos para frangos de corte frente ao desafio de *Clostridium perfringens* sobre a biometria dos órgãos. **46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Maringá, PR – UEM – 14 a 17 de julho de 2009.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: Conferência Apinco'2000 de Ciência e Tecnologia Avícolas. **Anais...** v.2, Campinas, p.161-174, 2000.

MACK, D.R. et al. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. **Gut**, v. 52, n.6, p.827-833, 2003.

MEDEIROS, P.T.; PADILHA, M.T.S.; PADILHA, J.C.F.; ESPÍNDOLA, F.; MAGGIONI, R. Efeito de promotores de crescimento alternativos no desempenho e no custo de produção de frangos de corte. **Revista Biotemas**, v.22, n.3, p.7, 2009.

MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v.16,n.4, 2000.

MENTEN, J.F.M.; PEDROSO, A.A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. Conferencia APINCO, Santos, 2005. **Anais...** Santos, FACTA, 2005. p. 41-53.

MILTENBURG, G. Promotores e Aditivos de Crescimento em Avicultura: Estado da Arte.... In: Conferência APINCO'2000 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2000, Campinas. **Anais...**Campinas, FACTA, v.2, 2000, p.205–215.

MISSOTTEN, J.A.M. et al. Screening of two probiotic products for use in fermented liquid feed. **Livestock Science**, v.108, n.1-3, p.232-235, 2007.

IMITSCH, P.; ZITTERL-EGLSEER, K.; KOHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83, p.669–675, 2004.

MOUNTZOURIS, K. C., P. TSISTSIKOS, E. KALAMARA, S. NITSH, G. SCHATZMAYR, AND K. FEGEROS. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modualting cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**, v. 86, p. 309–317, 2007.

ORAL, N.; VATANSEVER, L.; SEZER, Ç.; AYDIN, B.; GÜVEN, A.; GÜLMEZ, M. BAÇER, K.H.C.; KÜRKÇÜOĞLU, M. Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees Celsius. **Poultry Science**, v. 88, p.1459–1465, 2009.

OVIEDO-RONDON, E. O.; CLEMENTE-HERNANDEZ, S.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. Responses of coccidia-vaccinated broilers to essential oil blends supplementation up to forty-nine days of age. **Journal Applied Poultry Research**, v.14, p.657–664, 2005.

OVIEDO-RONDON, E. O.; HUME, M. E.; HERNANDEZ, C.; CLEMENTE-HERNANDEZ, S.. Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species, and supplemented with essential oil blends. **Poultry Science**, v.85, p.854–860, 2006a.

OVIEDO-RONDÓN, E.O., CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S., SALVADOR, F., WILLIAMS, P.; LOSA R. Essential oils on mixed coccidia vaccination and infection in broilers. **International Journal of Poultry Science** v. 5, n.8, p.723-730, 2006 b.

PATTERSON, J. A., AND BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v. 82, p.627–631, 2003.

PATURI, G. et al. Immune enhancing effects of *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 and *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26 in mice. **International Journal of Food Microbiology**, v.115, n.1, p.115-118, 2007.

PELICANO, E.R.L; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; et al. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.6, n.4, p.231-236. 2004.

PENZ Jr., A.M. A produção animal brasileira frente às exigências dos mercados importadores atuais e futuros. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, SBZ, 2003, CD-ROM.

PHANDANOUVONG, V.; RODRIGUEZ, F.; BETANCOUR, L.; HUME, M.; ARIZA-NIETO, C.; NISBET, D.; AFANADOR-TELLEZ, G. Effect of oregano essential oils on lactic acid bacteria populations in the intestinal tract of broiler chickens. n.317, p.98. **Poultry Science Association 98th Annual Meeting**, July 20–23, Raleigh, North Carolina, 2009.

ROSSI, A.A.; PADILHA, M.T.S.; SANTOS, I.I.; PADILHA, J.C.F. Uso de probiótico na prevenção de salmoneloses em frangos de corte. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.31, n.4, p.1207-1211, jul./ago., 2007

ROTH, L. The battle of the bugs: the direct fed microbial concept. **Pig Progress**, v.16, p.12-15, 2000.

SAINI, R.; DAVIS, S.; DUDLEY-CASH, W. Oregano essential oil reduces the expression of coccidiosis in broilers. **Proc. 52<sup>nd</sup> West. Poult. Dis. Conf.**, p.97–98, Sacramento, CA. Vet. Extension, Univ. Calif., Davis, 2003a.

SAINI, R.; DAVIS, S.; DUDLEY-CASH, W. Oregano essential oil reduces necrotic enteritis in broilers. **Proc. 52<sup>nd</sup> West. Poult. Dis. Conf.**, p.95–97, Sacramento, CA. Vet Extension, Univ. Calif., Davis, 2003b.

SAMLI, H. E., N. SENKOYLU, F. KOC, M. KANTER, AND A. AGMA. Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and microbiota. **Archives Animal Nutrition**. v. 61 p.42–49, 2007.

