

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

**NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS
NO SISTEMA ALTERNATIVO**

VANESSA CRISTINA PELÍCIA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre.

BOTUCATU – SP

Junho - 2008

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

**NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS
NO SISTEMA ALTERNATIVO**

VANESSA CRISTINA PELÍCIA
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. JOSÉ ROBERTO SARTORI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre.

BOTUCATU – SP

Junho - 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA

LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Pelícia, Vanessa Cristina, 1980-

P384n Nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no
sistema alternativo / Vanessa Cristina Pelícia. – Botu- catu : [s.n.], 2008.
vii, 76 f.: il. , gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
2008

Orientador: José Roberto Sartori
Inclui bibliografia.

1. Frango de corte. 2. Nucleotídeos. 3. Isótopos estáveis.
4. Desempenho. 5. Coccidiose. 6. Criação alternativa. I.
Sartori, José Roberto. II. Universidade Estadual Paulista
"Júlio Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

A DEUS

Pela proteção, sempre iluminando e guiando meus caminhos em todos os momentos, me propiciando a experiência da realização desse trabalho.

AOS MEUS PAIS

Wilson Pelícia e Suzilei Aparecida Brito Pelícia, pelo exemplo de amor, honestidade e educação, pilares de minha vida, sempre me encorajando durante todo esse período.

AO MEU ESPOSO

Luís Gustavo Modelli de Andrade, pelo amor, companheirismo, incentivo e colaboração nos meus projetos e ideais.

AO MEU IRMÃO

Maycon Pelícia, pelo carinho e amizade.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pelos ensinamentos, orientação, paciência e confiança em mim depositada, pela competência e dedicação à pesquisa e pela amizade durante todos esses anos de convívio e desenvolvimento desse trabalho.

Agradecimentos

Ao Programa de **Pós-Graduação** em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso;

À **Fundação de Amparo a Pesquisa** do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao **Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato**, meu co-orientador, pelos ensinamentos, incentivo e sugestões para a realização do experimento;

Ao **Prof. Dr. Carlos Ducatti**, pelo apoio e orientação durante a realização das análises isotópicas;

À minha amiga **Kelen Cristiane Zavarize**, pela amizade, apoio, inestimável ajuda e participação ativa na condução dos experimentos;

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ-UNESP-Botucatu, **Sr. Arlindo Braga, Luciene Aparecida Madeira, Rosana Gottmann, Mariela A. Okino Mituo, Priscila Cavalca Araújo, Ana Cristina Stradiotti, João Guilherme Ferreira, Celina de Souza, Érica Sernagiotto, Guilherme, Marcos Paulo Benedette e Fabyola Barros de Carvalho**, pela ajuda nos trabalhos experimentais, pela amizade e pelos bons momentos proporcionados;

Aos funcionários e colegas do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB-UNESP, **Evandro, Cibele, Silvia e Juliana** pelo auxílio na realização das análises isotópicas;

Aos colegas do Laboratório de Nutrição de Peixes, **Profa. Dra. Margarida Maria Barros, Prof. Dr. Luiz Edvaldo Pezzato, Igo, Vivian, Daniel, Ademir, Altevir e Fernando** pela ajuda nas análises e condução do experimento;

À **Sueli Cruz Michelin** pelo auxílio durante a confecção e leitura das lâminas e à **Profa. Dra. Maeli Dal Pai Silva** que permitiu a realização desse trabalho no Departamento de Morfologia do IBB/UNESP/Botucatu,;

Aos professores, colegas do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e Departamento de Produção Animal da FMVZ, que gentilmente concederam e compartilharam seus conhecimentos e experiências;

Aos secretários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia, **Seila Cristina Cassinelli Vieira e Danilo Juarez Teodoro Dias**, pela atenção e auxílios prestados;

Às empresas **FormilVet e Vaccinar Nutrição e Saúde Animal** pela doação dos produtos utilizados durante o experimento;

Aos queridos amigos **Ricardo Pinto de Oliveira, Daniel Machado, Jane Cristina Gonçalves, Valquíria Cação Cruz**, pelo carinho, auxílio e por terem despertado em mim o gosto pela pesquisa.

Aos meus amigos **Antonio Costa Guerreiro Neto e Raquel Coutinho de Andrade**, pelo carinho, auxílio, amizade e pelos bons momentos profissionais e de lazer;

A todos os meus tios, primos e avós, pelo carinho, incentivo e presença constante em minha vida;

E a todos que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações Iniciais	1
1. Introdução.....	2
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. Nucleotídeos.....	4
2.2. <i>Turnover</i>	12
2.3. Frango Alternativo.....	13
2.4. Isótopos Estáveis como Traçadores Naturais.....	14
2.5. <i>Turnover</i> Isotópico.....	18
3. Justificativa.....	20
4. Referências Bibliográficas.....	22
CAPÍTULO 2 – Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos no desempenho, no rendimento de carcaça e de partes e na morfologia da mucosa intestinal.....	34
Resumo.....	36
Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	39
Resultados e Discussão.....	46
Conclusão.....	51
Referências Bibliográficas.....	52
CAPÍTULO 3 - Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos na taxa de <i>turnover</i> da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose.....	54
Resumo.....	56
Abstract.....	57
Introdução.....	58
Material e Métodos.....	59
Resultados e Discussão.....	64
Conclusão.....	69
Referências Bibliográficas.....	70

CAPÍTULO 4 - Implicações

74

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2 - Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos no desempenho, no rendimento de carcaça e de partes e na morfologia da mucosa intestinal**

TABELA 1. Níveis de garantia do AcelerAid®.....	41
TABELA 2. Composição e valores calculados das rações para a fase pré-inicial (1-7 dias de idade).....	41
TABELA 3. Composição e valores calculados das rações para a fase inicial (8-21 dias de idade).....	42
TABELA 4. Composição e valores calculados das rações para a fase crescimento (22-35 dias de idade).....	43
TABELA 5. Composição e valores calculados das rações para a fase final (36-42 dias de idade).....	44
TABELA 6. Valores médios de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), mortalidade (MO) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.....	48
TABELA 7. Valores médios de rendimento de carcaça e partes, segundo os tratamentos aos 42 dias de idade.....	48
TABELA 8. Peso relativo de órgãos ¹ (%) de frangos de corte aos 42 dias de idade.....	50
TABELA 9. Altura (AL) e área (AR) das vilosidades, profundidade de cripta (PC) e relação caliciformes/enterócitos (CA/E) do duodeno, jejuno e ílio de frangos de corte aos 42 dias de idade.....	50
CAPÍTULO 3 - Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos na taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose	
TABELA 1. Composição e valores calculados das rações.....	61

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – Considerações Iniciais

FIGURA 1. Estrutura básica de um nucleotídeo.....	5
FIGURA 2. Fórmula estrutural das bases nitrogenadas.....	5
FIGURA 3. Digestão de nucleoproteínas e absorção de nucleotídeos, nucleosídeos e bases nitrogenadas no trato gastrointestinal.....	7
FIGURA 4. Regulação do pool de nucleotídeos nos enterócitos com ativação da via “de novo” a partir de seus precursores e ativação da via de salvamento a partir reciclagem de bases livres e nucleosídeos liberados na quebra de ácidos nucléicos e nucleotídeos provenientes da dieta.....	7

CAPÍTULO 3 - Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos na taxa de *turnover* da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose

FIGURA 1. Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte de 0 a 21 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.....	64
FIGURA 2. Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte não desafiados de 21 a 42 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.....	67
FIGURA 3. Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte desafiados de 21 a 42 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.....	68

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A produção de frangos de corte tem se intensificado por expressivos avanços tecnológicos, que garantem grande competitividade no mercado mundial de carnes.

A sobrevivência e o desempenho das aves dependem da adequada obtenção de nutrientes pelo organismo. Para que isso ocorra é necessário que o trato gastrointestinal apresente características estruturais funcionais desde a ingestão dos alimentos até sua absorção (ROMER e PARSON, 1981).

Sabe-se que o desenvolvimento da mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos e a perda de células por descamação (extrusão), que ocorre naturalmente no ápice dos vilos (BAYER et al., 1975; UNI et al., 1998; UNI, 2000). O equilíbrio entre esses dois processos é determinado pela taxa de renovação constante, portanto, determinando a capacidade digestiva e de absorção intestinal.

Quando o intestino responde a algum estímulo com desequilíbrio no seu *turnover* (taxa de renovação celular), há modificação no tamanho dos vilos. Assim, se o estímulo levar a manutenção ou diminuição da taxa de proliferação celular, ocorre redução na altura dos vilos e, conseqüentemente, diminuição na capacidade de digestão e de absorção (MACARI, 1998). A redução da altura dos vilos ocorre devido a menor taxa de proliferação e/ou aumento na taxa de extrusão que corresponde à perda de células que ocorrem no ápice dos vilos (PLUSKE et al., 1997).

Normalmente, o epitélio intestinal age como barreira natural contra bactérias patogênicas e substâncias tóxicas presentes na luz intestinal. Distúrbios na microflora normal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, patógeno ou substâncias químicas, podem alterar a permeabilidade desta barreira natural, facilitando a invasão de patógenos e outras substâncias nocivas, modificando o metabolismo, a capacidade de digestão e de absorção de nutrientes e causando ainda inflamações crônicas na mucosa intestinal (PODOLSKY, 1993).

As aves são susceptíveis á vários patógenos, o que têm preocupado a indústria avícola pela queda de desempenho e aumento da mortalidade. Nutricionalmente, aditivos têm sido utilizados nas dietas dos animais para controlar agentes prejudiciais ao processo de digestão e absorção dos nutrientes, promovendo melhoras nos índices zootécnicos e de produção.

Os antibióticos promotores de crescimento foram essenciais, beneficiando o desempenho e a eficiência alimentar, quando utilizados como aditivos nas dietas. Porém, a exploração de alternativas para controle destas enfermidades tem se intensificado em virtude do aumento da preocupação pública com crescimento de bactérias resistentes à antibióticos (GUSTAFSON e BOWEN, 1997), passando a ser visto como fator de risco a saúde humana. Conseqüentemente, alguns países baniram o uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção de animais domésticos.

Os consumidores têm se preocupado cada vez mais com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos mais saudáveis com ausência de resíduos. Para isso, algumas empresas avícolas estão se voltando pra produção de *frango alternativo*, que consiste em aves criadas com ração sem antibióticos promotores de crescimento e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal (DEMATTE FILHO e MENDES, 2001).

Atualmente, diversas alternativas naturais aos antibióticos têm sido estudadas. Algumas dessas alternativas incluem ácidos orgânicos, enzimas, probióticos, prebióticos, óleos essenciais, extratos vegetais, leveduras e, mais recentemente com menor número de estudos até o momento, os nucleotídeos.

Os nucleotídeos da dieta são capazes de prevenir efeitos negativos na estrutura do intestino e melhorar a resposta imune, aumentando a resistência contra instalação de patógenos (CARVER e WALKER, 1995), conseqüentemente, prevenindo quedas de desempenho.

Segundo Bueno et al. (1994), a suplementação com nucleotídeos é especialmente importante no desenvolvimento de tecidos com rápido *turnover* celular, quando a capacidade de síntese endógena não é suficiente para responder às maiores necessidades, como em períodos de rápido crescimento e após agressões no organismo, tais como doenças ou traumas. Assim, a suplementação com nucleotídeos na dieta pode desempenhar

papel importante durante períodos de grande desafio para animais criados no sistema alternativo de produção.

Dentre os avanços tecnológicos nas pesquisas em nutrição animal, inserem-se a técnica dos isótopos estáveis (diluição isotópica), indicada em situações onde fontes dietéticas isotopicamente distintas estão disponíveis para os animais. Segundo Gannes et al. (1998), dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais.

Assim sendo, a realização de trabalhos com isótopos estáveis podem trazer subsídios para o entendimento do metabolismo nutricional das aves, uma vez que a alimentação consiste em um dos principais fatores para o desenvolvimento eficiente e saudável dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. NUCLEOTÍDEOS

Nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada (base púrica ou pirimidínica), um fosfato e uma pentose (ribose ou desoxirribose) (Figura 1). Por hidrólise parcial é possível retirar o radical fosfato dos nucleotídeos formando compostos denominados nucleosídeos. As principais bases púricas são adenina (A) e guanina (G), e as principais bases pirimidínicas são timina (T), citosina (C) e uracila (U) (Figura 2). As moléculas dos ácidos nucleicos (DNA e RNA – reservatórios moleculares da informação genética) são constituídas por cadeias de nucleotídeos (polinucleotídeos) que se polimerizam por ligações fosfodiéster 5'-3'formadas entre unidades de ribose ou desoxirribose adjacentes. No DNA a pentose encontrada é uma desoxirribose e as bases são A, G, C e T. No RNA a pentose é a ribose e existe U em substituição a T. Além do seu papel como subunidades dos ácidos nucleicos, os nucleotídeos possuem outras funções em cada célula: como transportadores de energia (ATP, UTP, GTP, CTP – fontes de energia química a partir de hidrólise), componentes de cofatores enzimáticos (CoA, NAD, FAD) e mensageiros celulares secundários (AMP e GMP cíclico – funções reguladoras) (LEHNINGER et al., 1995).

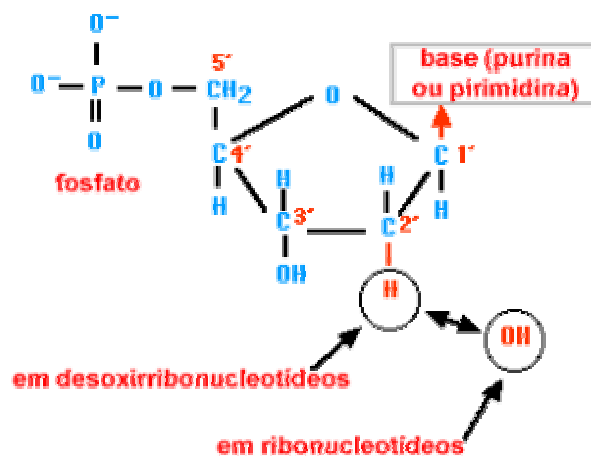


Figura 1. Estrutura básica de um nucleotídeo (Adaptado de LEHNINGER et al., 1995).

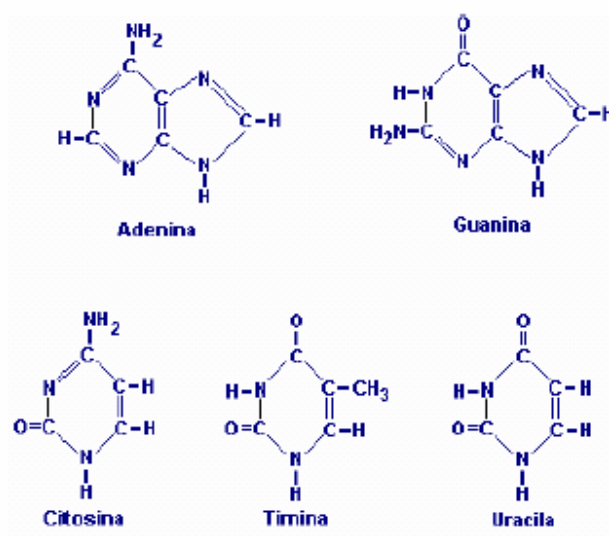


Figura 2. Fórmula estrutural das bases nitrogenadas (Adaptado de LEHNINGER et al., 1995).

Sínteses de RNA e DNA são necessárias para síntese de proteína e divisão celular. A síntese de proteína é controlada pelo RNA que, por sua vez, é sintetizado a partir do DNA através do processo de transcrição-tradução (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1991).

A formação dos nucleotídeos ocorre por dois caminhos: Via “de novo” – síntese a partir de seus precursores metabólicos (glutamina, aspartato, glicina, formato, ribose-5-fosfato, CO_2 e NH_3) em que a glutamina é a fonte mais importante; e Via de salvamento ou recuperação – síntese a partir da reciclagem de bases livres e nucleosídeos liberados na quebra (degradação hidrolítica) dos nucleotídeos e ácidos nucléicos. Este último caminho mais simples e menos dispendioso em energia que as reações requeridas na Via “de novo” (LEHNINGER et al., 1995).

Nucleotídeos provenientes da dieta são ingeridos principalmente como nucleoproteínas derivadas do material nuclear. A digestão das nucleoproteínas é iniciada pelas proteases. Os ácidos nucléicos passam por hidrólise parcial no estômago e são expostos às nucleases e fosfoesterases pancreáticas originando nucleotídeos e nucleosídeos. Fosfatases alcalina intestinal e nucleotidases clivam o grupo fosfato dos mono, di e tri nucleotídeos em nucleotídeos e nucleosídeos e, posteriormente, em bases nitrogenadas. A mistura de nucleotídeos (em menor quantidade), nucleosídeos (na grande maioria) e bases nitrogenadas são absorvidas pelos enterócitos (UAUY et al., 1994a). O intestino não somente recupera quantidades significativas de bases nitrogenadas e nucleosídeos, mas também oxida o excesso de purinas a ácido úrico e o excesso de pirimidinas a uréia (LEHNINGER et al., 1995).

A Figura 3 resume a digestão de nucleoproteínas e absorção de nucleotídeos, nucleosídeos e bases nitrogenadas e a Figura 4 resume a manutenção do pool de nucleotídeos nos enterócitos na presença ou ausência de nucleotídeos da dieta.

Fontes de nucleotídeos exógenos não são consideradas essenciais para a nutrição e, apenas recentemente, pesquisadores vêm provando o contrário. Segundo Lehninger et al. (1995), a quantidade total de nucleotídeos nas células (excluído o ATP) é muito pequena, talvez 1% ou menos das quantidades necessárias para sintetizar o DNA celular. Portanto, a síntese de nucleotídeos precisa continuar ocorrendo durante a síntese dos ácidos nucléicos e, em alguns casos, pode limitar as velocidades de replicação e transcrição do DNA.

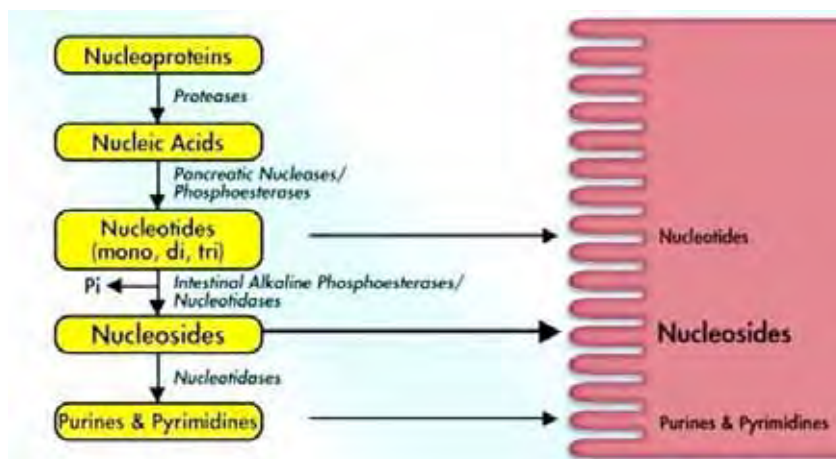


Figura 3. Digestão de nucleoproteínas e absorção de nucleotídeos, nucleosídeos e bases nitrogenadas no trato gastrointestinal (Adaptado de UAUY et al., 1994a).

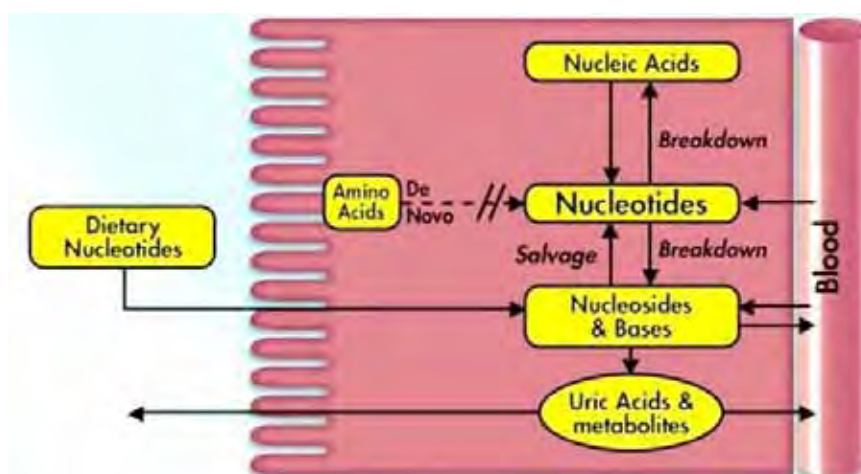


Figura 4. Regulação do pool de nucleotídeos nos enterócitos com ativação da via “de novo” a partir de seus precursores e ativação da via de salvamento a partir da reciclagem de bases livres e nucleosídeos liberados na quebra de ácidos nucléicos e nucleotídeos provenientes da dieta (Adaptado de UAUY et al., 1994a).

Por ter rápida taxa de proliferação celular e alta atividade metabólica, a mucosa intestinal, a medula óssea e as células do sistema imune têm limitada capacidade de síntese de bases púricas e pirimidínicas, nucleosídeos e nucleotídeos pela via “de novo” (CREAMER, 1967).

A suplementação com nucleotídeos é especialmente importante no desenvolvimento de tecidos com rápido *turnover* celular, quando a capacidade de síntese endógena não é suficiente para responder às maiores necessidades, como em períodos de rápido crescimento e após agressões no organismo, tais como doenças ou traumas (BUENO et al., 1994). Sob essas condições, o consumo de nucleotídeos na dieta poupa o organismo dos custos da via “de novo” podendo ser utilizado pela “via de salvamento” (TSUJINAKA et al., 1997).

Nucleotídeos podem influenciar na expressão de genes no epitélio intestinal (LELEIKO et al., 1987; SANDERSON e HE, 1994), podendo acelerar a síntese de DNA nas células, auxiliando o crescimento e a recuperação de tecidos, principalmente em condições de estresse fisiológico (NUNEZ et al., 1990; CARVER e WALKER, 1995).

Segundo Chen et al. (1996), a produção endógena de nucleotídeos não é suficiente para atender as necessidades do cérebro e a suplementação com 0,5% de nucleotídeos e nucleosídeos na dieta melhora a memória de ratos.

A adição de nucleosídeos e nucleotídeos em culturas de hepatócitos aumenta a síntese de DNA e RNA pela via de salvamento e via “de novo”, podendo aumentar o crescimento dos hepatócitos, particularmente durante a regeneração (OHYANAGI et al., 1989).

A suplementação de ratos via parenteral com doses elevadas de nucleotídeos e nucleosídeos (1,2g/kg de peso vivo) inibe injúria induzida no fígado, porém com baixas doses (0,14g/kg) não exercem nenhum efeito (OGOSHI et al., 1988).

Norton et al. (2001), adicionando 0,25% de nucleotídeos à dieta de ratos com diarreia induzida por sobrecarga de lactose, obtiveram como resultado efeito protetor contra injúrias hepáticas e melhora na resposta inflamatória intestinal, quando comparado com o grupo alimentado com dieta não suplementada.

Muitos estudos têm demonstrado a importância dos nucleotídeos para o sistema imune. Ratos alimentados com suplementação de nucleotídeos apresentaram aumento da atividade da célula NK, da ativação de macrófago e do peso do baço quando comparados com ratos que não receberam nucleotídeos (CARVER et al., 1990).

Os nucleotídeos da dieta são reportados como melhoradores do trato gastrointestinal e do sistema imune em crianças. Crianças recebendo dieta suplementada com nucleotídeos têm menor incidência de diarreia, maior quantidade de anticorpos contra *Haemophilus influenzae* tipo b após vacinação e aumento da atividade da célula NK (CARVER, 1999).

Ratos infectados com *Staphylococcus aureus* resistentes às meticilinas e alimentados com dieta suplementada com mistura de nucleosídeos e nucleotídeos tiveram maior taxa de sobrevivência (YAMAMOTO et al., 1993), maior números de neutrófilos na circulação periférica, maior proliferação de células da medula óssea (MATSUMOTO et al., 1995a) e maior conteúdo de DNA e RNA no intestino delgado (YAMAUCHI et al., 1998) quando comparado com os que não receberam dieta suplementada com nucleotídeos.

A suplementação com mistura de nucleosídeos e nucleotídeos pode melhorar a resposta imune mediada por células T (YAMAUCHI et al., 1996), estimular a proliferação, diferenciação e maturação de neutrófilos e, combinados ou não com outros agentes farmacológicos, pode ser importante agente terapêutico em pacientes submetidos a quimioterapia, imunossupressores ou transplante (MATSUMOTO et al., 1995b).

Nucleotídeos adicionados à dieta podem restaurar e realçar a resposta imune em ratos quando há deficiência de proteína ou desnutrição (PIZZINI et al., 1990; VAN BUREN et al., 1994; AMEHO et al., 1997).

Segundo Gil (2002), nucleotídeos da dieta influenciam na maturação, ativação e proliferação de linfócitos, porém os mecanismos pelos quais os nucleotídeos modulam o sistema imune são praticamente desconhecidos.

Yu et al. (2002), trabalhando com leitões, observaram que a combinação de 1,0% de glutamina com 1000 ppm de nucleotídeos como suplemento na dieta eleva a concentração de anticorpos, melhorando a resposta imune durante infecções por patógenos. Para Stein e Mateo (2004), a necessidade de nucleotídeos é elevada durante o pós-desmame de leitões, devido ao estresse e baixa imunidade do animal durante esse período. Burrells et al. (2001),

ao adicionar 0,03% de mistura de nucleotídeos na dieta de salmonídeos, observaram aumento da resistência contra infecções bacterianas, virais, bem como infecções por ectoparasitos, com redução significativa na mortalidade, efeitos atribuídos a mais rápida resposta imune dos peixes alimentados com dieta suplementada com nucleotídeos. Esses estudos mostram claramente a importante ação dos nucleotídeos na manutenção e restauração da resposta imune.

Muitos trabalhos relatam a importância dos nucleotídeos e nucleosídeos para manutenção e função da mucosa intestinal. Segundo Tanaka et al. (1996), nucleotídeos exógenos desempenham importante ação no controle do *turnover* celular e desenvolvimento do intestino.

Ratos alimentados com dieta suplementada com 0,8% de nucleosídeos na dieta apresentaram aumento na proteína e DNA da mucosa intestinal, aumento dos vilos e da atividade das enzimas maltase e dissacaridase e, portanto, aumento no crescimento e maturação do intestino quando comparados com ratos recebendo dieta não suplementada (UAUY et al., 1990), sustentando a teoria que os nucleotídeos da dieta afetam a maturação e crescimento do epitélio do intestino delgado (ORTEGA et al., 1995).

A suplementação na dieta de ratos com nucleotídeos e nucleosídeos promoveu aumento significativo da resistência contra instalação de bactérias (ADJEI et al., 1992; ADJEI et al., 1993a) e fungos patogênicos (FANSLOW et al., 1988), reduziu a incidência de translocação bacteriana, resultando na redução do número de patógenos e melhorando a integridade do intestino após lesão, e aumentou taxa de sobrevivência em casos de deficiência de proteína na dieta e endotoxemia (ADJEI et al., 1993b; ADJEI et al., 1994, ADJEI e YAMAMOTO, 1995; ADJEI et al., 1996). Estes mesmos autores consideraram os nucleotídeos essenciais para o reparo intestinal.

Crianças recebendo dieta suplementada com nucleotídeos apresentaram maior porcentagem de bifidobactérias e lactobacilos, menor porcentagem de bactérias gram-negativas nos intestinos (UAUY, 1994b) e menor prevalência de diarreia quando comparadas com crianças que não receberam o suplemento (BRUNSER et al., 1994).

Tsujinaka et al. (1993) verificaram que ratos alimentados via nutrição parenteral, suplementada com nucleotídeos, apresentaram maior desenvolvimento da mucosa e

proliferação das células das criptas. Para Kishibuchi et al. (1997), a suplementação com mistura de nucleotídeos e nucleosídeos via nutrição parenteral melhora a função de barreira da mucosa intestinal.

Administração intraperitoneal de nucleosídeos e nucleotídeos em ratos podem estimular a proliferação de células da medula óssea, conteúdo de DNA e RNA no intestino delgado durante períodos de deficiência de proteína e durante a infecção (YAMAUCHI et al., 1998).

Kulkarni et al. (1986), ao infectar ratos com *Staphylococcus aureus*, observaram maior taxa de sobrevivência no grupo suplementado com dietas contendo nucleotídeos em comparação ao grupo não suplementado, concluindo que os nucleotídeos da dieta diminuem a susceptibilidade a desafios provocados por bactérias. O mesmo resultado foi encontrado por Adjei et al. (1993a) ao suplementarem ratos infectados por *Staphylococcus aureus*, com administração intraperitoneal de mistura de nucleotídeos e nucleosídeos.

Em ratos com diarreia induzida pela lactose, a introdução de nucleotídeos na dieta resultou em recuperação da morfologia intestinal (BUENO et al., 1994) e em aumento do conteúdo de DNA intestinal e da atividade das enzimas lactase, maltase e sucrase (NUNEZ et al., 1990).

Para McCauley et al. (1998), nucleotídeos são essencialmente importantes para os enterócitos em desenvolvimento, maturação e reparo intestinal. Dell'orto et al. (2002), suplementando a dieta de suínos com 0,5% nucleotídeos e 0,5% glutamina, observaram aumento na altura das vilosidades e profundidade de cripta do íleo, mostrando o efeito positivo sobre o crescimento e maturação da mucosa ileal.

A combinação de 1,0% de glutamina com 1000 ppm de nucleotídeos, como suplemento em dietas de leitões desmamados, promoveu melhora na resposta imune, aumento no consumo de ração, aumento na altura das vilosidades intestinais, conseqüentemente maior eficiência na absorção dos nutrientes aumentando o ganho de peso (YU et al., 2002).

Segundo Stein e Kil (2006), dietas suplementadas com óleos essenciais e nucleotídeos ou nucleosídeos podem ser usadas com o objetivo de reduzir antibióticos promotores de crescimento em dietas de leitões recém-desmamados.

Wu et al. (2001) trabalhando com pintos de corte até 14 dias de idade, encontraram maior altura de vilosidades e maior conteúdo de RNA na mucosa intestinal e no fígado de animais que receberam dieta sem nucleotídeos quando comparados com os animais que receberam a mesma dieta, suplementada com 0,1; 0,2 ou 0,5% de meio de cultura de levedura como fonte de nucleotídeos. Diante desse resultado os autores sugeriram que a capacidade de síntese de nucleotídeos pelos frangos jovens é suficiente para seu crescimento e desenvolvimento.

Rutz et al. (2006) suplementaram dietas de frangos de corte com 2% de extrato de leveduras (0,2% de nucleotídeos) e obtiveram como resultado maior ganho de peso e melhor conversão alimentar quando comparado com o grupo que não recebeu dieta suplementada. Os autores sugerem que esse melhor desempenho pode ter ocorrido em decorrência de aumento das vilosidades, propiciado pela ação dos nucleotídeos presentes no extrato de leveduras, favorecendo o aumento da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes por ampliar a área de superfície absorptiva.

2.2. TURNOVER

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é chamado *turnover*. Todas as substâncias do corpo, sejam elas metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover* (HETENYI Jr. et al., 1983) e grande parte dos estudos envolve *turnover* das proteínas, principais constituintes das células dos tecidos dos animais depois da água (MURRAY, 1990).

O *turnover* protéico é definido como a contínua quebra e reposição de proteínas celulares, o qual provê fluxo necessário para reposição e adaptação metabólica e é considerado mecanismo homeostático importante para a sobrevivência animal (HAWKINS e DAY, 1996).

Segundo Lanojo e Tirapegui (1998), a velocidade da reciclagem protéica depende da função da proteína e do tipo de tecido ou órgão. A taxa média diária de proteína renovada ou resintetizada de um homem adulto é da ordem de 3% do total protéico do

organismo. Na pele perdem-se e renovam-se diariamente cerca de 5g de proteína, no sangue 25g, no trato intestinal cerca de 70g e no tecido muscular ao redor de 75g/dia.

De acordo com Duée et al. (1995), o intestino contribui pouco para o armazenamento de proteínas do organismo (2% em média). No entanto, a renovação das proteínas neste tecido é particularmente alta tornando o intestino importante local de renovação protéica do organismo (20%).

Sendo a síntese protéica controlada pelos ácidos nucléicos DNA e RNA (constituídas por cadeias de nucleotídeos), há fortes indícios de que a suplementação de nucleotídeos nas dietas possa oferecer melhorias à estrutura e função do intestino após lesão causada por patógenos.

Para Baró et al. (2001), o epitélio intestinal é um tecido em contínua renovação e, para que ocorra este processo, são necessários os nucleotídeos, tanto endógenos quanto aqueles provenientes da alimentação.

2.3. FRANGO ALTERNATIVO

A preocupação crescente de grupos de consumidores com o meio ambiente, bem estar dos animais e alimentos mais saudáveis com ausência de resíduos químicos, estimulou algumas integradoras a adotarem o chamado sistema de produção de frangos alternativos, buscando atender as novas demandas do mercado em relação às exigências do consumidor.

Longe de excluir todas as conquistas da avicultura industrial convencional, que transformaram o frango em um dos alimentos mais populares e acessíveis, a avicultura alternativa é evolução desse modelo de criação, que trabalha voltada para o manejo mais natural. O frango natural ou alternativo é muitas vezes confundido com o frango verde, caipira ou colonial e orgânico, portanto cabe destacar suas principais diferenças: frango verde – alimentação exclusivamente à base de ingredientes vegetais, descartando-se o uso de ingredientes de origem animal; frango caipira ou colonial – provém de linhagens específicas, como a Label rouge, é produzido em áreas mais extensas e, além de receber ração, a ave pode ciscar pelo terreiro; frango orgânico – sua dieta, além de não apresentar ingredientes de origem animal e adição de antibióticos e promotores de crescimento, é

composta de grãos e vegetais cultivados em sistema orgânico, ou seja, produzidos sem utilização de defensivos e fertilizantes químicos (ALTERNATIVA, 2001).

O frango industrial ou convencional é ave de exploração intensiva, criada em granjas comerciais por meio de um modelo consagrado de manejo, cuja alimentação é constituída de ingredientes de origem vegetal e/ou animal, sem restrições ao uso de antibióticos e promotores de crescimento, observando-se os períodos de retirada seguros para os animais, homem e meio ambiente.

O frango alternativo é ave de exploração intensiva, criada em menor densidade em sistema de integração no qual os produtores recebem da empresa os pintos, a ração e toda a assistência técnica necessária. Não há restrições quanto à linhagem, porém a dieta não é composta de antibióticos promotores de crescimento, anticoccidianos, quimioterápicos e ingredientes de origem animal, sendo permitida a homeopatia e o uso de fitoterápicos. Como substituto destes produtos químicos, podem ser incluídos à ração ácidos orgânicos e seus sais, prebióticos, probióticos, simbióticos e produtos de exclusão competitiva, adsorventes de micotoxinas, enzimas, extrato de plantas, pigmentantes e imunoestimulantes naturais (DEMATTÊ FILHO e MENDES, 2001).

O objetivo da produção do frango alternativo é a obtenção de produtos com atributos diferenciados e de qualidade certificada, com de tecnologias adequadas, respeitando o bem-estar animal, a saúde do homem, o meio ambiente e oferecendo produtos com segurança alimentar, garantindo a satisfação e a confiança dos consumidores (BUTOLO, 2003).

2.4. ISÓTOPOS ESTÁVEIS COMO TRAÇADORES NATURAIS

Os isótopos estáveis do carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e nitrogênio (N) ocorrem naturalmente através da atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. O termo Isótopo foi criado pelo Sr. Frederick Soddy e vem do grego ISO (mesmo ou igual) e TOPOS (lugar), referindo-se ao fato de que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico (mesmo número de prótons), mas que diferem em número de nêutrons, apresentando diferentes massas atômicas. Pode-se dizer que os isótopos apresentam as mesmas propriedades químicas e

diferentes propriedades físicas, permitindo serem utilizados como traçadores naturais em pesquisas. A expressão estável significa que não emitem radiação.

Cada elemento apresenta um isótopo estável leve dominante: carbono-12 (^{12}C), hidrogênio-1 (^1H), oxigênio-16 (^{16}O) e nitrogênio-14 (^{14}N) e um ou dois isótopos estáveis pesados: carbono-13 (^{13}C), hidrogênio-2 (^2H), oxigênio-17 (^{17}O), oxigênio-18 (^{18}O) e nitrogênio-15 (^{15}N), com abundância ou concentração natural expressa em átomos % (DUCATTI, 2005).

De acordo com a Tabela 1, há na natureza a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono (^{12}C e ^{13}C) com abundâncias naturais de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (KENNEDY e KROUSE, 1990). Assim como os isótopos de carbono, isótopos estáveis de outros elementos químicos podem ser utilizados em estudos de animais.

Tabela 1. Abundância natural dos isótopos estáveis em átomos %

Isótopo leve		Isótopo pesado		Gás a ser analisado
^{12}C	98,892	^{13}C	1,108	CO_2
^1H	99,985	^2H	0,015	H_2
^{16}O	99,759	^{17}O	0,0374	CO_2
		^{18}O	0,2036	CO_2
^{14}N	99,6337	^{15}N	0,3663	N_2

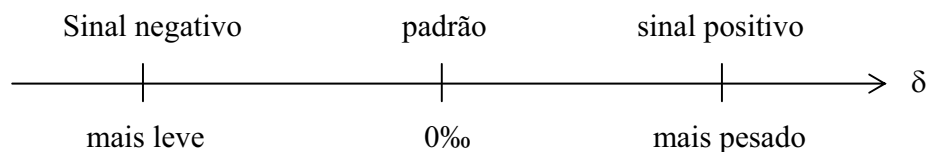
Adaptado de DUCATTI (2005).

Os valores do enriquecimento relativo do carbono-13 são expressos na terminologia dos isótopos estáveis, em delta per mil (δ) da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação a um padrão internacional definido, Peedee Belemnite (PDB). Segundo Friedman e O'Neill (1977), citados por Ducatti et al. (1979), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se de um carbonato sólido de *Belemnitela cretaceos*, *Belemnitela americana*, da formação Peedee da Carolina do Norte, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). O padrão internacional PDB exauriu-se com o tempo e, atualmente, é utilizado como padrão de trabalho, rocha carbonatada (mármore) com alta pureza em calcita (Ducatti et al., 1979).

A medida da relação entre isótopos é realizada pelo espectrômetro de massas, que mede a concentração dos diferentes isótopos do elemento, admitido no sistema sob a forma gasosa (ex.: H_2 , CO_2 , N_2), com erro analítico de 0,2‰.

A razão entre os isótopos estáveis mensurados por espectrometria de massa de baixa resolução com leitura em delta (δ) é obtida pela expressão: $\delta X_{(amostra, padrão)} = [(R_{amostra}/R_{padrão}) - 1] \times 10^3$, onde: δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico em questão de dada amostra em relação ao respectivo padrão internacional, e R = representa a razão isotópica entre o isótopo pesado em relação ao leve (ex.: $^{13}C/^{12}C$; $^{15}N/^{14}N$) da amostra e do padrão, respectivamente (DUCATTI, 2005).

Valores isotópicos negativos significam que a amostra apresenta relativamente, menos isótopo pesado do que o padrão internacional.

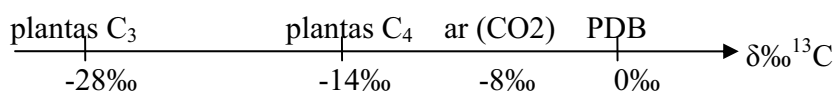


De forma genérica, a régua isotópica com escala de δ , pode ser interpretada em relação ao padrão internacional da seguinte forma, na qual, o termo mais leve significa menos isótopo pesado que o padrão e, mais pesado, significa na linguagem de laboratório, mais isótopo pesado que o padrão.

A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o CO_2 atmosférico, o qual tem valor de $\delta^{13}C$ de aproximadamente -7,7‰ (KENNEDY e KROUSE, 1990).

De acordo com seu ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria, em dois grupos principais: plantas C_3 e C_4 , em que o primeiro composto orgânico formado é o ácido carboxílico com três e quatro átomos de carbono, respectivamente. O CO_2 , ao longo do processo de produção de carboidratos, entra nas plantas pelos dos estômatos por difusão e dentro das células, segue para as rotas bioquímicas que resultam da formação de carboidratos. Ao longo de todas estas etapas, o carbono sofre discriminação isotópica, ocorrendo diminuição da concentração de ^{13}C e aumento da concentração de ^{12}C (DUCATTI, 2005).

Nas plantas C_3 , o valor de δ varia de -22‰ a -34‰, dependendo da espécie, e nas plantas C_4 este valor encontra-se entre -9‰ a -16‰. A diferença entre estes valores é devida principalmente à rota bioquímica da produção de carboidratos, diferente nestes dois tipos de plantas. O sinal negativo indica que a planta apresenta menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional PDB (SMITH e EPSTEIN, 1971; DUCATTI, 1977; DUCATTI et al., 1979; O'LEARY, 1981; VOGEL, 1993; DUCATTI, 2005).



Dentre as plantas utilizadas na nutrição animal, o arroz, as leguminosas, o trigo, a cevada, as frutas, as hortaliças, a beterraba, a mandioca, o algodão, a alfafa, a soja e o feijão são pertencentes ao ciclo fotossintético C_3 e o milho, a cana-de-açúcar, o milheto, o sorgo, as forrageiras e as gramíneas são pertencentes ao ciclo fotossintético C_4 (DUCATTI, 2005).

O contraste existente na relação isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ das plantas de ciclo fotossintético C_3 e C_4 é que tem possibilitado estudos na área de nutrição e metabolismo animal porque utilizam como marcador o ^{13}C e sua concentração natural existente nos alimentos, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, além de evitar os problemas de saúde e segurança associados ao uso de isótopos radioativos (TYRRELL et al., 1984).

Devido à ocorrência natural desses marcadores, estão disponíveis grandes quantidades de substrato marcado, de fácil obtenção e bem mais barato que os marcadores enriquecidos artificialmente, podendo ser aplicados sem o risco de contaminação ambiental em estudos com suínos (CALDARA, 2005), com aves de postura (CARRIJO et al., 2000; DENADAI, 2004), frangos de corte (CARRIJO, 2003; CRUZ et al., 2004; OLIVEIRA, 2005; CARRIJO et al., 2006; GOTTMANN, 2007; MITUO et al., 2007), peixes (ZUANON et al., 2007) e ovinos (SILVA, 2003).

Como as plantas são consumidas pelos animais, a “impressão digital isotópica” destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de

metabolismo (DENIRO e EPSTEIN, 1978; GANNES et al., 1998). Segundo DeNiro e Epstein (1978) o animal é o que come $\pm 1\text{‰}$ para ^{13}C e $\pm 3\text{‰}$ ^{15}N .

Gannes et al. (1998) em revisão sobre o uso potencial da variação natural dos isótopos estáveis, destacam o papel dos fisiologistas no uso dessa ferramenta para esclarecer questões fisiológicas e ecológicas, bem como assegurar fundamentos teóricos e experimentais para aplicação dos isótopos estáveis em outras áreas. Dentre as diretrizes para futuras pesquisas com isótopos estáveis destacadas por esses autores, receberam ênfase o balanço protéico, a alocação de nutrientes e o *turnover* tecidual.

2.5. TURNOVER ISOTÓPICO

Cada tecido ou fração bioquímica pode apresentar “memória isotópica própria”, em função do conteúdo isotópico da alimentação e da taxa de renovação bioquímica.

Entende-se por *turnover* isotópico como a renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente, de seus isótopos que compõem o tecido corporal ou o organismo como um todo. Esse *turnover* pode ocorrer por meio de renovação tecidual resultante do processo de síntese e degradação em tecidos adultos e/ou pelo próprio crescimento nos tecidos em formação (diluição isotópica) (CARRIJO e DUCATTI, 2007).

Tecidos com *turnover* isotópico rápido retratam dietas mais recentes, enquanto aqueles com *turnover* mais lento refletirão dietas de períodos mais remotos (HOBSON e CLARK, 1992). Portanto, a escolha do tipo de tecido para análise isotópica irá depender do interesse em questão.

Segundo Gannes et al. (1998), dietas com assinaturas isotópicas contrastantes podem ser usadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade com que esses constituintes são substituídos (TIESZEN et al., 1983).

A maioria dos estudos utilizando variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ dos alimentos apresenta questões ecológicas, enfocando a velocidade de troca do carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com razões isotópicas distintas, em função de migrações ou mudanças de níveis tróficos. Entretanto, a técnica dos isótopos estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de substituição do carbono

tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais, nutricionais e sanitários (CARRIJO et al., 2000).

Ducatti et al. (2002) propuseram modelo teórico capaz de exprimir os resultados do enriquecimento relativo do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas contrastantes em $\delta^{13}\text{C}$ (formuladas com grãos de plantas do ciclo C_3 e C_4) a animais adultos. Partindo do pressuposto que o metabolismo de determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos de carbono provenientes da dieta e da taxa de substituição dos compostos pré-existentes, os autores chegaram à seguinte equação:

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

Onde:

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

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

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

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹ e

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

O modelo proposto mostrou-se adequado para determinar o tempo de substituição de carbono nos tecidos em estudos com aves e animais de pequeno porte.

Zuanon et al. (2003) avaliando o *turnover* do carbono muscular de tilápias do Nilo em crescimento, verificaram que o modelo matemático proposto para avaliar a substituição do carbono tecidual em animais adultos mostrou-se adequado para animais em desenvolvimento. De acordo com os autores, o acréscimo de massa tecidual decorrente do crescimento é o principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual, em relação ao *turnover* metabólico, em animais jovens.

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente, tem-se observado preocupação cada vez maior dos consumidores com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos saudáveis, com menor quantidade de aditivos antibióticos e ausência de resíduos. Para isso, algumas empresas avícolas estão se voltando para produção de *frango alternativo* que consiste em aves criadas com ração sem antibióticos promotores de crescimento e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal (DEMATTE FILHO e MENDES, 2001).

Estudos recentes têm demonstrado que os nucleotídeos da dieta são capazes de prevenir efeitos negativos sobre a estrutura do intestino e melhorar a resposta imune, aumentando a resistência contra instalação de patógenos e, conseqüentemente, prevenir quedas de desempenho. Assim, a suplementação com nucleotídeos na dieta para frangos de corte pode desempenhar papel importantíssimo durante períodos de grandes desafios e para animais criados no sistema alternativo de produção.

Os estudos com frangos de corte que usam isótopos estáveis como marcadores em suas dietas dão estimativas de quão rapidamente os isótopos estáveis dos tecidos são substituídos por isótopos derivados da dieta, as quais são indicativas da taxa de *turnover* dos tecidos dos animais. Assim sendo, a realização de trabalhos com isótopos estáveis podem trazer subsídios para o entendimento do metabolismo nutricional das aves, uma vez que a alimentação consiste em um dos principais fatores para o desenvolvimento eficiente e saudável dos animais.

O Capítulo 2, denominado “**ADIÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE ALTERNATIVOS E SEUS EFEITOS NO DESEMPENHO, NO RENDIMENTO DE CARCAÇA E DE PARTES E NA MORFOLOGIA DA MUCOSA INTESTINAL**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação com nucleotídeos na dieta sobre o desempenho, rendimento de carcaça e de partes e na morfologia do intestino delgado.

O Capítulo 3, denominado “**ADIÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE ALTERNATIVOS E SEUS EFEITOS NA TAXA DE TURNOVER DA MUCOSA INTESTINAL ANTES E APÓS LESÕES CAUSADAS POR COCCIDIOSE**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de nucleotídeos na dieta sobre a taxa de *turnover* do carbono da mucosa intestinal e conseqüentemente seu processo de renovação, utilizando-se a variação natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distintos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADJEI, A.A.; TAKAMINE, F.; YOKOYAMA, H.; CHUNG, S.Y.; ASATO, L.; SHINJO, S.; IMAMURA, T.; YAMAMOTO, S. Effect of intraperitoneally administered nucleoside-nucleotide on the recovery from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain 8985N infection in mice. **Journal Nutrition Science Vitaminol** (Tokyo), v.38, p.221-225, 1992.
- ADJEI, A.A.; TAKAMINE, F.; YOKOYAMA, H.; SHIOKAWA, K.; MATSUMOTO, Y.; ASATO, L.; SHINJO, S.; IMAMURA, T.; YAMAMOTO, S. The effects of oral RNA and intraperitoneal nucleoside-nucleotide administration on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.17, p.148-152, 1993a.
- ADJEI, A.A.; MATSUMOTO, Y.; KINA, T.; TAKAMINE, F.; YONABARU, M.; ASATO, L.; YOKOYAMA, H.; IMAMURA, T.; YAMAMOTO, S. Protection of BALB/c mice against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection by intraperitoneal administration of nucleoside-nucleotide mixture. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v.169, p.179-186, 1993b.
- ADJEI, A.A.; OHSHIRO, Y.; YAMAUCHI, K.; NAKASONE, Y.; SHIMADA, K.; IWANAGA, M.; YAMAMOTO, S. Intraperitoneal administration of nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in protein-deficient mice. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v.174, p.1-10, 1994.
- ADJEI, A.A.; YAMAMOTO, S. A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-free diet. **Journal of Nutrition**, v.125, p.42-48, 1995.
- ADJEI, A.A.; YAMAUCHI, K.; CHAN, Y.C.; KONISHI, M.; YAMAMOTO S. Comparative effects of dietary nucleoside-nucleotide mixture and its components on

endotoxin induced bacterial translocation and small intestinal injury in protein deficient mice. **Gut**, v.38, p.531-537, 1996.

ALTERNATIVA acertada. **Revista Globo Rural**, Rio de Janeiro, ano 16, n.191, set, p.47-51, 2001.

AMEHO, C.K.; ADJEL, A.A.; YAMAUCHI, K.; HARRISON, E.K.; KULKARNI, A.D.; SATO, S.; YAMAMOTO, S. Modulation of age-related changes in immune functions of protein-deficient senescence-accelerated mice by dietary nucleoside-nucleotide mixture supplementation. **British Journal of Nutrition**, v.77, p.795-804, 1997.

BARÓ, L.; JIMÉNEZ, J.; MARTÍNÉZ-FÉREZ, A.; BOZA, J.J. Componentes biologicamente activos de la leche materna. **Ars Pharmaceutica**, v.42, p.21-38, 2001.

BAYER, R.C.; CHAWAN, C.B.; BIRD, F.H; MUSGRAVE, S.D. Characteristics of the absorptive surface of the small intestine of the chicken from 1 day to 14 day weeks of age. **Poultry Science**, v.54, p.155-169, 1975.

BRUNSER, O.; ESPINOZA, J.; ARAYA, M.; CRUCHET, S.; GIL, A. Effect of dietary nucleotide supplementation on diarrhoeal disease in infants. **Acta Paediatrica**, v.83, p.926-933, 1994.

BUENO, J.; TORRES, M.; ALMENDROS, A.; CARMONA, R.; NUNEZ, M.C.; RIOS, A.; GIL, A. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultrastructural changes. **Gut**, v.35, p.926-933, 1994.

BUTOLO, J.E. Produção de frangos alternativos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel: CBNA, p. 75-82, 2003.

BURRELLS, C.; WILLIAMS, P.D.; FORNO, P.F. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonids. **Aquaculture**, v.199, p.159-169, 2001.

- CALDARA, F.R. **Efeito da glutamina sobre o turnover do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em tecidos corporais de leitões desmamados.** 2005. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 118p., 2005.
- CARVER, J.D.; COX, W.I.; BARNES, L.A. Dietary nucleotide effects upon murine natural killer cell activity and macrophage activation. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.14, p.18-22, 1990.
- CARVER, J.D. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. **Acta Paediatrica**. Suppl., v.88, p.83-88, 1999.
- CARVER, J.D.; WALKER, W.A. The role of nucleotides in human nutrition. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v.6, p.58-72, 1995.
- CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, p. 209-218, 2000.
- CARRIJO, A.S. **Técnica dos Isótopos Estáveis do Carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e Nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) em frangos de corte.** 2003. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 92p., 2003.
- CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; TRINCA, L.; SILVA, E.T. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.8, n.1, p.37-42, 2006.
- CARRIJO, A.S.; DUCATTI, C. Utilização de isótopos estáveis do carbono para a rastreabilidade de rações. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2007. p.289-307.

- CHEN, T.H.; HUANG, H.P.; MATSUMOTO, Y.; WU, S.H.; WANG, M.F.; CHUNG, S.Y.; UEZU, K.; MORIYAMA, T.; UEZU, E.; KORIN, T.; SATO, S.; YAMAMOTO, S. Effects of dietary nucleoside-nucleotide mixture on memory in aged and young memory deficient mice. **Life Science**, v.59, p.L325-L330, 1996.
- CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.12, p.133-149, 1957.
- CREAMER, B. The turnover of the epithelium of the small intestine. **British Medical Bulletin**, v.23, p.226-230, 1967.
- CRUZ, V.C.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; PINHEIRO, D.F.; SARTORI, J.R.; GONÇALVES, J.C. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. **Poultry Science**, v.83, p.1376-1381, 2004.
- DELL'ORTO, V.; DI GIANCAMILLO, A.; SAVOINI, G. Influence of nucleotides and glutamine dietary supplementation on gut health of weanling piglets. **Journal of Animal Science**, v.80, Suppl.1, p.220, 2002.
- DEMATTE FILHO, L.C.; MENDES, C.M.I. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.
- DENADAI, J.C. **Avaliação Metabólica de dietas C₃ e C₄ na formação do ovo (gema e albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono.** 2004. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- DENIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.42, p. 495-506, 1978.

- DUCATTI, C. **Medidas da variação natural da relação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em amostras orgânicas.** CANA/ESALQ, 1977, 118p. Dissertação de Mestrado.
- DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da ração $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em matéria orgânica e das razões $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.51, n.2, p.275-286, 1979.
- DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; MANCERA P.F.A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono – 13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, v.59. n.1, p. 29-33, jan./mar. 2002.
- DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais.** [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista, 203p., 2005.
- DUÉE, P.H.; DARCY-VRILLON, B.; BLACHIER, F.; MORE, L.M.T. Fuel selection in intestinal cells. **Proceeding of the Nutrition Society**, v.54, 83-94, 1995.
- FANSLOW, W.C.; KULKARNI, A.D.; VAN BUREN, C.T.; RUDOLPH, F.B. Effect of nucleotide restriction and supplementation on resistance to experimental murine candidiasis. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.12, p.49-52, 1988.
- GANNES, L.Z.; RIO. C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.119A, n.3, p. 725-737, 1998.
- GIL, A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56 (Suppl 3), p.S1-S4, 2002.
- GOTTMANN, R. **Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte.** 2007. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 37p., 2007.

- GUSTAFSON, R.H.; BOWEN, R.E. Antibiotic use in animal agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, v.83, p.531-541, 1997.
- HAWKINS, A.J.S.; DAY, A.J. The metabolic basis of genetics differences in growth efficiency among marine animals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.203, p.93-115, 1996.
- HETENYI JR, G.; PEREZ, G.; VRANIC, M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. **Physiological Reviews**, v.63, p.606-667, 1983.
- HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. **The Condor**, v.94, p.181-188, 1992.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 5º ed. São Paulo, 1991. 260p.
- KENNEDY, B.V.; KROUSE, H.R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.68, p.960-972, 1990.
- KISHIBUCHI, M.; TSUJINAKA, T.; YANO, M.; MORIMOTO, T.; IJIMA, S.; OGAWA, A.; SHIOZAKI, H.; MONDEN, M. Effects of nucleosides and a nucleotide mixture on gut mucosal barrier function on parenteral nutrition in rats. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.21, p.104-111, 1997.
- KULKARNI, A.D.; FANSLOW, W.C.; RUDOLPH, F.B.; VAN BUREN, C.T. Effect of dietary nucleotides on response to bacterial infections. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.10, p.169-171, 1986.
- LANOJO, F.M.; TIRAPEGUI, J. Proteínas e aminoácidos. **Ciências Nutricionais**, Sarver, p.41-69, 1998.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. Editora Sarver, São Paulo, 1995, 839p.

- LELEIKO, N.S.; MARTIN, B.A.; WALSH, M.; KAZLOW, P.; RABINOWITZ, S.; STERLING, K. Tissue-specific gene expression results from a purine- and pyrimidine-free diet and 6-mercaptopurine in the rat small intestine and colon. **Gastroenterology**, v.93, p.1014-1020, 1987.
- MACARI, M. Aspectos fisiológicos do sistema digestivo das aves. In: SEMANA ACADÊMICA VETERINÁRIA, 7, São Paulo, 1998. **Anais...** São Paulo: USP, 1998. p.4-18.
- MATSUMOTO, Y.; ADJEI, A.A.; YAMAUCHI, K.; KISE, M.; NAKASONE, Y.; SHINAGAWA, Y.; YOKOYAMA, H.; YAMAMOTO, S. A mixture of nucleosides and nucleotides increases bone marrow cell and peripheral neutrophil number in mice infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Nutrition**, v.125, p.817-822, 1995a.
- MATSUMOTO, Y.; ADJEI, A.A.; YAMAUCHI, K.; KISE, M.; YOKOYAMA, H.; SHINAGAWA, Y.; YAMAMOTO, S. Nucleoside-nucleotide mixture increases peripheral neutrophils in cyclophosphamide-induced neutropenic mice. **Nutrition**, v.11, p.296-299, 1995b.
- McCAULEY, R.; KONG, S.E.; HALL, J. Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.22, p.105-111, 1998.
- MITUO, M. A. O.; DUCATTI, C; SARTORI, J. R.; DENADAI, J. C.; GOTTMANN, R.; PELÍCIA, V. C. Incorporação do carbono-13 em músculo peitoral e sangue de frangos de corte no período inicial de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44, 2007, Jaboticabal. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2007. 01-CDROOM.
- MURRAY, R.K. Biomoléculas e métodos bioquímicos. **Bioquímica**. São Paulo: Atheneu, p.4-11, 1990.

- NORTON, R.; LEITE, J.; VIEIRA, E.; BAMBIRRA, E.; MOURA, C.; PENNA, G.; PENNA, F. Use of nucleotides in weanling rats with diarrhea induced by a lactose overload: effect on the evolution of diarrhea and weight and on the histopathology of intestine, liver and spleen. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, p.195-202, 2001.
- NUNEZ, M.C.; AYUDARTE, M.V.; MORALES, D.; SUAREZ, M.D.; GIL, A. Effect of dietary nucleotides on intestinal repair in rats with experimental chronic diarrhea. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.14, p.598-604, 1990.
- OGOSHI, S.; IWASA, M.; KITAGAWA, S.; OHMORI, Y.; MIZOBUCHI, S.; IWASA, Y.; TAMIYA, T. Effects of total parenteral nutrition with nucleoside and nucleotide mixture on D-galactosamine-induced liver injury in rats. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.12, p.53-57, 1988.
- OHYANAGI, H.; NISHIMATSU, S.; KANBARA, Y.; USAMI, M.; SAITOH, Y. Effects of nucleosides and a nucleotide on DNA and RNA syntheses by the salvage and de novo pathway in primary monolayer cultures of hepatocytes and hepatoma cells. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.13, p.51-58, 1989.
- O'LEARY, M.H. Carbon isotope fractionation plants. **Phytochemistry**, v.20, n.4, p.553-567, 1981.
- OLIVEIRA, R.P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. 2005. 109 f. Tese. (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- ORTEGA, M.A.; GIL, A.; SANCHEZ-POZO, A. Maturation status of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides. **Life Science**, v.56, p.1623-1630, 1995.

- PIZZINI, R.P.; KUMAR, S.; KULKARNI, A.D.; RUDOLPH, F.B.; VAN BUREN, C.T. Dietary nucleotides reverse malnutrition and starvation-induced immunosuppression. **Archives of Surgery**, v.125, p.86-89, 1990.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v.51(1-3), p. 215-236, 1997.
- PODOLSKY, D.K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, many questions. **Animal Journal Physiologic**, v.264, p.G179-G186, 1993.
- ROMER, A.S.; PARSONS, T.S. **Anatomia Comparada dos Vertebrados**. México, Interamericana, 1981.
- RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; RECH, J.L.; GONÇALVES, F.M.; DELGADO, A.D.; ROSA, E.R.; ZAUKE, N.; RIBEIRO, C.L.G.; SILVA, R.R.; DALLMANN, P.R. Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de levedura na dieta. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, p349-355, 2006.
- SANDERSON, I.R.; HE, Y. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. **Journal of Nutrition**, v.124, p.131S-137S, 1994.
- SILVA, J. J. **Determinação da fase lactente - ruminante em cordeiros pelas técnicas do $\delta^{13}\text{C}$ e micro - histologia fecal**. 2003. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two Categories of C/C Ratios for Higher Plants. **Plant Physiology**, v.47, p.380-384, 1971.
- STEIN, H.H.; MATEO, C.D. Nucleotides may have role in nutrition of young pigs. **Feedstuffs**, v.76, p.11-14, 2004.

- STEIN, H.H.; KIL, D.Y. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2. **Animal Biotechnology**, v.17, p.217-231, 2006.
- TANAKA, M.; LEE, K.; MARTINEZ-AUGUSTIN, O.; HE, Y.; SANDERSON, I.R.; WALKER, W.A. Exogenous nucleotides alter the proliferation, differentiation and apoptosis of human small intestinal epithelium. **Journal of Nutrition**, v.126, p.424-433, 1996.
- TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W.; TESDAHL, K.G.; SLADE, N.A. Fractionation and turnover of stable carbon isotope in animal tissues: implication for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. **Oecologia**, v.57, p.32-37, 1983.
- TSUJINAKA, T.; IJIMA, S.; KIDO, Y. Role of nucleoside and nucleotide mixture in intestinal mucosal growth under total parenteral nutrition. **Nutrition**, v.9, p.532-535, 1993.
- TSUJINAKA, T.; KISHIBUCHI, M.; IJIMA, S.; YANO, M.; MONDEN, M. Role of supplementation of a nucleic acid solution on the intestinal mucosa under total parenteral nutrition. **Nutrition**, v.13, p.369-371, 1997.
- TYRRELL H.F.; PELLETIER G.; CHEVALIER, R.; MARCELL, C.; GAGNON, M. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, suppl. p. 127-129, 1984.
- UAUY, R.; STRINGEL, G.; THOMAS, R.; QUAN, R. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.10, p.497-503, 1990.
- UAUY, R.; QUAN, R.; GIL, A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **Journal of Nutrition**, v.124, p.1436S-1441S, 1994a.
- UAUY, R. Nonimmune system responses to dietary nucleotides. **Journal of Nutrition**, v.124, p.157S-159S, 1994b.

- UNI, Z.; GANOT, S.E.; SJLAN, D. Posthach development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v.77, p.75-82, 1998.
- UNI, Z. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. **British Poultry Science**, v.41, p.410-415, 2000.
- VAN BUREN, C.T.; KULKARNI, A.D.; SCHANDLE, V.B.; RUDOLPH, F.B. The influence of dietary nucleotides on cell-mediated immunity. **Transplantation**, v.36, p.350-352, 1983.
- VAN BUREN, C.T.; KULKARNI, A.D.; FANSLOW, W.C.; RUDOLPH, F.B. Dietary nucleotides, a requirement for helper/inducer T lymphocytes. **Transplantation**, v.40, p.694-697, 1985.
- VAN BUREN, C.T.; KULKARNI, A.D.; RUDOLPH, F.B. The role of nucleotides in adult nutrition. **Journal of Nutrition**, v.124, p.160S-164S, 1994.
- VOGEL, J.C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D., editors. Stable isotopes and plant carbon-water relations. **San Diego: Academic Press Inc.**, p. 29-46, 1993.
- WU, X.; YUE, G.; SH,I Y. A preliminary study on nutritive role of dietary exogenous nucleotides to young chicken. **Chinese Journal of Animal Science**, v.37, p.15-17, 2001.
- YAMAMOTO, S.; ADJEI, A.A.; YOKOYAMA, H.; AHAGON, K.; CHANG, Y.C.; IMAMURA, T. Nucleoside-nucleotide mixture and its components and response to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice. **Nutrition**, v.9, p.524-527, 1993.
- YAMAUCHI, K.; ADJEI, A.A.; AMEHO, C.K.; CHAN, Y.C.; KULKARNI, A.D.; SATO, S.; OKAMOTO, K.; YAMAMOTO, S. A nucleoside-nucleotide mixture and its

components increase lymphoproliferative and delayed hypersensitivity responses in mice. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1571-1577, 1996.

YAMAUCHI K, K.; ADJEI, A.A.; AMEHO, C.K.; SATO, S.; OKAMOTO, K.; KAKINOHANA, S.; YAMAMOTO, S. Nucleoside-nucleotide mixture increases bone marrow cell number and small intestinal RNA content in protein-deficient mice after an acute bacterial infection. **Nutrition**, v.14, p.270-275, 1998.

YU, I.T.; WU, J.F.; YANG, P.C.; LIU, C.Y.; LEE, D.N.; YEN, H.T. Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titres of weaned pigs. **Animal Science**, v.75, p.379-385, 2002.

ZUANON, J.A. **Turnover de carbono em tecido muscular de alevinos de tilapias do Nilo**. 2003. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura da UNESP Jaboticabal, 96p. 2003.

CAPÍTULO 2

**ADIÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE
ALTERNATIVOS E SEUS EFEITOS NO DESEMPENHO, NO
RENDIMENTO DE CARCAÇA E DE PARTES E NA MORFOLOGIA
DA MUCOSA INTESTINAL**

Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos no desempenho, no rendimento de carcaça e de partes e na morfologia da mucosa intestinal

Nucleotides in of alternative broilers diet and their effects on the performance, carcass and parts yield and on the intestinal mucosa morphology

Título curto: Nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos

Área do conhecimento: Nutrição

Categoria: Artigo Científico

RESUMO

Diante da crescente proibição da utilização dos antibióticos promotores de crescimento na produção animal, a busca por alternativas naturais é pauta atual entre os pesquisadores. Sobre estes aspectos, os nucleotídeos tornam-se um suplemento interessante na criação de frangos alternativos, pois vem demonstrando efeito benéfico sobre a integridade, desenvolvimento e *turnover* celular intestinal, entre outros. Com o presente trabalho, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com nucleotídeos na dieta sobre o desempenho, rendimento de carcaça e de partes e na morfologia da mucosa do intestino delgado de frangos de corte criados no sistema alternativo. Foram utilizados 600 pintos de corte machos da linhagem Ross distribuídos em delineamento em blocos casualizados com seis tratamentos (rações sem promotor de crescimento antimicrobiano Surmax[®] e com adição de 0; 0,04; 0,05; 0,06 e 0,07% de nucleotídeos e uma ração com promotor de crescimento antimicrobiano e sem adição de nucleotídeos), com quatro repetições de 25 aves cada. As rações foram formuladas a base de milho e farelo de soja sem ingredientes de origem animal e sem adição de anticoccidianos. Com três dias de idade as aves foram vacinadas contra coccidiose via água de bebida. As análises estatísticas dos dados de desempenho, rendimento de carcaça e partes e morfologia intestinal foram feitas pela análise de variância 5% de significância. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis estudadas. Numericamente observou-se maior ganho de peso (GPD) e melhor conversão (CA) alimentar para o tratamento com 0,05% de inclusão de nucleotídeos aos 7 dias de idade e aos 21 e 42 dias de idade, maior GPD para o tratamento com 0,07% de inclusão. Diante desses resultados conclui-se que os nucleotídeos adicionados à dieta não influenciam no rendimento de carcaça e de partes e na morfologia intestinal aos 42 dias de idade. Porém em níveis iguais ou superiores a 0,05% os nucleotídeos favorecem o desempenho de frangos de corte alternativos, não diferindo dos frangos criados com dieta convencional contendo antibióticos promotores de crescimento.

Palavras-chave: desempenho, frangos de corte alternativos, morfologia intestinal, nucleotídeos

ABSTRACT

In view of increasing ban of antibiotics use as growth promoters in animal production, the demand for natural alternatives is the inquiry most current among researchers. Under these aspects, the nucleotides become an interesting supplement for the breeding of alternative broilers, because their demonstrated beneficial effect on the integrity, development and intestinal cell turnover, among others. The present study aimed to evaluate the effect of supplementation with nucleotides in broiler diet on raised performance, carcass and parts yield and on the morphology of intestinal mucosa of broilers in alternative breeding system. Six hundred 1-day-old male Cobb chicks were allotted in a randomized block design with six treatments (diet without antimicrobial growth promoter, and with addition of 0; 0.04; 0.05; 0.06 and 0.07% nucleotides and diet with antimicrobial growth promoter and without nucleotides addition), with four replicates of 25 chickens each. Diets were formulated utilizing corn and soybean meal without animal origin ingredients and without addition of anticoccidia drugs. Chicks were vaccinated against Coccidiosis by drinking water at three-day old. Statistical analyses of performance, carcass yield and parts and intestinal mucosa morphology were performed by analysis of variance and means compared by Tukey test was ($P < 0.05$). There were no significant differences between the treatments for these variables. Numerically there was higher weight gain and better conversion for treatments with 0.05% nucleotides inclusion to 7 days of age and 21 and 42 days, higher weight gain for treatments with 0.07% of inclusion. It was concluded that the nucleotides added to the diet did not influence carcass and parts yield and intestinal mucosa morphology, however in levels greater than or equal to 0.05%, nucleotides increase performance of alternative broilers, and they did not differ from the broilers in conventional breeding system, containing growth promoters' antibiotics.

Key-words: alternative broilers, intestinal morphology, nucleotides, performance

INTRODUÇÃO

A integridade dos mecanismos digestivos e absorptivos do trato digestivo, ou seja, a integridade das células epiteliais da mucosa gastrintestinal é de vital relevância para o bom desempenho das aves (Maiorka et al., 2002). Portanto, o desenvolvimento do trato gastrintestinal das aves é essencial para que esses animais possam expressar seu alto potencial genético para ganho de peso e conversão alimentar.

Segundo Maiorka et al. (2002), o desenvolvimento da mucosa intestinal depende, além de reguladores hormonais, dos efeitos dos fatores tróficos dos nutrientes que estimulam o processo mitótico aumentando o número de células e o tamanho dos vilos; os efeitos diretos destes fatores estão relacionados com descamação, nutrição local e estimulação do crescimento por nutrientes específicos.

Distúrbios nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse fisiológico ou por patógenos, podem provocar diminuição na capacidade de digestão e absorção dos nutrientes. Daí a importância das pesquisas com produtos e/ou nutrientes que auxiliam, por meio de mecanismos específicos, a superar desafios que favorecem a manifestação de problemas entéricos nos animais.

Diante da crescente proibição da utilização dos antibióticos promotores de crescimento na produção animal, a busca por alternativas naturais é pauta mais atual entre os pesquisadores. Sobre estes aspectos, os nucleotídeos tornam-se um suplemento interessante para a criação de frangos alternativos (aves criadas com ração sem antibióticos promotores de crescimento e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal (Demattê Filho e Mendes, 2001), pois vêm demonstrando efeito benéfico na integridade, desenvolvimento e *turnover* celular intestinal, entre outros). Segundo Stein e Kil (2006), dietas suplementadas com nucleotídeos podem ser usadas para reduzir uso de antibióticos promotores de crescimento em dietas de leitões recém-desmamados.

Nucleotídeos, além do seu papel como subunidades dos ácidos nucléicos (DNA e RNA), também exercem funções dentro das células como transportadores de energia, componentes de cofatores enzimáticos e mensageiros celulares secundários (Lehninger et

al., 1995). Fontes de nucleotídeos exógenos não são consideradas essenciais para a nutrição e, apenas recentemente, pesquisadores vêm provando o contrário.

Alguns trabalhos demonstram que ao suplementar dieta de animais com nucleotídeos ocorre maior desenvolvimento da mucosa intestinal e proliferação das células das criptas (Tsujinaka et al., 1993; Dell'Orto et al., 2002), aumento da altura das vilosidades intestinais e melhora na resposta imune com melhor eficiência na absorção dos nutrientes aumentando o ganho de peso (Yu et al., 2002), sendo considerados essencialmente importantes para os enterócitos durante desenvolvimento, maturação e reparo intestinal (McCauley et al., 1998).

Extrato de levedura adicionado à dieta também vem demonstrando efeito benéfico para frangos de corte com aumento no ganho de peso e melhor conversão alimentar (Rutz et al., 2006). Os autores sugerem que esse melhor desempenho pode ocorrer em decorrência do aumento das vilosidades, propiciado pela ação dos nucleotídeos presentes no extrato de leveduras, favorecendo o aumento da capacidade de digestão e de absorção dos nutrientes por ampliar a área de superfície absorptiva.

Para Wu et al. (2001), a capacidade de síntese de nucleotídeos pelos frangos jovens é suficiente para seu crescimento e desenvolvimento. Porém, ainda faltam informações nessa área, havendo a necessidade de se fazer novos experimentos com frangos de corte utilizando-se os nucleotídeos purificados ao invés de leveduras, suplementando-os até a idade de abate e sem a utilização de promotores de crescimento antimicrobianos para melhor avaliação dos benefícios na dieta.

Deste modo, com o presente trabalho objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com nucleotídeos na dieta sobre o desempenho, rendimento de carcaça e de partes e na morfologia da mucosa do intestino delgado de frangos alternativos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na UNESP de Botucatu - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, no Laboratório de Nutrição de Aves, no período de julho a setembro de 2006.

Em um galpão experimental, com 24 boxes de $2,5\text{m}^2$, foram alojados 600 pintos de corte machos, da linhagem Ross, com um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Bouba aviária, sendo distribuídas 25 aves/boxe, na densidade de 10 aves/m^2 , conforme recomendação para criação alternativa de frangos de corte (Demattê Filho e Mendes, 2001). Com três dias de idade as aves foram vacinadas contra Coccidiose (Paracox 5®-Schering Plough Coopers) e com oito e 14 dias de idade receberam vacina reforço contra Gumboro (Cevac Gumbo L® e Cevac IBD L® da Ceva Santé Animale, respectivamente).

O aquecimento durante o período inicial foi proporcionado por lâmpadas infravermelhas, uma para cada boxe. O fornecimento de água e ração inicial foi feito por meio de bebedouro tipo copo de pressão e comedouro tipo tubular infantil respectivamente, um para cada boxe. Estes equipamentos foram substituídos gradativamente por bebedouro pendular e comedouro tubular definitivos, um para cada boxe, respectivamente. A temperatura e a ventilação foram controladas manualmente, manejando-se as cortinas laterais do galpão. O programa de luz foi natural, sem fornecimento de luz adicional. Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental.

As aves foram distribuídas em delineamento em blocos casualizados com seis tratamentos: rações sem promotor de crescimento antimicrobiano e com adição de 0; 0,04; 0,05; 0,06 e 0,07% de nucleotídeos (AccelerAid® – FormilVet) e uma ração com promotor de crescimento antimicrobiano (Surmax® - Elanco) e sem adição de nucleotídeos, com quatro repetições de 25 aves cada, totalizando 100 aves por tratamento.

O período de criação foi dividido em quatro fases: pré-inicial, inicial, crescimento e final e as exigências nutricionais das aves foram estabelecidas para cada fase de criação de acordo com as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno et al. (2005), não sendo utilizados ingredientes de origem animal, conforme recomendação para criação alternativa de frangos de corte (Demattê Filho e Mendes, 2001). A composição do AccelerAid® está apresentado na Tabela 1 e a composição das rações experimentais nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 para as fase pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente.

Tabela 1. Níveis de garantia do AccelerAid®.

	Mínimo (%)	Máximo (%)
Bixina	0,720	0,900
Dióxido de Silício	51,192	-
Nucleotídeos Totais	22,500	-
Óxido de Alumínio	8,532	-

Tabela 2. Composição e valores calculados das rações para a fase pré-inicial (1 a 7 dias de idade) .

INGREDIENTES (%)	Níveis de inclusão de Nucleotídeos					
	CO ¹		Alternativa			
	0,0%	0,0%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%
Milho	55,843	55,843	55,843	55,843	55,843	55,843
AccelerAid®	0,000	0,000	0,150	0,200	0,250	0,300
Farelo de soja	37,492	37,492	37,492	37,492	37,492	37,492
Óleo de soja	2,160	2,160	2,160	2,160	2,160	2,160
NaCl	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520
Supl. vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,910	0,910	0,910	0,910	0,910	0,910
Fosfato bicálcico	1,950	1,950	1,950	1,950	1,950	1,950
DL-metionina	0,240	0,240	0,240	0,240	0,240	0,240
L-lisina	0,375	0,375	0,375	0,375	0,375	0,375
Cloreto de colina ⁴	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Promotor de crescimento ⁵	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Caulim ⁶	0,292	0,300	0,150	0,100	0,050	0,000
Valores calculados						
EM (kcal/kg)	2950	2950	2950	2950	2950	2950
PB (%)	22,04	22,04	22,04	22,04	22,04	22,04
Cálcio (%)	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Fósforo disponível (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
Aminoácidos sulfurados (%)	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91
Lisina (%)	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47
Potássio (%)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Sódio (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Cloro (%)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Ác. linoléico (%)	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44

¹Ração Convencional com promotor de crescimento ²Suplemento vitamínico Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): vit. A, 15.000 UI; vit. D₃, 3.000 UI; vit. E, 30 mg; vit. K₃, 4 mg; B₁, 3 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 6 mg; vit. B₁₂, 30 mcg; niacina, 40 mg; ac. fólico, 1,5 mg; ác. pantotênico, 15 mg; biotina, 120 mcg; vit. C, 50 mg; antioxidante. ³Suplemento mineral Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): selênio, 180 mcg; iodo, 700 mcg; ferro, 48 mg; cobre, 10 mg; manganês, 78 mg; zinco, 55 mg. ⁴Cloreto de colina (70%). ⁵Surmax® Elanco. ⁶Veículo em substituição ao nucleotídeo e ao promotor de crescimento.

Tabela 3. Composição e valores calculados das rações para a fase inicial (8-21 dias de idade).

INGREDIENTES (%)	Níveis de inclusão de Nucleotídeos					
	CO ¹	Alternativa				
	0,0%	0,0%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%
Milho	59,025	59,025	59,025	59,025	59,025	59,025
AccelerAid®	0,000	0,000	0,150	0,200	0,250	0,300
Farelo de soja	34,520	34,520	34,520	34,520	34,520	34,520
Óleo de soja	2,375	2,375	2,375	2,375	2,375	2,375
NaCl	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Supl. vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880
Fosfato bicálcico	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800
DL-metionina	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175
L-lisina	0,215	0,215	0,215	0,215	0,215	0,215
Cloreto de colina ⁴	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Promotor de crescimento ⁵	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Caulim ⁶	0,292	0,300	0,150	0,100	0,050	0,000
Valores calculados						
EM (kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3000
PB (%)	20,79	20,79	20,79	20,79	20,79	20,79
Cálcio (%)	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Fósforo disponível (%)	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Metionina (%)	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Aminoácidos sulfurados (%)	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Lisina (%)	1,27	1,27	1,27	1,27	1,27	1,27
Potássio (%)	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Sódio (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Cloro (%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Ác. linoléico (%)	2,59	2,59	2,59	2,59	2,59	2,59

¹Ração Convencional com promotor de crescimento ²Suplemento vitamínico Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): vit. A, 15.000 UI; vit. D₃, 3.000 UI; vit. E, 30 mg; vit. K₃, 4 mg; B₁, 3 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 6 mg; vit. B₁₂, 30 mcg; niacina, 40 mg; ac. fólico, 1,5 mg; ác. pantotênico, 15 mg; biotina, 120 mcg; vit. C, 50 mg; antioxidante. ³Suplemento mineral Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): selênio, 180 mcg; iodo, 700 mcg; ferro, 48 mg; cobre, 10 mg; manganês, 78 mg; zinco, 55 mg. ⁴Cloreto de colina (70%). ⁵Surmax® Elanco. ⁶Veículo em substituição ao nucleotídeo e ao promotor de crescimento.

Tabela 4. Composição e valores calculados das rações para a fase crescimento (22-35 dias de idade).

INGREDIENTES (%)	Níveis de inclusão de Nucleotídeos					
	CO ¹	Alternativa				
		0,0%	0,0%	0,04%	0,05%	0,06%
Milho	61,844	61,844	61,844	61,844	61,844	61,844
AccelerAid®	0,000	0,000	0,150	0,200	0,250	0,300
Farelo de soja	30,928	30,928	30,928	30,928	30,928	30,928
Óleo de soja	3,343	3,343	3,343	3,343	3,343	3,343
NaCl	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480	0,480
Supl. vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,830	0,830	0,830	0,830	0,830	0,830
Fosfato bicálcico	1,670	1,670	1,670	1,670	1,670	1,670
DL-metionina	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175
L-lisina	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
Cloreto de colina ⁴	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Promotor de crescimento ⁵	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Caulim ⁶	0,292	0,300	0,150	0,100	0,050	0,000
Valores calculados						
EM (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PB (%)	19,41	19,41	19,41	19,41	19,41	19,41
Cálcio (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Fósforo disponível (%)	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Metionina (%)	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Aminoácidos sulfurados (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Lisina (%)	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19
Potássio (%)	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Sódio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloro (%)	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Ác. linoléico (%)	3,14	3,14	3,14	3,14	3,14	3,14

¹Ração Convencional com promotor de crescimento ² Suplemento vitamínico Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): vit. A, 15.000 UI; vit. D₃, 3.000 UI; vit. E, 30 mg; vit. K₃, 4 mg; B₁, 3 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 6 mg; vit. B₁₂, 30 mcg; niacina, 40 mg; ac. fólico, 1,5 mg; ác. pantotênico, 15 mg; biotina, 120 mcg; vit. C, 50 mg; antioxidante. ³ Suplemento mineral Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): selênio, 180 mcg; iodo, 700 mcg; ferro, 48 mg; cobre, 10 mg; manganês, 78 mg; zinco, 55 mg. ⁴Cloreto de colina (70%). ⁵Surmax® Elanco. ⁶Veículo em substituição ao nucleotídeo e ao promotor de crescimento.

Tabela 5. Composição e valores calculados das rações para a fase final (36-42 dias de idade).

INGREDIENTES (%)	Níveis de inclusão de Nucleotídeos					
	CO ¹	Alternativa				
	0,0%	0,0%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%
Milho	65,920	65,920	65,920	65,920	65,920	65,920
AccelerAid®	0,000	0,000	0,150	0,200	0,250	0,300
Farelo de soja	27,077	27,077	27,077	27,077	27,077	27,077
Óleo de soja	3,318	3,318	3,318	3,318	3,318	3,318
NaCl	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Supl. vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,785	0,785	0,785	0,785	0,785	0,785
Fosfato bicálcico	1,520	1,520	1,520	1,520	1,520	1,520
DL-metionina	0,165	0,165	0,165	0,165	0,165	0,165
L-lisina	0,275	0,275	0,275	0,275	0,275	0,275
Cloreto de colina ⁴	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promotor de crescimento ⁵	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Caulim ⁶	0,300	0,300	0,150	0,100	0,050	0,000
Valores calculados						
EM (kcal/kg)	3150	3150	3150	3150	3150	3150
PB (%)	18,03	18,03	18,03	18,03	18,03	18,03
Cálcio (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Fósforo disponível (%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Metionina (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Aminoácidos sulfurados (%)	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Lisina (%)	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Potássio (%)	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloro (%)	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Ác. linoléico (%)	3,18	3,18	3,18	3,18	3,18	3,18

¹Ração Convencional com promotor de crescimento ² Suplemento vitamínico Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): vit. A, 15.000 UI; vit. D₃, 3.000 UI; vit. E, 30 mg; vit. K₃, 4 mg; B₁, 3 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 6 mg; vit. B₁₂, 30 mcg; niacina, 40 mg; ac. fólico, 1,5 mg; ác. pantotênico, 15 mg; biotina, 120 mcg; vit. C, 50 mg; antioxidante. ³ Suplemento mineral Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): selênio, 180 mcg; iodo, 700 mcg; ferro, 48 mg; cobre, 10 mg; manganês, 78 mg; zinco, 55 mg. ⁴Cloreto de colina (70%). ⁵Surmax® Elanco. ⁶Veículo em substituição ao nucleotídeo e ao promotor de crescimento.

Os dados de desempenho foram obtidos e analisados nos períodos acumulados de 1 a 7; 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Para tanto, foram colhidas e calculadas as seguintes variáveis: peso corporal (as aves de cada boxe foram pesadas, juntas, no alojamento e no final de cada período); ganho de peso (foi obtido pela diferença entre o peso ao final de cada período e o peso inicial no alojamento); consumo de ração (diferença entre o total de ração fornecida e as sobras de ração no final de cada período); conversão alimentar (calculada pela razão entre o total de ração fornecida e o ganho de peso no período e corrigida pelo peso das aves mortas no período). A mortalidade foi anotada diariamente e expressa em percentual, pela relação entre o número de aves mortas no período e o número inicial de aves. As aves mortas foram necropsiadas para verificar a *causa mortis*. O fator de produção foi calculado pela razão entre o ganho de peso médio diário multiplicado pela viabilidade e pela conversão alimentar e o resultado multiplicado por cem.

Aos 42 dias de idade foram retiradas ao acaso, cinco aves por boxe, sendo 20 aves por tratamento, totalizando 120 aves. Estas foram identificadas individualmente nas patas, com de anilhas numeradas, submetidas a jejum de oito horas e pesadas em balança apropriada imediatamente antes do abate, que foi efetuado no abatedouro experimental de aves da UNESP - Botucatu - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. O abate foi feito por meio de sangria, após insensibilização por choque elétrico. Após a evisceração e resfriamento em câmara fria (sem passar pelo *chiller*), as carcaças foram pesadas e cortadas. Todos os procedimentos de abate, evisceração e cortes foram do tipo industrial.

Para cálculo de rendimento de carcaça, foi tomado como base o peso vivo na plataforma, imediatamente antes do abate, e o peso da carcaça eviscerada e resfriada, sem cabeça, pescoço e pés. Ainda, foram obtidos os seguintes dados de rendimento em relação ao peso vivo: pés, cabeça + pescoço e gordura abdominal. Os rendimentos de peito, pernas (coxa e sobrecoxa), dorso e asas foram obtidos em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Também aos 42 dias de idade foram pesadas e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, uma ave/boxe, totalizando quatro aves/tratamento para colheita dos seguintes órgãos: fígado, pró-ventrículo, moela, pâncreas, intestino delgado e intestino grosso. O fígado foi pesado imediatamente após ter sido retirado. O pró-ventrículo e moela foram abertos e pesados após remoção do conteúdo. Após remoção, os intestinos delgado e

grosso foram separados por secções no local onde o duodeno emerge da moela e no início do ceco, sendo posteriormente pesados e medidos. O comprimento do intestino grosso foi considerado como o comprimento do cólon e reto somado ao comprimento dos cecos.

Para as análises histológicas foram colhidos dois segmentos de três centímetros do duodeno, do jejuno e do íleo, cortados transversalmente e longitudinalmente, abertos pela sua borda mesentérica, lavados e estendidos pela túnica serosa, os quais foram fixados em solução de formol à 10% por 24 horas e lavados em água corrente por mais 24 horas. Posteriormente, foram transferidos para álcool 70%, desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast. Com o uso do micrótomo foram obtidos cortes de sete micrômetros de espessura, os quais foram corados com ácido periódico Schiff (PAS). Nestes cortes, com microscópio ótico acoplado a sistema analisador de imagens (DMLB-Leica QWIN) e a um computador, foram medidas a altura e a área das vilosidades, a profundidade das criptas e foi feita a contagem de enterócitos e células calicimorfes do duodeno, jejuno e íleo, para determinação da relação células caliciformes/enterócitos. As medidas de altura das vilosidades foram tomadas a partir da região basal coincidente com a porção superior das criptas, de sua base até a região de transição cripta:vilosidade (Loddi, 1998). A medida da área foi realizada contornando toda a borda da vilosidade na qual se encontram as microvilosidades (Uni et al., 1995).

Para as análises estatísticas dos dados de desempenho, rendimento de carcaça e partes e morfologia intestinal foram realizadas análises de variância ao nível de significância de 5% com auxílio do procedimento GLM do software SPSS 13.0 for Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho

Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre as variáveis de desempenho analisadas aos 7, 21 e 42 dias de idade (Tabela 6). Numericamente, observa-se maior ganho de peso diário (GPD) e melhor conversão alimentar (CA) para o tratamento com 0,05% de inclusão de nucleotídeos aos 7 dias de idade e, aos 21 e 42 dias de idade, maior GPD para o

tratamento com 0,07% de inclusão. Aos 42 dias de idade, os maiores valores numéricos de fator de produção (FP) foram observados nos tratamentos com inclusão de 0,05; 0,06 e 0,07% de nucleotídeos, muito próximos ao convencional (CO), e superiores aos das aves com 0,0 e 0,04% (Tabela 6). Esses resultados indicam efeito benéfico do uso de nucleotídeos em níveis iguais ou superiores a 0,05% no desempenho de frangos de corte, efeito este que pode ter ocasionado pela melhora na integridade intestinal e conseqüentemente melhora na digestão e absorção dos nutrientes. No entanto, Zavarize et al. (2007) não observaram melhora no desempenho de frangos de corte recebendo dieta suplementada com 0,05% nucleotídeos quando comparado aos animais recebendo dieta não suplementada. Por outro lado, Yu et al. (2002) observaram melhora no ganho de peso de leitões desmamados ao suplementar a dieta com 1000 ppm de nucleotídeos combinados com 1,0% de glutamina. Outros autores observaram melhora no desempenho de frangos de corte (Rutz et al., 2006) e de suínos na fase de creche e terminação (Carlson et al., 2005) ao fornecerem extrato de leveduras aos animais e atribuíram o melhor desempenho, ao efeito benéfico dos nucleotídeos presentes no extrato de leveduras.

Rendimento de Carcaça e de Partes

Não houve efeito de inclusão de nucleotídeos para rendimento de carcaça e partes (Tabela 7). Já Rutz et al. (2006), observaram que, numericamente, as aves que receberam extrato de leveduras (fonte de nucleotídeos) apresentaram maior rendimento de carcaça, coxa, sobrecoxa, asa e peito comparado às aves que não receberam o extrato. Contudo, vale lembrar que o extrato de leveduras possui em sua composição outros nutrientes que vão além dos nucleotídeos, como aminoácidos, vitaminas e minerais, ao quais podem contribuir com o melhor rendimento de carcaça.

Os resultados deste experimento demonstraram que frangos de corte criados sem desafio e recebendo dieta adequadamente balanceada podem expressar todo seu potencial genético para rendimento de carcaça e partes independente da suplementação com nucleotídeos.

Tabela 6: Valores médios de peso final (PF), ganho de peso médio (GPM), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), mortalidade (MO) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.

Variável	Nível de inclusão de Nucleotídeos						C.V. (%)
	CO ¹	Alternativa					
		0,00%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%	
1 a 7 dias de idade							
PI, g	45,6	45,6	45,5	45,4	45,6	45,8	0,58
PF, g	175	172	173	180	170	178	4,18
GPM, g	129	126	128	135	125	133	5,66
CR, g	151	146	151	151	150	151	4,51
CA	1,170	1,160	1,187	1,120	1,201	1,147	4,72
MO, % ²	0,71	1,06	1,06	0,71	0,71	0,71	50,80
1 a 21 dias de idade							
PF, g	868	844	838	869	877	895	4,96
GPM, g	823	799	793	824	831	850	5,41
CR, g	1.176	1.154	1.166	1.193	1.170	1.225	4,35
CA	1,436	1,452	1,478	1,448	1,413	1,442	2,19
MO, % ²	1,77	1,77	1,81	0,71	1,06	0,71	56,45
1 a 42 dias de idade							
PF, g	2.865	2.810	2.766	2.846	2.819	2.871	4,48
GPM, g	2.820	2.764	2.720	2.801	2.774	2.825	4,55
CR, g	4.946	4.852	4.860	4.945	4.897	5.017	3,49
CA	1,764	1,778	1,824	1,780	1,769	1,787	1,77
MO, % ²	1,77	2,67	2,50	1,41	1,06	1,06	62,69
FP ³	369	344	325	367	369	373	8,29

¹ Ração Convencional com promotor de crescimento. ² Dados percentuais submetidos à transformação $(x+0,5)^{1/2}$, antes da ANAVA. ³ Fator de Produção = $((GPD \times Viabilidade)/CA) \times 100$.

Tabela 7: Valores médios de rendimento de carcaça e partes, segundo os tratamentos aos 42 dias de idade.

Variável	Nível de inclusão de Nucleotídeos						C.V. (%)
	CO ¹	Alternativa					
		0,00%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%	
Carcaça (%) ¹	70,80	69,25	70,26	71,33	70,10	70,25	3,94
Cabeça e pescoço (%) ²	5,82	5,77	5,65	5,62	5,75	5,87	8,51
Pés (%) ¹	3,72	3,70	3,67	3,71	3,65	3,69	7,75
Gordura abdominal (%) ²	1,93	1,97	1,81	1,75	1,66	1,70	23,65
Asas (%) ³	11,63	11,66	11,56	11,35	11,63	11,42	4,79
Peito (%) ³	34,79	35,89	37,23	37,19	36,69	36,60	11,47
Pernas (%) ³	31,41	31,28	31,29	30,84	31,81	31,74	5,00
Dorso (%) ³	20,49	20,88	20,20	20,44	20,08	20,09	4,85

¹ Ração Convencional com promotor de crescimento. ² Rendimento de carcaça eviscerada, cabeça e pescoço, pés ou gordura abdominal (%) = $(\text{peso da carcaça eviscerada, cabeça e pescoço, pés ou da gordura abdominal, g} / \text{peso vivo, g}) \times 100$. ³ Rendimento das partes (%) = $(\text{peso das partes, g} / \text{peso da carcaça eviscerada, g}) \times 100$.

Peso de Órgãos e Morfologia Intestinal:

Não foram observadas diferenças significativas para peso relativo dos órgãos digestivos (Tabela 8) e para características morfológicas do intestino (Tabela 9) aos 42 dias de idade. Esses resultados diferem dos encontrados por outros autores trabalhando com ratos e suínos. Uauy et al. (1990), ao fornecerem dieta suplementada com 0,8% de nucleotídeos para ratos, observaram maior altura das vilosidades intestinais dos ratos que receberam a dieta suplementada quando comparados com os que receberam dieta não suplementada. Tsujinaka et al. (1993), ao suplementarem ratos via parenteral com nucleotídeos, verificaram maior desenvolvimento da mucosa intestinal e das células das criptas. Dell'orto et al. (2002), suplementando a dieta de suínos com 0,5% nucleotídeos e 0,5% glutamina, observaram aumento na altura das vilosidades e profundidade de cripta do íleo, mostrando o efeito positivo no o crescimento e na maturação da mucosa ileal. Da mesma maneira, Yu et al. (2002) observaram aumento nas vilosidades do duodeno e jejuno com aumento no ganho de peso de leitões desmamados ao suplementá-los com 1000 ppm de nucleotídeos combinados com 1,0% de glutamina.

Para McCauley et al. (1998), nucleotídeos são essencialmente importantes para os enterócitos durante desenvolvimento, maturação e reparo intestinal, reforçando a teoria de que os nucleotídeos podem acelerar o desenvolvimento e maturação intestinal e, quando lesado, promover o reparo e recuperação da mucosa do intestino mais facilmente.

Segundo Uni et al. (1999), o desenvolvimento completo dos vilos do duodeno dos frangos de corte ocorre até os sete dias de idade, entretanto o desenvolvimento dos vilos do jejuno e íleo continua até 14 dias de idade. Ou seja, a maturação intestinal de frangos de corte ocorre dentro de 14 dias. Isso explica porque não se observou efeito dos nucleotídeos na morfologia intestinal aos 42 dias de idade, pois as aves já apresentavam maturação intestinal.

Tabela 8: Peso relativo de órgãos¹ (%) de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Variável	Nível de inclusão de Nucleotídeos					C.V. (%)	
	CO ²	Alternativa					
		0,00%	0,04%	0,05%	0,06%		0,07%
Proventrículo	0,30	0,28	0,26	0,32	0,31	0,30	15,25
Moela	1,11	1,29	1,25	1,26	1,34	1,32	13,28
Fígado	1,90	1,70	1,57	1,67	1,83	1,70	10,10
Pâncreas	0,20	0,20	0,19	0,19	0,20	0,19	16,32
Intestino delgado	3,12	3,26	2,82	2,64	3,34	2,74	12,48
Intestino grosso	0,62	0,51	0,62	0,59	0,66	0,66	18,01

¹ Peso relativo de órgãos (%) = (peso do órgão, g/peso vivo, g)x100. ² Ração Convencional com promotor de crescimento.

Tabela 9: Altura (AL) e área (AR) das vilosidades, profundidade de cripta (PC) e relação caliciformes/enterócitos (CA/E) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Variável	Nível de inclusão de Nucleotídeos						C.V. (%)
	CO ¹	Alternativa					
		0,00%	0,04%	0,05%	0,06%	0,07%	
DUODENO							
AL (µm)	1.524,75	1.368,00	1.683,25	1.461,00	1.597,50	1.576,00	11,12
AR (µm ²)	263.557	275.211	337.690	270.241	302.199	235.078	22,13
PC (µm)	116,25	112,00	123,25	104,50	117,25	103,50	14,87
CA/E (%) ²	48,10	52,60	52,40	47,90	49,10	49,05	16,38
JEJUNO							
AL (µm)	1.353,25	1.171,25	1.304,00	1.187,25	1.271,00	1.148,00	10,00
AR(µm ²)	180.479	170.576	171.109	129.525	195.926	165.050	18,18
PC (µm)	125,25	131,50	125,00	112,75	126,25	106,75	21,55
CA/E (%) ²	52,30	48,00	53,40	43,50	53,50	46,95	10,53
ÍLEO							
AL (µm)	899,50	761,50	821,25	797,00	783,25	791,25	17,24
AR (µm ²)	95.186	111.412	80.192	84.272	97.726	78.126	21,47
PC (µm)	122,00	109,50	131,00	109,25	129,00	114,00	13,15
CA/E (%) ²	54,10	48,20	58,40	51,10	56,10	48,80	11,34

¹ Ração Convencional com promotor de crescimento. ² Porcentagem de células caliciformes a cada 500 enterócitos.

CONCLUSÃO

Os nucleotídeos adicionados à dieta não influenciam no rendimento de carcaça e de partes e na morfologia intestinal aos 42 dias de idade. Porém, em níveis iguais ou superiores a 0,05%, os nucleotídeos favorecem o desempenho de frangos de corte alternativos, não diferindo dos frangos criados com dieta convencional contendo antibióticos promotores de crescimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carlson MS, Veum TL, Turk JR. Effects of yeast extract versus animal plasma in weanling pig diets on growth performance and intestinal morphology. *Journal of Swine Health and Production* 2005; 13:204-209.
- Dell'orto V, DI Giancamillo A, Savoini G. Influence of nucleotides and glutamine dietary supplementation on gut health of weanling piglets. *Journal of Animal Science* 2002; 80(1):p.220.
- Demattê Filho LC, Mendes CMI. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2001; Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Princípios de Bioquímica*. Editora Sarver, São Paulo; 1995. p.839.
- Loddi MM. Aspectos produtivos e qualitativos do uso de probiótico para frangos de corte. 1998. 60 f. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1998.
- Maiorka A, Boleli IC, Macari M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP; 2002. p.113-123.
- McCauley R, Kong SE, Hall J. Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. *Journal Parenteral Enteral Nutrition* 1998; 22:105-111.
- Rostagno HS, Albino LF T, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. Viçosa: UFV, 2005. p.186.

Rutz F, Anciuti MA, Rech JL, Gonçalves FM, Delgado AD, Rosa ER, Zauk N, Ribeiro CLG, Silva RR, Dallmann PR. Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de levedura na dieta. *Ciência Animal Brasileira* 2006 7:349-355.

SPSS 13.0 for Windows. Release 13.0 (1 Sep. 2004). SPSS Inc.

Stein HH, Kil DY. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2. *Animal Biotechnology* 2006; 17:217-231.

Tsujinaka T, Iijima S, Kido Y. Role of nucleoside and nucleotide mixture in intestinal mucosal growth under total parenteral nutrition. *Nutrition* 1993; 9:532-535.

Uauy R, Stringel G, Thomas R, Quan R. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal Pediatrics Gastroenterology Nutrition* 1990; 10:497-503.

Uni, Z.; Noy, Y.; Sklan, D. Post hatch changes in morphology and function of small intestines in heavy and light strain chicks. *Poultry Science* 1995; 74:1622-1629.

Uni Z. Function development of the small intestine in domestic birds: cellular molecular aspects. *Poultry Avian Biology* 1999; 10:167-179.

Zavarize KC, Sartori JR, Pelícia VC, Pezzato AC, Araujo PC. Desempenho de frangos de corte criados no sistema alternativo suplementados com L-glutamina e nucleotídeos. In: Conferência APINCO 2007 de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2007; Santos; São Paulo. Brasil. Campinas: FACTA, 2007. p.113-113.

Wu X, Yue G, Shi Y. A preliminary study on nutritive role of dietary exogenous nucleotides to young chicken. *Chinese Journal of Animal Science* 2001; 37:15-17.

Yu IT, Wu JF, Yang PC, Liu CY, Lee DN, Yen HT. Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titres of weaned pigs. *Animal Science* 2002; 75:379-385.

CAPÍTULO 3

**ADIÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE
ALTERNATIVOS E SEUS EFEITOS NA TAXA DE *TURNOVER* DA
MUCOSA INTESTINAL ANTES E APÓS LESÕES CAUSADAS POR
COCCIDIOSE**

Adição de nucleotídeos na dieta de frangos de corte alternativos e seus efeitos na taxa de *turnover* da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose

Addition of nucleotides in alternative broilers diet and their effects on intestinal mucosa turnover rate before and after injuries caused by coccidiose

Título curto: Nucleotídeos sobre o *turnover* intestinal de frangos alternativos

Área do conhecimento: Nutrição

Categoria: Artigo Científico

RESUMO

Estudos recentes têm demonstrado que os nucleotídeos da dieta são capazes de melhorar a resposta imune, prevenir os efeitos negativos sobre a estrutura do intestino sendo importantes no controle do *turnover* celular e, conseqüentemente, prevenir quedas de desempenho. Assim, com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de nucleotídeos sobre taxa de *turnover* da mucosa intestinal de frangos de corte alternativos submetidos ou não a desafio por coccidiose, por meio de análise isotópica, foram utilizados 264 pintos de corte machos submetidos a dois tratamentos iniciais: t1 = dieta predominantemente C₃, sem suplementação com nucleotídeos, t2 = t1 suplementada com 0,07% nucleotídeos. Com 16 dias de idade metade das aves foi inoculada com oocistos de *Eimeria acervulina* e a partir de 21 dias foram submetidas a quatro tratamentos T1 = dieta predominantemente C₄, sem suplementação com nucleotídeos, T2 = T1 suplementada com 0,07% de nucleotídeos, T3 = T1 com desafio de coccidiose e T4 = T2 com desafio de coccidiose. Os dados obtidos pela análise isotópica foram analisados por meio do método de equação exponenciais de primeira ordem do software Origin[®] 6.0 Professional (Microcal Software, 1999). Na fase inicial (de 1 a 21 dias de idade) o valor de meia vida encontrado na mucosa intestinal das aves foi ligeiramente menor para as aves que receberam dieta suplementada, indicando que a suplementação com nucleotídeos propicia pequena aceleração na velocidade de troca do carbono na mucosa intestinal de frangos de corte na fase inicial de crescimento e, portanto, maior aceleração no crescimento intestinal. Na fase de 21 a 42 dias de idade não houve influência dos nucleotídeos para os grupos não desafiados. Porém, para os grupos desafiados, o valor de meia vida da mucosa intestinal encontrado nas aves que receberam dieta sem adição de nucleotídeos foi quase 30% maior em relação àqueles que receberam dieta com nucleotídeos, indicando maior taxa de *turnover* da mucosa intestinal do grupo que recebeu dieta suplementada. Esse resultado mostra que a adição de nucleotídeos promoveu aceleração no processo de renovação da mucosa intestinal e sua regeneração após os danos causados por patógenos.

Palavras-chave: *Eimeria acervulina*, frangos de corte alternativos, isótopos estáveis, mucosa intestinal, nucleotídeos, *turnover*

ABSTRACT

Recent studies have shown that nucleotides of diet are able to improve the immune response, preventing negative effects on the intestinal structure, and they are important in the cell turnover control and, consequently, prevent drop in performance. Thus, in order to assess the effect of nucleotides supplementation on the intestinal mucosa turnover rate of alternative broilers submitted or not to coccidiosis challenge, through isotopic analysis, two hundred sixty-four 1-day-old male chicks submitted to two initial treatments : t1 = C3 predominantly diet without nucleotides supplementation, t2 = t1 supplemented with 0.07% nucleotides, were used. At 16 days of age, half of birds were inoculated with *Eimeria acervulina* oocysts and starting from 21 days were submitted to four treatments T1 = C4 predominantly diet without nucleotides supplementation, T2 = T1 supplemented with 0.07% nucleotides (diet with nucleotides), T3 = T1+ coccidial challenge and T4 = T2 + coccidial challenge. Isotopic data were analyzed by first-order exponential equation using the Origin® 6.0 Professional software (Microcal Software, 1999). In the starter phase (1 to 21 days of age) the half-life value found in the intestinal mucosa of birds has been slightly lower for the birds that received supplementary diet, indicating that supplementation with nucleotides provides small acceleration in the rate of exchange of carbon in the intestinal mucosa of broiler chickens in the starter phase of growth and therefore greater acceleration in growth intestinal. During the 21 to 42 days of age there was no influence of nucleotides for groups not challenged. However for the challenged groups, the half-life value of the intestinal mucosa found in birds that received diet without nucleotides addition was nearly 30% higher in relation to those supplemented with nucleotides, indicating higher intestinal mucosa turnover rate of supplemented group. This result shows acceleration in the cell renewal process of intestinal mucosa and its regeneration after damage caused by pathogens.

Key-words: alternative broilers, *Eimeria acervulina*, intestinal mucosa, nucleotides, stable isotopes, turnover

INTRODUÇÃO

Recentemente, tem crescido a preocupação por parte da saúde pública em relação ao uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal, assim como a preocupação dos consumidores com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos mais saudáveis e ausência de resíduos químicos. Em função disso, algumas empresas avícolas estão se voltando para a produção do frango alternativo, que consiste em aves criadas com ração sem antibióticos promotores de crescimento e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal (Demattê Filho e Mendes, 2001).

Diante dessa situação, nutricionistas trabalham em uma série de produtos e/ou nutrientes que auxiliam, por meio de mecanismos específicos, a superar desafios que favorecem a manifestação de problemas entéricos nos animais.

Estudos recentes têm demonstrado que os nucleotídeos da dieta são capazes de melhorar a resposta imune (Van Buren et al., 1983; Van Buren et al., 1985; Yamauchi et al., 1996) e prevenir os efeitos negativos na estrutura do intestino (Adjei et al., 1992; Adjei et al., 1993) e, conseqüentemente, prevenir quedas de desempenho.

Segundo Bueno et al. (1994), a suplementação com nucleotídeos é especialmente importante no desenvolvimento de tecidos com rápido *turnover* celular, quando a capacidade de síntese endógena não é suficiente para responder as maiores exigências, como em períodos de rápido crescimento e após agressões no organismo, tais como doenças ou traumas.

Para Tanaka et al. (1996), nucleotídeos exógenos são cruciais no controle do *turnover* celular e desenvolvimento do intestino. Assim, dietas suplementadas com nucleotídeos podem desempenhar papel importante em períodos de grandes desafios, principalmente para animais criados no sistema alternativo de produção.

Nas pesquisas em nutrição animal, muitos avanços tecnológicos vêm sendo conquistados ao longo dos anos e, nesse contexto, insere-se a técnica dos isótopos estáveis (diluição isotópica), indicada em situações em que fontes dietéticas isotopicamente distintas estão disponíveis para os animais.

As plantas do ciclo C_3 e C_4 possuem assinaturas isotópicas distintas ($^{13}C/^{12}C$) devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do carbono (Ducatti, 2005). Essa diferença natural na razão isotópica de carbono entre as espécies de plantas oferece a possibilidade de utilizá-las como marcadores nos tecidos animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, evitando problemas de saúde humana e de segurança ambiental associados ao uso de isótopos radiativos (Tieszen et al., 1983; Metges et al., 1990). Esses marcadores vêm sendo utilizados com eficácia em estudos com suínos (Caldara, 2005), aves de postura (Carrijo et al., 2000; Denadai, 2004), frangos de corte (Cruz, 2002; Carrijo, 2003; Gottmann, 2007; Mituo, 2007), peixes (Zuanon et al., 2003), ovinos (Silva, 2003), entre outras espécies. Segundo Gannes et al. (1998), dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais.

Deste modo, com o presente trabalho objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de nucleotídeos na dieta na taxa de *turnover* do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte submetidos ou não a desafio por coccidiose e, conseqüentemente, seu processo de renovação, utilizando-se a variação natural do carbono-13 existente entre as plantas de ciclo fotossintético distintos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na UNESP de Botucatu - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, no Laboratório de Nutrição de Aves, no período de outubro a dezembro de 2006.

Foram utilizados 264 pintos de corte machos, da linhagem Hybro, com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Bouba aviária. Aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado dispostas em fileiras, nas quais foram criadas até 42 dias de idade. Foram alojadas onze aves por gaiola e a temperatura do ambiente foi controlada. As aves desafiadas e não desafiadas com coccidiose foram alojadas em câmaras diferentes.

O período de criação foi dividido em apenas duas fases: inicial (1 a 21 dias de idade) e crescimento (22 a 42 dias de idade) para se obter menor variação nos sinais isotópicos das dietas. As exigências nutricionais das aves foram estabelecidas de acordo com as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno et al. (2005). Água e ração foram fornecidas *ad libitum* em todo o período experimental utilizando-se de bebedouros tipo *nipple* e comedouros metálicos tipo calha. O programa de luz foi constante, com fornecimento de 24 horas de luz durante todo o período de criação.

Os pintos de corte foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C₄. Estes, ao nascerem, possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de ¹³C semelhantes ao destas dietas ($\delta^{13}\text{C} = -19,31\text{ ‰}$). Após o alojamento, para avaliar a taxa de *turnover* na mucosa intestinal, os pintos de um dia de idade receberam dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C₃, possuindo sinal isotópico de ¹³C diferente das dietas C₄ fornecida às matrizes.

Com 16 dias de idade, metade das aves foi inoculada oralmente e individualmente com auxílio de pipeta com 500.000 oocistos de *Eimeria acervulina* causando de moderadas a fortes lesões no epitélio intestinal das aves, dose definida por Williams (2001). Como o ciclo dessa *Eimeria* é de 4 a 5 dias provocando as primeiras lesões no epitélio intestinal, a partir dos 21 dias de idade as aves passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C₄ possuindo sinal isotópico de ¹³C diferentes da dieta na fase inicial. A mudança na composição da dieta objetivou provocar nova alteração no sinal isotópico para captar a velocidade na taxa de *turnover* da mucosa intestinal após o desafio e, com isso, determinar se o uso dos nucleotídeos (AccelerAid®-FormilVet) favoreceu a recuperação da mucosa intestinal em relação ao controle. As composições das rações experimentais e seus valores isotópicos estão apresentados na Tabelas 1.

Para isso as aves foram submetidas a dois tratamentos iniciais: t1 = dieta predominantemente C₃, sem suplementação com nucleotídeos, promotor de crescimento, anticoccidiano e ingredientes de origem animal e t2 = t1 suplementada com 0,07% de nucleotídeos. Após 21 dias as aves foram submetidas a quatro tratamentos: T1 = dieta predominantemente C₄, sem suplementação com nucleotídeos, promotor de crescimento,

anticoccidiano e ingredientes de origem animal, T2 = T1 suplementada com 0,07% de nucleotídeos T3 = T1 mais desafio de coccidiose e T4 = T2 mais desafio de coccidiose.

Tabela 1. Composição e valores nutricionais calculados das rações

INGREDIENTES (%)	Níveis de inclusão de Nucleotídeos			
	1 a 21 dias de idade (Predominantemente C ₃)		22 a 42 dias de idade (Predominantemente C ₄)	
	0,00%	0,07%	0,00%	0,07%
Quirera de arroz	58,415	58,415	-	-
Milho	-	-	61,844	61,844
AccelerAid® ¹	0,000	0,300	0,000	0,300
Farelo de soja	34,425	34,425	30,928	30,928
Óleo de soja	3,095	3,095	3,343	3,343
NaCl	0,500	0,500	0,480	0,480
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,810	0,810	0,830	0,830
Fosfato bicálcico	1,900	1,900	1,670	1,670
DL-metionina	0,155	0,155	0,175	0,175
L-lisina	0,190	0,190	0,230	0,230
Cloreto de colina ⁴	0,060	0,060	0,050	0,050
Caulim ⁵	0,300	0,000	0,300	0,000
Valores calculados				
EM (kcal/kg)	3000	3000	3100	3100
PB (%)	20,79	20,79	19,41	19,41
Cálcio (%)	0,89	0,89	0,83	0,83
Fósforo disponível (%)	0,44	0,44	0,41	0,41
Metionina (%)	0,50	0,50	0,48	0,48
Aminoácidos sulfurados (%)	0,81	0,81	0,79	0,79
Lisina (%)	1,27	1,27	1,19	1,19
Potássio (%)	0,74	0,74	0,74	0,74
Sódio (%)	0,22	0,22	0,21	0,21
Cloro (%)	0,34	0,34	0,33	0,33
Ácido linoléico (%)	2,10	2,10	3,14	3,14
Valores analisados				
Valor isotópico ⁵ em $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-27,95	-27,98	-19,94	-19,93

¹ AccelerAid®: 22,5% de nucleotídeos. ² Suplemento vitamínico Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): vit. A, 15.000 UI; vit. D₃, 3.000 UI; vit. E, 30 mg; vit. K₃, 4 mg; B₁, 3 mg; vit. B₂, 6 mg; vit. B₆, 6 mg; vit. B₁₂, 30 mcg; niacina, 40 mg; ac. fólico, 1,5 mg; ác. pantotênico, 15 mg; biotina, 120 mcg; vit. C, 50 mg; antioxidante. ³ Suplemento mineral Vaccinar Nutrição e Saúde Animal (por kg de ração): selênio, 180 mcg; iodo, 700 mcg; ferro, 48 mg; cobre, 10 mg; manganês, 78 mg; zinco, 55 mg. ⁴ Cloreto de colina (70%).

⁵ Veículo para substituir o nucleotídeo e promotor de crescimento mantendo o mesmo valor nutricional da ração. ⁵ Valor isotópico expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativos ao padrão PeeDee Belemnite (PDB).

Para as análises isotópicas, aos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 7; 9; 14; 21; 22; 23; 26; 28; 35; 42 dias de idade, foram tomados aleatoriamente três aves por tratamento, sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, das quais foram colhidas amostras de mucosa do intestino delgado (na altura do duodeno) por meio de raspagem com lamínula de vidro. As coletas foram concentradas nos primeiros dias de vida devido a maior velocidade na diluição isotópica do ^{13}C nos tecidos durante essa fase (Hobson e Clark, 1992). Cada ave retirada dos tratamentos foi considerada uma repetição. As amostras foram acondicionadas em frascos graduados de 1,0 mL, identificadas e imediatamente congeladas a -18°C até a sua preparação para as análises isotópicas.

Para realização das análises isotópicas da mucosa intestinal, as amostras foram descongeladas e pesadas em cápsulas de estanho, aproximadamente 300 μg de amostras para determinação das razões isotópicas do carbono. As cápsulas foram introduzidas por meio de amostrador automático no espectrômetro de massa DELTA-S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 CHN) da UNESP - Botucatu - IB - Centro de Isótopos Estáveis. As amostras foram queimadas quantitativamente para obtenção de CO_2 .

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

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

Onde:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento relativo da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação ao padrão PDB. Adimensional.

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

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

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

Onde:

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

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

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

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹

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

O tempo ($T_{99,99\%}$) necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais pode ser determinada pela equação 3, na qual o valor de f (átomos trocados) pode variar de zero (0) a 0,9999:

$$T_{99,99\%} = -1/k \ln(1-f) \quad (3)$$

Assim como, a meia vida ($T_{50\%}$) do ^{13}C na mucosa intestinal na condição de substituição dos 50% dos átomos trocados pode ser mensurado pela equação (4) com f = 0,5:

$$T_{50\%} = \ln 2/k \quad (4)$$

Onde:

$T_{50\%}$ = meia-vida, unidade: tempo (dias)

$T_{99,99\%}$ = 99,99% de substituição dos átomos iniciais pelos finais, unidade: tempo (dias)

ln = logaritmo niperiano

k = constante do *turnover*, unidade: tempo⁻¹, fornecendo uma idéia de “velocidade” no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (DUCATTI et al., 2002; DUCATTI, 2005).

Os dados obtidos pela análise isotópica foram analisados utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do software Origin[®] 6.0 Professional (Microcal Software, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal das aves de 1 a 21 dias de idade, as quais receberam dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_3 , suplementadas ou não com nucleotídeos.

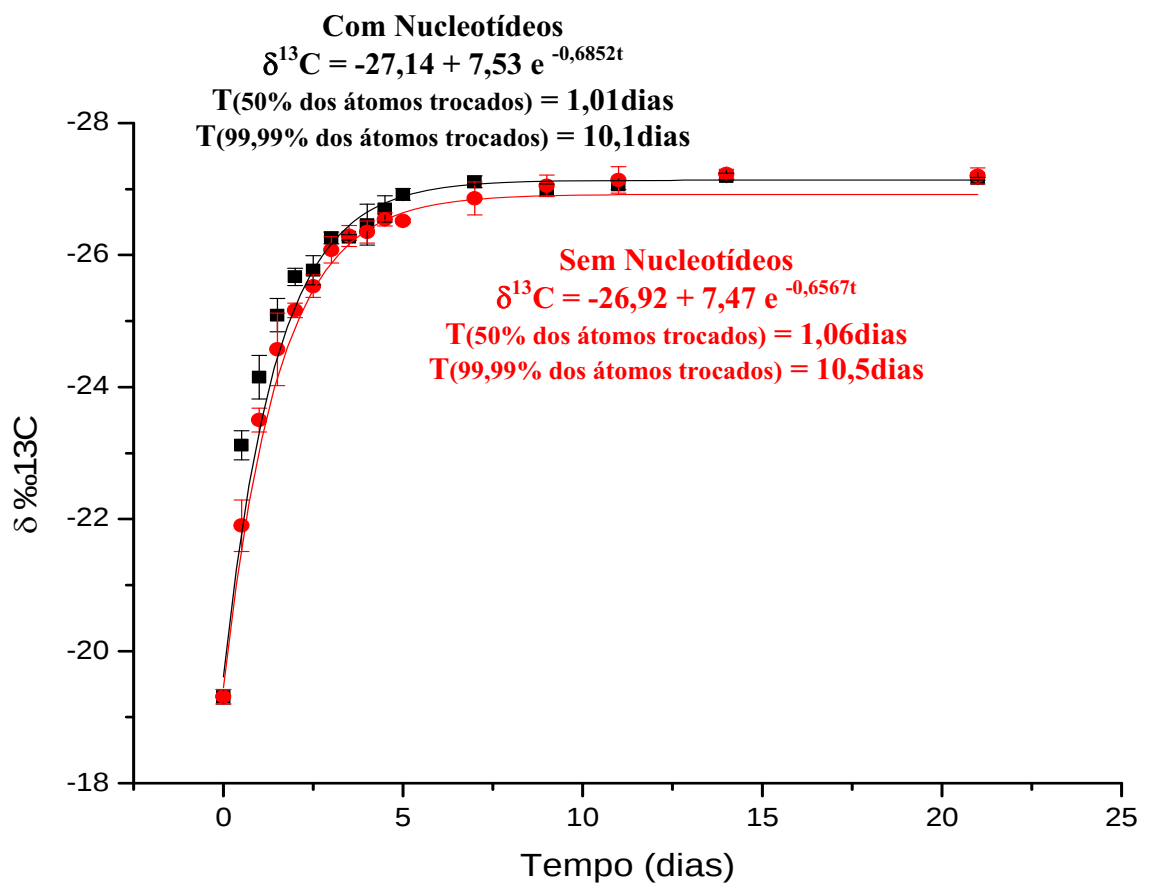


Figura 1. Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte de 0 a 21 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.

A análise dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal do grupo que recebeu dieta sem adição de nucleotídeos resultou na equação $\delta^{13}\text{C} = -26,92 + 7,47 e^{-0,6567t}$ com meia vida do carbono calculada de 1,06 dias ou troca total em 10,5 dias e, para os animais que receberam dieta com adição de nucleotídeos a equação obtida foi: $\delta^{13}\text{C} = -27,14 + 7,53 e^{-0,6852t}$ com meia vida do carbono de 1,01 dias ou troca total em 10,1 dias. Verifica-se que o valor meia vida encontrado foi ligeiramente menor para os animais que receberam dieta suplementada, indicando que a suplementação com nucleotídeos propicia pequena aceleração na velocidade de troca do carbono na mucosa intestinal de frangos de corte na fase inicial de crescimento e, portanto, maior aceleração no crescimento intestinal. Esses resultados corroboram com os encontrados por outros autores demonstrando que, ao suplementar a dieta de ratos com nucleotídeos, ocorre aceleração do desenvolvimento do intestino (Tsujinaka et al., 1993) e aumento do conteúdo de DNA da mucosa intestinal (Uauy et al., 1990), suportando a teoria de que os nucleotídeos afetam positivamente o crescimento e maturação do epitélio do intestino delgado (Ortega et al., 1995).

Em criatórios comerciais, as aves estão constantemente sob desafio por patógenos durante todo período de criação. O mais comum na indústria avícola, especialmente para frangos de corte, são patógenos intestinais como bactérias e eimérias (causadoras da coccidiose) que lesam a mucosa intestinal afetando a absorção dos nutrientes. Sendo assim, os nucleotídeos podem atuar sob essas condições, favorecendo a recuperação das lesões, como mostrado nas Figuras 2 e 3.

Nas Figuras 2 e 3 estão apresentados os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal das aves dos 22 aos 42 dias de idade, quando passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_4 e suplementadas ou não com nucleotídeos, bem como aves submetidas ou não a desafio por coccidiose.

A análise dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal do grupo que recebeu dieta sem adição de nucleotídeos e sem desafio resultou na expressão $\delta^{13}\text{C} = -21,61 - 6,76 e^{-0,3829(t-21)}$ com meia vida do carbono calculada de 1,81 dias ou troca total em 18,4 dias e para os animais que receberam dieta com adição de nucleotídeos e sem desafio a expressão obtida foi: $\delta^{13}\text{C} = -21,37 - 5,90 e^{-0,3849(t-21)}$ com meia vida do carbono de

1,80 dias ou troca total em 18 dias. Verifica-se que o valor meia vida encontrado nas aves não desafiadas foi muito semelhante, não havendo influência da suplementação com nucleotídeos na velocidade de troca do carbono na mucosa intestinal de aves não submetidas a desafio durante a fase de 22 a 42 dias de idade. Aos 42 dias de idade, as aves já apresentam intestino maturado, explicando, portanto, porque não se pode verificar efeito dos nucleotídeos sobre o desenvolvimento intestinal como observado na fase inicial de 1 a 21 dias de idade. Porém, os resultados de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal do grupo que recebeu dieta sem adição de nucleotídeos e com desafio resultou na expressão $\delta^{13}\text{C} = -21,24 - 5,99 e^{-0,6852(t-21)}$ com meia vida do carbono calculada de 1,01 dias ou troca total em 10,8 dias e para os animais que receberam dieta com adição de nucleotídeos e com desafio a expressão obtida foi: $\delta^{13}\text{C} = -21 - 6,08 e^{-0,9272(t-21)}$ com meia vida do carbono de 0,75 dias ou troca total em 7,45 dias. Comparando os dois grupos desafiados, o valor de meia vida encontrado para o grupo que recebeu dieta sem adição de nucleotídeos foi quase 30% maior em relação àqueles recebendo dieta suplementada com nucleotídeos.

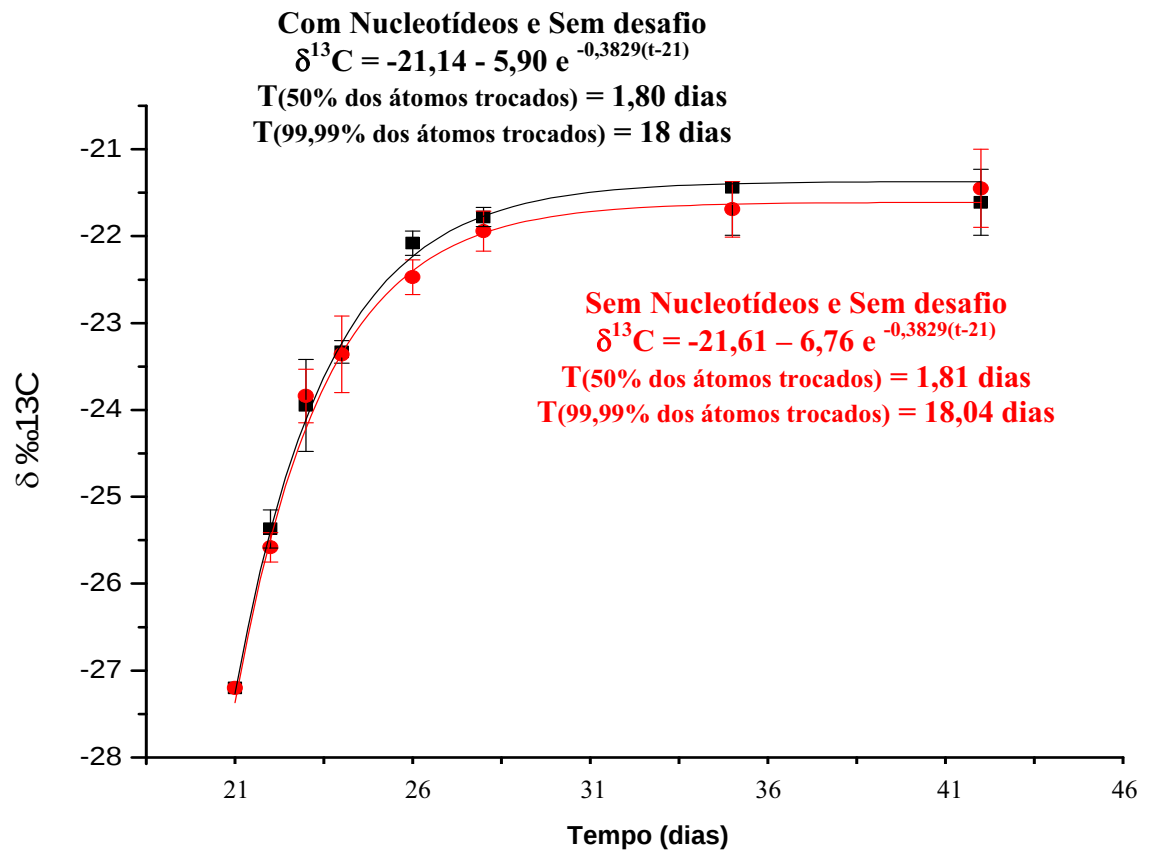


Figura 2. Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte não desafiados de 21 a 42 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.

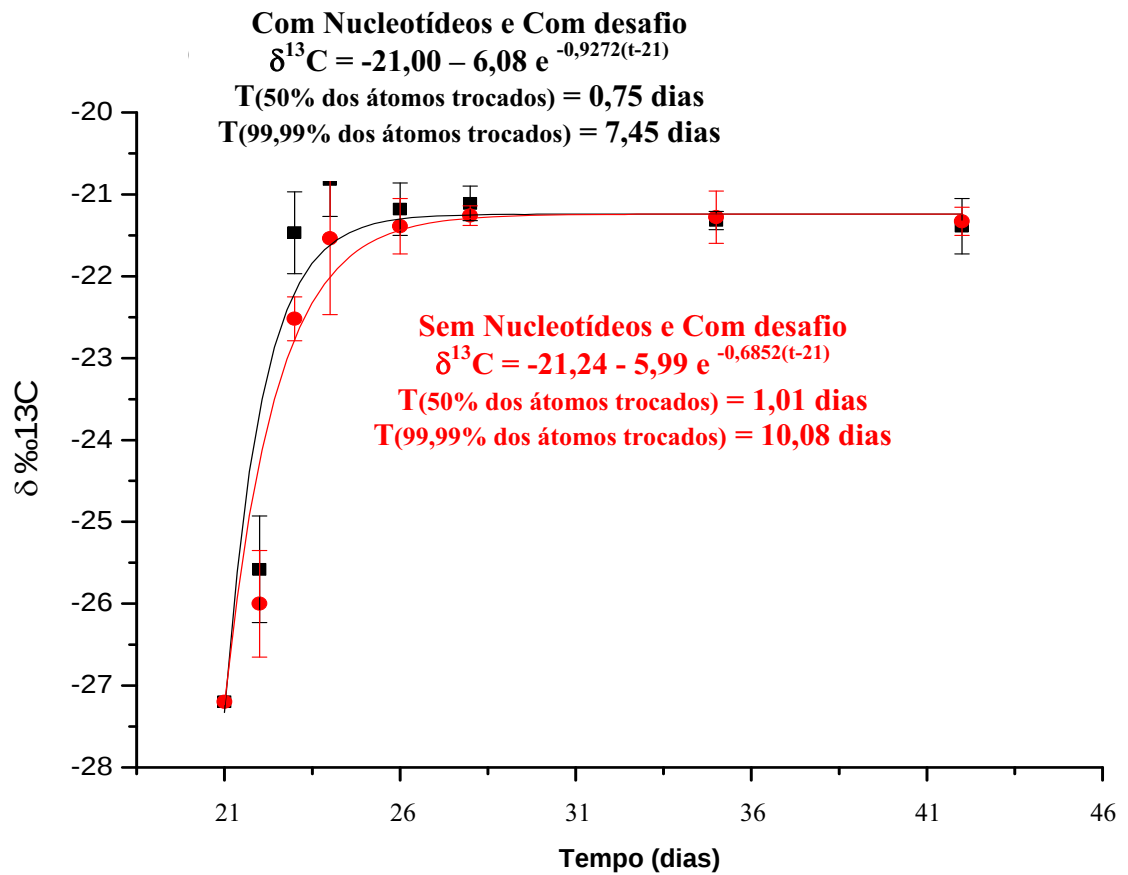


Figura 3. Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média $\pm$ desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte desafiados de 21 a 42 dias de idade, e valores de meia vida (T), em dias.

Essa diferença acentuada evidencia a influência dos nucleotídeos na velocidade de troca do carbono no tecido lesado, indicando aceleração no processo de renovação da mucosa intestinal e sua regeneração após os danos causados por patógenos. Esses resultados corroboram com os encontrados por Adjei et al. (1992) e Fanslow et al. (1988) que observaram melhora na integridade intestinal de ratos após lesões provocadas por bactérias e fungos patogênicos ao suplementá-los com nucleotídeos por meio da dieta.

Segundo Baró et al. (2001), o epitélio intestinal é um tecido em contínua renovação e para que ocorra este processo são necessários os nucleotídeos, tanto endógenos quanto aqueles provenientes da alimentação.

Pesquisa realizada por Pelícia et al. (2006) (dados não publicados), avaliando escore de lesões (técnica desenvolvida por Johnson e Reid (1970) para fornecer classificação numérica de lesões macroscópicas causadas por coccídios) em frangos de corte inoculados com *Eimeria acervulina* e recebendo dieta suplementada ou não com nucleotídeos, obtiveram menores escores de lesões e mais rápida recuperação da mucosa intestinal de frangos recebendo dieta suplementada com nucleotídeos quando comparados com os que recebiam dieta não suplementada. Essa pesquisa nos serviu de base de comparação com a técnica isotópica utilizada para avaliar taxa de *turnover* da mucosa intestinal, concordando com Gannes et al. (1998) ao afirmar que dietas com assinaturas isotópicas contrastantes podem ser usadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais.

CONCLUSÃO

A suplementação com 0,07% de nucleotídeos na ração de frangos de corte alternativos acelera o *turnover* da mucosa intestinal durante o crescimento e maturação do intestino e durante regeneração deste tecido após os danos causados em sua estrutura em períodos de desafio, mostrando que nucleotídeos são importantes para a manutenção e função da mucosa intestinal.

A técnica dos isótopos estáveis ambientais mostrou-se eficiente ferramenta para medir taxas de *turnover* na mucosa intestinal de frangos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjei AA, Takamine F, Yokoyama H, Chung SY, Asato L, Shinjo S, Imamura T, Yamamoto S. Effect of intraperitoneally administered nucleoside-nucleotide on the recovery from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain 8985N infection in mice. *Journal Nutrition Science Vitaminol (Tokyo)* 1992; 38:221-225.
- Adjei AA, Takamine F, Yokoyama H, Shiokawa K, Matsumoto Y, Asato L, Shinjo S, Imamura T, Yamamoto S. The effects of oral RNA and intraperitoneal nucleoside-nucleotide administration on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice. *Journal Parenteral Enteral Nutrition* 1993; 17:148-152.
- Baró L, Jiménez J, Martínéz-Férez A, Boza JJ. Componentes biologicamente activos de la leche materna. *Ars Pharmaceutica* 2001; 42:21-38.
- Bueno J, Torres M, Almendros A, Carmona R, Nunez M.C, Rios A, Gil A. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultrastructural changes. *Gut* 1994; 35:926-933.
- Caldara FR. Efeito da glutamina sobre o *turnover* do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em tecidos corporais de leitões desmamados. [Tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005.
- Carrijo AS, Pezzato AC, Ducatti C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2000; 2(3):209-218.
- Carrijo AS. Técnica dos Isótopos Estáveis do Carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e Nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) em frangos de corte. [Tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2003.
- Cruz VC. Livre escolha de alimentos dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4 , fracionamento e *turnover* dos isótopos estáveis do carbono nos tecidos de frangos de corte. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2002.

Demattê Filho LC, Mendes CMI. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2001; Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.

Denadai JC. Avaliação metabólica de dietas C3 e C4 na formação do ovo (gema e albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2004.

Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono – ^{13}C em tecidos de mamíferos e aves. Scientia Agrícola 2002; 59(1):29-33.

Ducatti C. Isótopos estáveis ambientais. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005. p.203.

Fanslow WC, Kulkarni AD, Van Buren CT, Rudolph FB. Effect of nucleotide restriction and supplementation on resistance to experimental murine candidiasis. Journal Parenteral Enteral Nutrition 1988; 12:49-52.

Gannes LZ, Rio CM, Koch P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Comparative Biochemistry Physiology 1998; 119A(3):725-737.

Gottmann R. Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.

Hobson KA, Clark RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. The Condor 1992; 94:181-188.

Johnson JK, Reid WM. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. Experimental Parasitology 1970; 28:30-36.

Metges C, Kempe K, Schimmedt HL. Dependence of the carbon isotope contents os breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on de delta ^{13}C value of food in dairy caws. *British Journal of Nutrition*, Cambridge 1990; 63:187-196.

Microcal Software Origin[®]6.0 Professional. Origin Data Analysis and Technical Graphics. USA, Microcal Software Inc., 1999.

Mituo MAO Ducatti C, Sartori JR, Denadae JC, Gottmann R, Pelícia VC. Incorporação do carbono-13 em músculo peitoral e sangue de frangos de corte no período inicial de crescimento. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 44; 2007; Jaboticabal, São Paulo. Brasil. 01CDROOM.

Ortega MA, Gil A, Sanchez-Pozo A. Maturation status of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides. *Life Science* 1995; 56:1623-1630.

Rostagno HS, Albino LF T, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. Viçosa: UFV, 2005. p.186.

Silva JJ. Determinação da fase lactente - ruminante em cordeiros pelas técnicas do $\delta^{13}\text{C}$ e micro - histologia fecal. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2003.

Tanaka M, Lee K, Martinez-Augustin O, HE Y, Sanderson IR, Walker WA. Exogenous nucleotides alter the proliferation, differentiation and apoptosis of human small intestinal epithelium. *Journal of Nutrition* 1996; 126:424-433.

Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA. Fractionation and turnover of stable carbon isotope in animal tissues: implication for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 1983; 57:32-37.

Tsujinaka T, Iijima S, Kido Y. Role of nucleoside and nucleotide misture in intestinal mucosal growth under total parenteral nutrition. *Nutrition* 1993; 9:532-535.

Uauy R, Stringel G, Thomas R, Quan R. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal Pediatrics Gastroenterology Nutrition* 1990; 10:497-503.

Van Buren CT, Kulkarni AD, Schandle VB, Rudolph FB. The influence of dietary nucleotides on cell-mediated immunity. *Transplantation* 1983; 36:350-352.

Van Buren CT, Kulkarni AD, Fanslow WC, Rudolph FB. Dietary nucleotides, a requirement for helper/inducer T lymphocytes. *Transplantation* 1985; 40:694-697.

Williams RB. Quantification of the crowding effect during infections with the seven *Eimeria* species of the domesticated fowl: its importance for experimental designs and the production of oocyst stocks. *International Journal for Parasitology* 2001; 31:1056–1069.

Yamauchi K, Adjei AA, Ameho CK, Chan YC, Kulkarni AD, Sato S, Okamoto K, Yamamoto S. A nucleoside-nucleotide mixture and its components increase lymphoproliferative and delayed hypersensitivity responses in mice. *Journal of Nutrition* 1996; 126:1571-1577.

Zuanon JA. Turnover de carbono em tecido muscular de alevinos de tilápias do Nilo. [Tese]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 2003.

CAPÍTULO 3

IMPLICAÇÕES

IMPLICAÇÕES

A proibição da utilização de antibióticos promotores de crescimento nas dietas dos animais vem se estendendo por diversos países, sendo que estudos de alternativas ao uso dos mesmos são importantes para o setor avícola. Aves criadas sem a utilização desses promotores de crescimento ficam mais susceptíveis à infecção por patógenos. Os patógenos, por sua vez, poderão lesar o epitélio intestinal das aves dificultando a absorção dos nutrientes, conseqüentemente promovendo queda no desempenho.

Nesse estudo, verificou-se que o desempenho dos frangos de corte alimentados com dieta contendo nucleotídeos não diferiu dos frangos alimentados com dietas contendo promotor de crescimento. Contudo, as aves foram criadas em galpão experimental com rigoroso controle sanitário e sem desafio. Desta forma, novos estudos são necessários para se avaliar o efeito dos nucleotídeos em condições de desafios encontrados no campo.

De acordo com a literatura, os nucleotídeos podem acelerar a velocidade de crescimento e maturação intestinal, porém não se observou efeito dos nucleotídeos para as variáveis de morfologia intestinal aos 42 dias de idade. Como o desenvolvimento completo dos vilos do duodeno ocorre até o sétimo dia de idade e do jejuno e íleo até o 14º dia, devemos, em estudos futuros, analisar a morfologia intestinal aos sete dias de idade e não somente aos 42 dias de idade como realizado neste experimento.

Observaram-se claramente os efeitos benéficos dos nucleotídeos no reparo da mucosa intestinal lesada comprovado pela maior taxa de *turnover* celular intestinal das aves alimentadas com dieta suplementada após o desafio por coccidiose. Ainda com este estudo, foi possível verificar que a técnica dos isótopos estáveis do carbono é ferramenta de grande

potencialidade na avaliação de taxas de *turnover* da mucosa intestinal de frangos de corte quando se utilizam dietas com valores isotópicos distintos.

Sugerem-se outras pesquisas com nucleotídeos para se avaliar o funcionamento do sistema imune, resistência à instalação de patógenos e taxas de sobrevivência de frangos de corte desafiados, uma vez que a saúde dos animais é importantíssima para o bom desempenho dos mesmos.