SANTIN, E. et al. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Sacharomyces cerevisiae* cell wall. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, n. 2, p. 236-244, 2001.

SANTOS, E. C; et al. Efeitos dos aditivos beneficiadores de crescimento sobre bactérias totais, pH intestinal e pH das rações de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD-ROM.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v.37, n.3, mai-jun, 2007.

SARCINELLI, M.F.; VENTURINI, K.S.; SILVA, L.C. Produção de frango de corte. **Boletim técnico**. UFES, p.9. 25/05/2007

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide, version 8 ed. Cary, NC. 2001.

SIKKEMA, J. et al. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiology Review**, v. 59, p. 201-222, 1995.

SILVA, E.N.; ALVES FILHO, R.L. Probióticos e prebióticos na avicultura. **II Simpósio de Sanidade Avícola**, Santa Maria, RS. 2000.

SILVA, E.N.; TEIXEIRA, A.S.; BERTECHINI, A.G.; FERREIRA, C.L.L.F.; VENTURA, B.G. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo probióticos, antibióticos e duas fontes de fósforo. **Cienc. Agrotec.**, Lavras, v. 24, p. 225-232, 2000.

SILVA, M.A.; PESSOTTI, B.M.S.; ZANINII, S.F.; COLNAGO, G.L.; RODRIGUES, M.R.A.; NUNES, L.C.; ZANINII, M.S.; MARTINS, I.V.F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Ciência Rural**, v.39, n.5, p. 1471-77, 2009.

SUN, X. 2005. Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. **Thesis**. Virginia Tech, Blacksburg.

TOLEDO, G.S.P.; COSTA, P.T.C.; SILVA, L.P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETTO, C.J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1760-1764, nov-dez, 2007.

TRALDI, A.B.; OLIVEIRA, M.C.; RIZZO, P.V.; MORAES, V.M.B. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com ração contendo probiótico e criados sobre cama nova ou reutilizada. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, p.107-114, 2009.

VOLPATO, G. L. **Ciência: da filosofia à publicação**. 4. ed. Botucatu: Tipomic, 2004. 233p.

WALTER, J.; C. SCHWAB; D.M. LOACH; M.G. GÄNZLE; G.W. TANNOCK. Glucosyltransferase A (GtfA) and inulosucrase (Inu) of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 contribute to cell aggregation, in vitro biofilm formation, and colonization of the mouse gastrointestinal tract. **Microbiology**, v.154, p.72–80, 2008.

WILLIS, W. L.; REID, L. Investigating the effects of dietary probiotic feeding regimens on broiler chicken production and *Campylobacter jejuni* presence. **Poultry Science**, v.87 p.606–611, 2008.

ZÁRATE, G.; NADER-MACIAS, M.E. Influence of probiotic vaginal lactobacilli on in vitro adhesion of urogenital pathogens to vaginal epithelial cells. **Letters in Applied Microbiology**, v.43, n.2, p.174-180, 2006.

## CAPÍTULO 6 – IMPLICAÇÕES

A preocupação européia na utilização de promotores de crescimento em dietas avícolas, têm refletido no mercado internacional. Com isso, intensificam-se as pesquisas na busca de produtos alternativos aos promotores de crescimento com objetivo de honrar as determinações impostas, oferecendo produto de qualidade ao consumidor.

A busca pela máxima eficiência na avicultura, aliada a saúde intestinal com uso de promotores de crescimento, foram pontos críticos considerados no presente estudo. Alguns aditivos tem sido utilizados em dietas de aves com propósito de melhorar o processo digestivo, bem como a saúde intestinal dos animais, promovendo assim a melhoria no desempenho. Dessa forma, foram avaliados neste estudo aditivos com este propósito.

A inclusão de combinações enzimáticas nas dietas de frangos corte melhorou o aproveitamento de nutrientes com reflexos positivos no desempenho. Com base nos resultados neste estudo, é possível reavaliar a matriz nutricional das dietas com o uso de combinações enzimáticas estudadas.

A suplementação de betaína nas dietas de frangos pode viabilizar uma redução na inclusão de DL-metionina na dieta, promovendo melhoria do desempenho das aves submetidas ao estresse calórico, devido ao potencial osmoprotetor da molécula de betaína.

Sabe-se que a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal promove resultados positivos no crescimento e consequentemente na produtividade. Aditivos alternativos aos promotores de crescimento, como os estudados, prebiótico, probiótico e óleos essenciais promoveram respostas satisfatória na produção. A relação custo e desafio sanitário do plantel avícola são pontos importantes a serem considerados.

As informações obtidas neste estudo sob os efeitos dos aditivos avaliados sobre a saúde do trato gastrointestinal, digestibilidade dos nutrientes e desempenho poderão compor um banco de dados para serem consultados na tomada de decisão na escolha de alternativos aos promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte.