

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

**EFEITOS DE PROBIÓTICO, ÓLEOS ESSENCIAIS E ENZIMAS EM
PARÂMETROS PRODUTIVOS E SANITÁRIOS DE FRANGOS DE CORTE**

IONE IOLANDA DOS SANTOS
Engenheira Agrônoma (UFSC)
Mestre em Agroecossistemas (UFSC)

Tese apresentada como requisito à obtenção do Grau de Doutor em
Zootecnia
Área de Concentração em Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Agosto de 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela saúde e inteligência, condição e atributo indispensáveis nesta jornada.

À Universidade Federal de Santa Catarina, principalmente aos professores do Departamento de Zootecnia, pela oportunidade concedida.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela chance, em especial ao professor ALEXANDRE DE MELLO KESSLER pela confiança, generosidade e orientação.

À professora Gertrudes Corção pela orientação e disponibilidade de seu laboratório.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia/UFRGS, pelo conhecimento compartilhado e a professora Matilde Achaval Elena pela disponibilização de seu laboratório para execução de parte de meus trabalhos experimentais.

Aos colegas do LEZO e do Laboratório 166 da Microbiologia, pela ajuda prestada na realização dos trabalhos experimentais e pela troca de conhecimentos.

À indústria DSM pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

À minha família e amigos pelo incentivo, em especial às minhas filhas, cuja alegria de viver foi meu combustível diário para seguir em frente.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu muito obrigada!

EFEITO DE PROBIÓTICO, ÓLEOS ESSENCIAIS E ENZIMAS EM PARÂMETROS PRODUTIVOS E SANITÁRIOS DE FRANGOS DE CORTE¹

Autora: Ione Iolanda dos Santos

Orientador: Prof. Alexandre de Mello Kessler

RESUMO

A busca de maior eficiência alimentar visando a maximização da produção avícola tem direcionado pesquisas em aditivos para rações que possam atuar no controle de agentes prejudiciais ao processo digestivo. Muitos desses benefícios foram observados em pesquisas com probióticos, óleos essenciais e enzimas nas últimas décadas. Em face a importância que os aditivos representam para a avicultura, dois experimentos foram desenvolvidos para avaliar o efeito do probiótico a base de *E. faecium*, da mistura dos óleos essenciais extraídos de tomilho e cravo-da-índia e da combinação das enzimas xilanase, β -glucanase e amilase em dietas para frangos de corte. No primeiro experimento foi avaliado o efeito do probiótico e da mistura dos óleos essenciais, em dietas para frangos infectados por *Eimeria máxima* e *E. acervulina*. Neste experimento, analisou-se o desempenho, o escore de lesão e a morfometria intestinal dos animais. No segundo experimento foi avaliado o efeito do probiótico e das enzimas, isolados e em combinação, em dietas com duas formulações, uma com nível padrão de energia e outra com nível baixo de energia, sendo esta última reduzida em 100 kcal/kg de energia metabolizável em relação à dieta padrão. Analisou-se nesse experimento o desempenho, a morfometria e o pH do trato gastrointestinal; a digestibilidade das dietas e a produção de dejetos e; identificou-se o perfil molecular da comunidade de bactérias presente no lúmen ileal, através da técnica de eletroforese em gel por gradiente desnaturante (DGGE). O probiótico e a mistura de óleos essenciais não promoveram benefícios de desempenho e integridade intestinal aos animais que sofreram estresse infeccioso. Nas dietas com dois níveis de energia, o probiótico também não se mostrou eficiente aos animais sob quaisquer parâmetros analisados. Este também não foi detectado por DGGE no trato ileal dos animais que o consumiram. Contudo, tanto nas dietas contendo probiótico, quanto naquelas contendo enzimas foram verificadas, através do DGGE, alterações na população microbiana do trato ileal dos animais. As enzimas também mostraram eficiência nas dietas de baixa energia. Essas diminuíram ($P < 0,05$) parâmetros de morfometria e pH do trato gastrointestinal, melhoraram ($P < 0,05$) a digestibilidade das dietas e diminuíram ($P < 0,05$) a produção de dejetos no ambiente de criação. Contudo, essa eficiência só foi verificada no período inicial de criação das aves.

¹ Tese de doutorado em Zootecnia – Produção animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, porto Alegre, RS, (198p.). Agosto de 2010.

PROBIOTIC, ESSENTIAL OIL AND ENZYMES IN PRODUCTIVE AND SANITARY PARAMETERS OF BROILERS¹

Author: Ione Iolanda dos Santos

Adviser: Prof. Alexandre de Mello Kessler

ABSTRACT

The search for greater feed efficiency for maximization of poultry production has directed research of feed additives that may act to control harmful agents to the digestive process. Many of these benefits were observed in studies with probiotics, enzymes and essential oils in recent decades. Given the importance that the additives present in broilers, two experiments were conducted to evaluate the effect of probiotic-based *E. faecium*, a mixture of essential oils from thyme and clove and the combination of enzymes xylanase, amylase and β -glucanase in diets for broiler chickens. In the first experiment the effect of probiotic and essential oil in diets for broilers infected with *Eimeria maximum* and *E. acervulina* was evaluated. In this experiment the performance, the lesion score by eimerias and intestinal morphology of animals were analyzed. In the second experiment the effect of probiotic and enzymes alone and in combination in diets with both formulations, with a standard level of energy and one with low energy, the latter being reduced by 100 kcal / kg metabolizable energy compared to the standard diet were evaluated. This experiment analyzed the performance, morphology and pH of the gastrointestinal tract, the diet digestibility and production of waste; and identified the alterations of the community of bacteria present in the ileal lumen, through the technique of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The probiotic and the mix of essential oils did not lead to performance benefits, intestinal integrity of animals who suffered stress infectious. In diets with two energy levels the probiotics were not efficient in animals with any of the parameters examined. This was also not detected by DGGE in the ileal tract of animals that had consumed it. However, both in the diets containing probiotic and in those containing enzymes a DGGE was verified, as well as microbial population changes in the ileal tract of the animals. The enzymes were also efficient in the low energy diets. These decreased ($P < 0.05$) parameters of morphometry and pH of the gastrointestinal tract, improved ($P < 0.05$) the digestibility of diets and decreased ($P < 0.05$) the production of waste in the authoring environment. However, this efficiency was only observed in the initial period of production of the birds.

¹Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, (198p.). August, 2010.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| CAPÍTULO I..... | 1 |
| 1.INTRODUÇÃO..... | 2 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 5 |
| 2.1. Microbiota do trato gastrointestinal de frangos de corte..... | 5 |
| 2.2. Probiótico..... | 7 |
| 2.3. Óleos essenciais..... | 16 |
| 2.4. Enzima..... | 23 |
| 5.OBJETIVO GERAL..... | 33 |
| CAPÍTULO II..... | 34 |
| INTEGRIDADE INTESTINAL E DESEMPENHO DE FRANGOS CORTE SOB ESTRESSE INFECCIOSO..... | 35 |
| RESUMO..... | 35 |
| ABSTRACT..... | 36 |
| INTRODUÇÃO..... | 37 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 40 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 42 |
| CONCLUSÃO..... | 49 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 49 |
| CAPÍTULO III..... | 55 |
| PROBIÓTICO E ENZIMAS EM DIETAS COM DOIS NÍVEIS DE ENERGIA: PARÂMETROS PRODUTIVOS E INTESTINAIS DE FRANGOS DE CORTE..... | 56 |
| RESUMO..... | 56 |
| ABSTRACT..... | 57 |
| INTRODUÇÃO..... | 58 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 60 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 63 |
| CONCLUSÃO..... | 72 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 73 |
| CAPÍTULO IV..... | 82 |
| PROBIÓTICO E ENZIMAS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE: EFEITOS NA METABOLIZABILIDADE DAS DIETAS E PRODUÇÃO DE RESÍDUOS..... | 83 |
| RESUMO..... | 83 |
| ABSTRACT..... | 84 |
| INTRODUÇÃO..... | 85 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 87 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 91 |
| CONCLUSÃO..... | 104 |

| | |
|--|-----|
| BIBLIOGRAFIA | 105 |
| CAPÍTULO V | 112 |
| MICROBIOTA ILEAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS À DIFERENTES DIETAS | 113 |
| RESUMO | 113 |
| ABSTRACT | 114 |
| INTRODUÇÃO | 115 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 117 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 122 |
| CONCLUSÃO | 126 |
| BIBLIOGRAFIA | 126 |
| CAPÍTULO VI | 131 |
| 1.CONCLUSÃO GERAL..... | 132 |
| 2.CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 132 |
| 3.BIBLIOGRAFIA..... | 136 |
| 4.APÊNDICES | 152 |
| 5.VITA | 198 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------|---|
| AV | Altura de vilos |
| BE | Energia baixa |
| CDMS | Coeficiente de digestibilidade da matéria seca |
| CDPB | Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta |
| CMEB | Coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta |
| CMMS | Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca |
| CMPB | Coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta |
| CR | Coeficiente de resíduo |
| CV | Comprimento de vilos |
| DGGE | Eletroforese em gel por gradiente desnaturante |
| dNTP | Nucleotídeotrifosfase |
| DV | Densidade de vilos |
| EA | Excreção de água |
| EMA | Energia metabolizável aparente |
| EN | Excreção de nitrogênio |
| EP | Energia padrão |
| FI | Fator de indigestibilidade |
| IA | Intestino anterior |
| LV | Largura de vilos |
| MN | Matéria natural |
| MS | Matéria seca |
| PD | Produção de dejetos |
| PC | Profundidade de cripta |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| PNAs | Polissacarídeo não amiláceo solúvel |
| TGI | Trato gastrointestinal |
| UFC | Unidade formadora de colônia |

RELAÇÃO DE TABELAS

| CAPÍTULO II | Página |
|---|--------|
| 1. Escore de lesão em frangos de corte sob estresse infeccioso por <i>Eimeria máxima</i> e <i>E. acervulina</i> aos 21 e 28 dias de idade..... | 44 |
| 2. Parâmetros de morfometria (em μm) do íleo de frangos de corte sob estresse infeccioso por <i>Eimerias sp</i> | 46 |
| 3. Desempenho zootécnico de frangos de corte nos períodos de 14 a 21 e de 22 a 28 dias de idade | 49 |
| CAPÍTULO III | |
| 1. Composição e níveis nutricionais calculados para dietas experimentais nas fases inicial (1-21 dias) e de crescimento (22-35 dias)..... | 62 |
| 2. Desempenho zootécnico de frangos de corte nos períodos de 1 a 21 e de 22 a 35 dias de idade | 66 |
| 3. Comprimento relativo (cm/kg de peso vivo) dos segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade..... | 69 |
| 4. Peso relativo (g/kg de peso vivo) dos segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade..... | 70 |
| 5. pH de segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade..... | 72 |
| CAPÍTULO IV | |
| 1.Composição e níveis nutricionais calculados para dietas experimentais nas fases inicial (1-21 dias) e de crescimento (22-35 dias) | 89 |
| 2. Coeficiente de metabolizabilidade total da matéria seca (CMMS), proteína bruta (CMPB), energia bruta (CMEB) e EMA em dietas de frangos de corte no período de 11 a 14 dias de idade..... | 96 |
| 3.Método de coleta total e ileal para parâmetros de metabolizabilidade e digestibilidade das dietas de frangos de corte nos 32 a 35 dias de idade..... | 97 |

| | |
|---|-----|
| 4. Efeito de dietas de frangos de corte na produção de dejetos e excreção de água e nitrogênio (g/animal/dia) produzidos no período de 11 a 14 dias de idade..... | 101 |
| 5. Efeito de dietas de frangos de corte na produção de dejetos e excreção de água e nitrogênio (g/animal/dia) produzido no período de 32 a 35 dias de idade..... | 102 |
| 6. Efeito de dietas de frangos de corte no coeficiente de resíduo (g dejetos MS/g GP) nos períodos de 11 a 14 e 32 a 35 dias..... | 104 |
| CAPÍTULO V | |
| 1.Composição e níveis nutricionais calculados para dietas experimentais de frangos de corte..... | 119 |

RELAÇÃO DE FIGURAS

| CAPÍTULO IV | Página |
|---|--------|
| 1.Figura 1. DGGE do produto de PCR da região V3 do gene 16S do rRNA de amostras da digesta ileal de frangos de corte, alimentados com dietas contendo dois níveis de energia (Energia padrão-EP e Baixa energia-BE,) e diferentes aditivos: Controle (C), Probiótico (P), Enzima (E), Enzima + probiótico (E+P)..... | 125 |
| 2. Figura 2. Dendrograma dos amplicons obtidos pelo DGGE do PCR da região V3 do gene 16S do rRNA de amostras da digesta ileal de frangos de corte alimentados com dietas contendo dois níveis de energia (Energia padrão-EP, Baixa energia-BE) e diferentes aditivos: Controle (C), Probiótico (P), Enzima (E), Enzima +probiótico (E+P)..... | 126 |

CAPÍTULO I

1.INTRODUÇÃO

Um dos objetivos da avicultura é a busca constante de uma melhor eficiência alimentar. Muitos aditivos são rotineiramente adicionados em rações para controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo, visando promover melhoras nos índices zootécnicos e maximização da produção. Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009), aditivos são substâncias ou mistura de substâncias intencionalmente adicionadas aos alimentos, com finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desejáveis e suprimir as propriedades indesejáveis.

Nas últimas décadas a utilização de antibióticos e quimioterápicos (antimicrobianos) em doses profiláticas como aditivos às rações mostrou grandes benefícios na criação animal. Os antimicrobianos representam um grupo de compostos com estruturas químicas heterogêneas e propriedades físico-químicas diferentes, tendo como único ponto comum a capacidade antibacteriana (Jong et al., 1985). No trato gastrointestinal estão presentes algumas bactérias desfavoráveis ao hospedeiro que podem ser suprimidas pelos antimicrobianos, melhorando o desempenho do animal e estimulando o crescimento das bactérias benéficas. Contudo, a maioria dos antimicrobianos, na última década sofreu críticas relacionadas ao desenvolvimento de resistência bacteriana. Acredita-se que o uso de antimicrobianos em doses profiláticas na produção animal provocaria uma menor eficiência das substâncias antibióticas à terapia para animais e humanos. Essa questão levou à proibição dos antimicrobianos profiláticos na maioria dos países produtores de aves. A exigência por parte dos importadores por produtos livres de

resíduos de antibióticos e quimioterápicos promoveu à busca de alternativas aos antimicrobianos.

Muitas pesquisas foram feitas com os aditivos digestivos e equilibradores da microbiota intestinal. Dentre os aditivos equilibradores da microbiota intestinal estão os probióticos e os óleos essenciais. Segundo Fuller (1989), o probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo, capaz de afetar benéficamente o hospedeiro, com capacidade de promover o equilíbrio da microbiota intestinal, prevenindo doenças no trato digestório. Além disso, melhora a digestibilidade das rações (Apata, 2008), levando à maior utilização dos nutrientes, o que resulta em melhor desempenho zootécnico dos animais (Kabir et al., 2004; Mountzouris et al., 2007; 2010). Mountzouris et al. (2007) demonstraram que o probiótico, além de melhorar o desempenho de frangos de corte, foi efetivo na regulação da microbiota cecal, sendo capaz de reduzir o nível de *Salmonella enteritidis*, quando os animais por ela foram desafiados (Mountzouris et al., 2009).

Segundo Burt, (2004), os óleos essenciais são substâncias extraídas das plantas ou parte delas (flores, sementes, raízes, folhas, brotos, ramos, caules-madeira e frutos), com propriedade antimicrobiana à patógenos (como *E. coli*, *S. enteritidis* e *C. perfringes*), regulando a microbiota digestiva e promovendo a saúde intestinal. Os óleos essenciais também são capazes de induzir a produção de enzimas endógenas e aumentar a digestibilidade dos alimentos. Segundo Chao et al. (2000), a ação antibacteriana de 45 óleos essenciais testados contra um largo espectro de micro-organismos, demonstrou uma maior resistência das bactérias gram negativas em relação as gram positivas. Resultado semelhante foi encontrado por Smith-Palmer et al.

(1998) sobre patógenos de alimentos (*E. coli*, *S. enteritidis*, *C. jejuni*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*) quando utilizaram óleos essenciais a base de canela, tomilho e cravo-da-índia.

Dentre os aditivos digestivos encontram-se as enzimas. Segundo Choct et al. (1999), as enzimas exógenas são introduzidas à alimentação animal para aumentar a digestibilidade e a eficiência de utilização dos alimentos, reduzindo a ação de inibidores de crescimento, sobretudo dos polissacarídeos não amiláceos solúveis, encontrados como componentes estruturais das paredes celulares dos cereais. Zanella et al. (1999), observaram melhoria no ganho de peso e na conversão alimentar, em dietas a base de milho/farelo de soja, quando as enzimas xilanase, amilase e protease foram adicionadas à ração e, Steinfeldt et al. (1998b) e Garcia et al. (2008) constataram uma melhora na conversão alimentar e diminuição da viscosidade intestinal em dietas com trigo/farelo de soja pela introdução das enzimas xilanase e β -glucanase.

Diante da importância dos aditivos zootécnicos, brevemente descritos nesta introdução, o trabalho de tese apresentado nos capítulos que se seguem abordará o efeito do probiótico, dos óleos essenciais e das enzimas digestivas sobre parâmetros produtivos e sanitários. No capítulo I serão apresentados as hipóteses, os objetivos, bem como uma revisão sobre cada aditivo avaliado; no capítulo II, o probiótico e uma mistura de óleos essenciais serão avaliados em dietas para frangos submetidos ao estresse infeccioso por *Eimerias sp*; nos capítulos III, IV e V, será demonstrado o efeito do probiótico e das enzimas em dietas com dois níveis de energia e; para finalizar no capítulo VI será apresentado uma conclusão geral, com breves considerações a

respeito dos resultados obtidos com a utilização dos aditivos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Microbiota do trato gastrointestinal de frangos de corte

O trato gastrointestinal (TGI) das aves é composto predominantemente por bactérias, formando um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o TGI do animal desde o nascimento, tendem a permanecer ao longo da vida, passando a compor a microbiota do TGI da ave. A formação desta microbiota se dá principalmente logo após o nascimento e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar a população predominante do TGI. Os principais gêneros de bactérias identificados são *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus* e *Streptococcus*.

No entanto, Apajalahti et al. (2004) utilizando técnicas de DNA microbiano observaram que 90% das bactérias encontradas no TGI das aves são desconhecidas, demonstrando que o número de bactérias pode alcançar 10^9 e 10^{11} UFC/g de conteúdo ileal e cecal, respectivamente, durante os 3 primeiros dias pós-eclosão, permanecendo-se estável nos próximos 30 dias.

O número e a composição dos micro-organismos do TGI das aves variam consideravelmente. No englúvio existe a predominância de *Lactobacillus*, que produzindo ácido láctico e acético mantém o pH reduzido, impedindo o crescimento de outras bactérias. O pH no proventrículo e moela são extremamente baixos e poucas bactérias são capazes de tolerar este ambiente, predominando os *Lactobacillus*, *Streptococcus* e coliformes. No

duodeno, jejuno, íleo e cecos o pH está mais próximo da neutralidade e outros micro-organismos colonizam estes segmentos.

As espécies que compõe a microbiota do TGI podem ser de origem patogênica e benéfica e desempenham funções específicas. A população patogênica é responsável por infecção, putrefação intestinal, produção de toxinas e redução da digestão e absorção de nutrientes. A população benéfica atua na produção de vitaminas, estimulação do sistema imune, inibição de bactérias patogênicas, redução da produção de gases e melhora da digestão e absorção de nutrientes (Jeurissen et al., 2002).

As bactérias que habitam o TGI podem estabelecer-se de duas formas: em profunda associação com epitélio ou livres na luz intestinal (fixadas ou não ao substrato da dieta), mas se multiplicando mais rapidamente do que sua eliminação pelo peristaltismo intestinal (Jeurissen et al., 2002). Algumas espécies bacterianas não apresentam capacidade de aderir-se ao epitélio intestinal, tampouco se multiplicam em tempo que compense a eliminação pelo peristaltismo, mas permanecem no intestino se agregando a outras bactérias, que por sua vez estão aderidas à mucosa entérica (Gusils et al., 1999).

Os indivíduos de uma comunidade de bactéria não vivem independentes entre si, mas necessitam da interação que estabelecem com as demais bactérias e com o próprio ambiente do TGI. As comunidades de bactérias são energeticamente mais eficiente e metabolicamente mais flexíveis do que as espécies vistas individualmente. Se uma espécie de bactéria não desempenha um único papel para a sobrevivência da comunidade, essa é eliminada por pressão de seleção. Assim como, qualquer espécie menos adaptada é eliminada se aparecer outra mais eficiente (Apajalahti, 2005).

A abundância das bactérias presentes na microbiota do TGI também é regulada por fatores ambientais, substratos da dieta (enzimas e ácidos graxos voláteis, por exemplo) e substâncias antimicrobianas (bacteriocinas, entre outros) (Apajalahti & Kettunen, 2002). Através da dieta é possível afetar o desenvolvimento do TGI e a competição dos micro-organismos benéficos, podendo alterar não somente a dinâmica, mas também muitos processos fisiológicos devido ao produto final metabolizado pela microbiota (Shakouri et al. 2009). Aditivos tais como probióticos, óleos essenciais e enzimas também têm esse papel. Esses aditivos são utilizados na dieta de aves, com o objetivo de favorecer as relações entre as bactérias benéficas do TGI, beneficiando a saúde e o desempenho do animal (Demir et al., 2003; Huang et al., 2004; Oviedo-Rondón et al., 2006; Zhou et al., 2009; Mountzouris et al., 2010).

2.2. Probiótico

2.2.1. Definição

A história desse aditivo é conhecida há centenas de anos, mas somente no início do século XX foi estudada racionalmente e pesquisada com bases científicas. O uso de organismos probióticos surgiu no Oriente Médio, onde os médicos prescreviam iogurtes e outros leites fermentados como terapia para afecções gastrointestinais e também como estimulante do apetite. A primeira informação sobre leites fermentados, influenciando a saúde humana, foi publicada por Metchnikoff (1907), pesquisador do Instituto Pasteur de Paris, após observar a longevidade de camponeses búlgaros e atribuir o fato à dieta constituída basicamente de leite fermentado. Pesquisando os componentes do leite, Metchnikoff isolou o *Bacillus bulgaricus*, identificando-o depois como *Lactobacillus bulgaricus*. No seu livro "The prolongation of life", o

pesquisador especulou que micro-organismos nocivos ao aparelho intestinal expõem substâncias prejudiciais ao hospedeiro. Então, por ingestão de alimentos benéficos, no caso o leite fermentado, pode-se melhorar o ambiente intestinal, fortalecendo a saúde e aumentando a expectativa de vida do indivíduo.

Lilly & Stillwel (1965) foram os primeiros a utilizar o termo probiótico, verificando a ação de micro-organismos como reguladores da microbiota intestinal. Contudo, o marco do uso de probióticos em aves foi dado por pesquisadores finlandeses (Nurni & Rantala, 1973) administrando probiótico oralmente às aves de um dia de idade. Eles observaram que o probiótico alterou a sensibilidade das aves adultas à infecção causada por *Salmonella spp*, prevenindo o estabelecimento desta no intestino. Esta idéia foi conceituada como “Exclusão Competitiva”.

2.2.2. Composição e formas de administração

Os probióticos podem conter bactérias totalmente conhecidas e quantificadas ou culturas bacterianas não definidas. Há probióticos com diferentes composições de micro-organismos e mesmo aqueles pertencentes à mesma espécie, podem conter cepas diferentes (Griggs & Jacob, 2005).

As espécies animais para as quais existem produtos comerciais disponíveis são aves, suínos, bovinos, ovinos, equinos, cães e gatos. As espécies de bactérias mais comuns utilizadas no preparo dos probióticos são: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. johonsii*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Bifidobacterium spp*, *Bacillus subtilis* e *B. toyoi*. É importante que as bactérias sejam hospedeiro-específicas para que a máxima

eficácia do probiótico seja atingida (Butolo, 2001).

A dose resposta pode variar, mas resultados encontrados na literatura preconizam uma concentração de 10^8 a 10^{10} UFC/kg de ração (Patterson & Burkholder, 2003; Apata, 2008; Mountzouris et al., 2010). Os probióticos podem ser aplicados de várias formas: adicionados nas rações (Dos Santos et al, 2004; Mountzouris et al., 2007; 2009; 2010), na água de beber (Timmerman et al., 2006), em cápsulas gelatinosas (Doleyres & Lacroix 2005), inoculados em ovos de aves embrionados e na cama usada de aves (Schneitz, 1992; Andreatti Filho et al., 1997). Podem ser usados por períodos curtos ou continuamente, de acordo com a finalidade (Dale,1992). Tem-se relatado que a administração precoce de probióticos para neonatos diminuiu os índices de mortalidade e para jovens melhoraram o desempenho (Fox, 1988; Huang et al., 2004). De acordo com Menard et al, (2004), em caso de diminuição das defesas orgânicas, o uso do probiótico pode ser vantajoso pela normalização da população microbiana intestinal e pelo aumento da resistência das aves ao estresse.

2.2.3. Critérios de seleção para a efetividade do probiótico

Vários pontos devem ser considerados na seleção e produção de micro-organismos probióticos (Simon & Gorbach, 1984; Jones & Tomas, 1987; Vanbelle et al., 1990; Holzapfel & Schillinger, 2002; Smirnov, et al., 2005):

Devem ser habitantes naturais do TGI de animais saudáveis e espécie-específica. As estirpes adequadas para aves, por exemplo, podem não ter a mesma eficiência em outras espécies;

Devem ser capazes de produzir culturas viáveis em concentrações efetivas. Embora as medidas de concentração não sejam ainda precisamente estabelecidas, estima-se que deva ser por volta de 10^8 a 10^{10} UFC/kg de ração;

Os micro-organismos devem ser cultivados num ambiente muito semelhante ao que será introduzido, do contrário seu tempo de crescimento pode ser prolongado e eles podem não conseguir se multiplicar e colonizar o TGI;

Devem possuir bactérias capazes de serem ativadas e multiplicadas rapidamente, após a ingestão do produto, com o intuito de inibir patógenos e proporcionar condições de resistência ao peristaltismo;

As estirpes selecionadas devem ser tolerantes às enzimas salivares, ácidos gástricos, sais biliares e ácidos orgânicos voláteis;

Não podem ser patogênicos ou capazes de produzir efeitos adversos no hospedeiro e devem ser capazes de se aderir às células epiteliais do intestino e excretar bacteriocinas e;

Devem ser estáveis e precisam manter a viabilidade por longos períodos quando estocados e devem resistir aos antimicrobianos e as altas temperaturas do processamento.

2.2.4. Mecanismo de ação

Existem alguns modos de ação propostos para os probióticos na sua atividade contra micro-organismos patogênicos, aumentando a resistência do hospedeiro às desordens (doença e estresse). São mecanismos de ação:

2.2.4.1. Competição por sítios de adesão ou ligação

Este conceito também ficou conhecido como exclusão competitiva (Nurmi & Rentala, 1973). Presume-se que as bactérias probióticas ocupam

sítios de ligação (receptores ou pontos de ligação) na mucosa intestinal formando uma barreira física às bactérias patogênicas, reduzindo ou impedindo sua adesão (Junqueira & Duarte, 2008).

Certas espécies de bactérias produtoras de ácido láctico competem com coliformes por sítios de aderência intestinais (Sissons, 1989; Cross, 2002). Estudo conduzido com espécies de *Bifidobacterium* verificou que, a propriedade de competir pelos sítios de adesão é dependente do número de bactérias viáveis que chegam ao local a ser colonizado e do tipo de receptor específico para a bactéria (Vanbelle, 1990). Além disso, acredita-se na existência de interrelações entre alguns dos metabólitos produzidos pelas espécies probióticas. Algumas espécies de *Bifidobacterium*, por exemplo, têm afinidade de ligação pelos receptores β -glucosamina que são os mesmos sítios de ligação de algumas espécies de *E. coli* enteropatogênicas (Jin et al., 1997).

2.2.4.2. Atividade antimicrobiana

A produção de ácido láctico e acético pelas bactérias utilizadas como probióticos reduz o pH do ambiente do TGI, prevenindo o crescimento de vários patógenos, inclusive coliformes e permite o desenvolvimento de certas espécies de *Lactobacillus* e *Enterococcus* (Klaenhammer, 1982; Bjerrum et al., 2005). Outras substâncias microbianas como bacteriocinas, nisina, acidofilina, lactalina, peróxido de hidrogênio e toxinas letais para certos patógenos, também são produzidas por micro-organismos de ação probiótica (Vanbelle et al., 1990; Servin, 2004). Estas substâncias apresentam atividade inibitória tanto para bactérias gram-negativas quanto para gram-positivas, como a *Salmonella spp.*, *E. coli* e *Staphylococcus spp.* As bactérias intestinais, utilizando-se de ingredientes alimentares não absorvidos integralmente pelo hospedeiro,

produzem alguns ácidos orgânicos, como o propiônico, o acético, o butírico e o láctico cujo espectro de ação inclui também a inibição do crescimento de bactérias patogênicas (Rebolé et al., 2010). Aparentemente, a ação bacteriostática dos ácidos graxos é dependente do pH, pois quanto maior a redução deste, mais intenso será seu efeito antibacteriano (Bjerrum et al., 2005). Não deve ser descartada a ideia de que todas estas substâncias antibacterianas podem atuar em associação, não só entre si como fatores desencadeantes e processantes, mas também como bloqueio físico. Algumas bactérias secretam enzimas como a β -glucoronidase e hidrolases de sais biliares que liberam compostos como ácidos biliares com ação inibitória sobre as outras bactérias (Jin et al., 1997).

2.2.4.3. Neutralização de enterotoxinas e atividade metabólica

Certos micro-organismos produzem metabólitos que são capazes de neutralizar os efeitos de enterotoxinas produzidas por coliformes (Sissons, 1989) e ainda reduzem a absorção de substâncias tóxicas como, por exemplo, amônia (Vanbelle et al., 1990). Alguns probióticos que contém *Bifidobacterium* previnem a formação de aminas tóxicas pelas bactérias intestinais (Stewart & Chesson, 1993) e atuam sobre o metabolismo celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo (Kozasa, 1986) e, liberando enzimas (De Vrese et al., 2001) que auxiliam na digestão dos alimentos.

2.2.4.4. Aumento da imunidade

As bactérias probióticas têm capacidade de resposta imune sistêmica aumentando o número e a atividade de células fagocíticas do hospedeiro (Sissons, 1989). As aves possuem acúmulos de tecidos linfáticos espalhados ao longo do trato intestinal que são as placas de Peyer, Tonsilas

cecais e a Bolsa de Fabrícus. Esses tecidos captam antígenos disponibilizados no trato digestório, que estimulam as células B precursoras de IgA e, células T colaboradoras das placas de Peyer, para desenvolvimento de uma imunidade geral e inespecífica (Bar-Shira et al., 2003; Erf, 2004). Koenen et al. (2004) verificaram um aumento da produção de anticorpos tipo IgA, pelo estímulo imunológico da mucosa. Segundo esses autores, os anticorpos bloquearam os receptores da mucosa e reduziram o número de bactérias patogênicas na luz intestinal. Dalloul et al. (2003) relatam um aumento na produção de linfócitos intraepiteliais no intestino e na expressão de linfócitos CD3, CD4 e CD8, demonstrando que o estímulo da imunidade da mucosa intestinal pelo probiótico, previamente a uma infecção por *Eimeria acervulina*, podia proteger contra coccidiose. Koenen et al. (2004), constataram o aumento nos títulos de IgA, IgG e IgM em frangos que receberam *Lactobacillus plantarum* e *L. paracasei* isolados e em combinação e Kabir et al. (2004) encontraram um aumento significativo de anticorpos nas aves alimentadas com probióticos, refletindo num desempenho significativamente maior em relação aqueles que receberam a dieta controle.

2.2.4.5. Efeito trófico

Relatos de Cook & Bird (1973) indicaram que aves criadas em ambientes livres de patógenos apresentaram uma redução na altura de vilos, bem como na profundidade de cripta, sugerindo que o crescimento normal do epitélio intestinal dependa também do equilíbrio da população de microorganismos ali residentes. Assim, a integridade da mucosa do trato gastrointestinal confere aos frangos de corte condições adequadas para a digestão e absorção dos nutrientes.

Nos últimos anos, o emprego de micro-organismos intestinais têm proporcionado bons resultados na nutrição das aves, principalmente em condições experimentais. Alguns probióticos têm demonstrado efeito trófico no TGI animal, favorecendo os processos mitóticos na região crípta-vilos, aumentando o número e o tamanho de vilos e possibilitando maior área de absorção de nutrientes (Junqueira et al., 2009). Segundo Awad et al. (2009), a adição do probiótico *Enterococcus faecium* DSM 3530 nas dietas de frangos de corte teve um efeito significativamente melhor sobre o desempenho, o peso dos órgãos e a histomorfometria intestinal em relação aos animais que receberam dieta controle. Pelicano et al. (2003) observaram um aumento significativo na altura (duodeno) e perímetro de vilo (duodeno e jejuno) em aves alimentadas com probióticos, conferindo maior área de absorção de nutrientes (Macari, 1999).

2.2.5. Probiótico a base de *Enterococcus faecium*

O gênero *Enterococcus* caracteriza-se por ser constituído de micro-organismos colonizadores transitórios do trato gastrintestinal, indispensáveis no tratamento das diarreias, principalmente na invasão do *Clostridium* (Ecology Health Center, 2005).

Entretanto, o *E. faecium* foi, por muito tempo, confundido com o *E. faecalis*, uma espécie patogênica, razão pela qual seus estudos foram prejudicados, tendo seu início tardio em relação as demais bactérias benéficas ao organismo animal e humano (Ecology Health Center, 2005).

O *E. faecium* é uma bactéria não patogênica, com um tempo de reprodução de 19 minutos, diferente do *Lactobacillus* e do *Bifidobacterium* que é de aproximadamente 60 minutos. Com reprodução três vezes mais rápida,

seu efeito na remoção de bactérias patogênicas no intestino pode ser mais efetivo. É resistente ao ácido gástrico, sendo pouco inibido quando veiculado por suplemento oral (Ecology Health Center, 2005).

Na literatura pode-se encontrar trabalhos acerca de sua capacidade competidora ou antagônica a micro-organismos patogênicos (Audisio et al., 2000; Shin et al., 2008). Segundo Shin et al. (2008) foi possível constatar um efeito inibidor dos *Enterococcus faecium* SH 528, *E. faecium* SH 632 e *Pediococcus pentosaceus*, isolados do TGI de frangos de corte, contra *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*.

Essas habilidades ou características dos *Enterococcus sp* estão presentes em pesquisas com probióticos. Porém, a maioria dos probióticos *Enterococcus* se apresenta em combinação com outros micro-organismos. Mountzouris et al. (2007) avaliando a eficácia de um probiótico contendo cepas de *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Pediococcus* em dietas para frangos de corte constataram um desempenho (consumo de ração e ganho de peso) semelhante aos animais que receberam dietas com antibiótico. Além disso, esse probiótico apresentou um efeito regulador da microbiota, favorecendo o desenvolvimento e a proliferação de *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* e estimulou a produção das enzimas α -galactosidase e β -galactosidase pela comunidade microbiana cecal.

Henrique et al. (1998) também não encontraram diferenças significativas ao comparar dois tipos de probióticos, um a base de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidiphylus* e *Sacharomyces cerevisiae* e outro constituído por *Bacillus subtilis*, com dois tipos de antibióticos, virginiamicina e avilamicina. Porém, constataram uma redução significativa na

mortalidade (48,5%) para as aves que foram alimentadas com probióticos.

O efeito semelhante dos probióticos em relação aos antibióticos para desempenho é bem visto na produção avícola, uma vez que o primeiro poderia, caso necessário, substituir o segundo sem afetar o desempenho. Contudo, trabalhos mostrando piora nos resultados de desempenho com o uso de probiótico a base de *Enterococcus faecium* foram encontrados na literatura. Gonzales (1998) e Loddi et al. (2000) comparando a inclusão de *Enterococcus faecium* com antibiótico avoparcina em dietas para aves, constataram que as aves alimentadas com probiótico apresentaram piora significativa de desempenho em relação ao antibiótico.

Contudo, a resposta contraditória encontrada na literatura científica a respeito da eficácia do probiótico *Enterococcus faecium*, também se aplica aos demais probióticos constituídos por outros micro-organismos e está associada às interações existentes no TGI do animal (Remhan et al., 2007) e também a multifatores, tais como, a viabilidade da cepa microbiana, o nível e a forma de administração, frequência de aplicação, tipo de dieta, idade da ave, condições de higiene do sistema de produção e fatores estressantes (Mountzouris et al., 2010).

2.3. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são substâncias extraídas das plantas ou parte delas (flores, sementes, raízes, folhas, brotos, caules e frutos) por destilação desde o século XIII D.C., mas teve seu uso disseminado apenas no século XIV D.C. em Londres (Burt, 2004). Contudo, a partir de 1881, com os estudos de De La Croix sobre suas propriedades antimicrobianas e efeitos flavorizantes é que foi amplamente disseminado (Burt, 2004). Em 1945, com o

desenvolvimento da química farmacêutica sintética e emergência dos antibióticos produzidos pela fermentação de bactérias, houve uma diminuição do mercado e da pesquisa de plantas medicinais (Scheuermann & Cunha Junior, 2006) e o uso de óleos essenciais como substâncias antimicrobianas quase desapareceu (Cowan, 1999). Nos anos 90, devido às restrições aos antimicrobianos melhoradores de crescimento na produção animal e o crescente apelo por consumo de produtos naturais, os óleos essenciais re-emergiram como alternativa de uso aos antibióticos e quimioterápicos melhoradores de crescimento.

2.3.1. Composição

A análise detalhada da composição dos óleos essenciais é obtida através de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (Jerkovic et al., 2001; Delaquis et al., 2002). Os óleos essenciais do ponto de vista químico são constituídos pela mistura de vários componentes com alta complexidade, o que dificulta explicitar suas propriedades (Senatore, 1996; Russo et al., 1998). São geralmente misturas de terpenóides (linalol, geraniol, mentol, citronilol, α -terpinol, borneol, tuianol e citronilol) e uma variedade de hidrocarbonetos (fenóis como o timol, carvacrol, eugenol, gaiacol) e aldeídos aromáticos (como o cinomaldeído, cuminal e felandrol) (Dorman & Deans, 2000). A maioria dos componentes é caracterizada por dois ou três componentes em concentrações bastante altas (85%) comparado com outros em quantidade traço (Senatore, 1996; Bauer et al., 2001). Geralmente, os principais componentes refletem as características físicas e biológicas dos óleos essenciais. Os componentes fenólicos são os principais responsáveis pelas propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais (Cosentino et al., 1999).

Alguns estudos mostram que a atividade dos principais componentes é regulada por outras moléculas (Gill et al., 2002; Morey & Canillac, 2002). Dependendo da concentração dessas moléculas traço, os óleos essenciais podem ter suas propriedades antimicrobianas reduzidas ou potencializadas. É o caso dos óleos essenciais extraídos da artemísia (Marino et al., 2001); tomilho (Paster et al., 1995; Marino et al., 1999) e orégano (Paster et al., 1995).

A composição dos óleos essenciais também é afetada por fatores ligados a sua origem, como fatores ambientais (localização geográfica, clima, solo, chuvas, estação do ano e período de colheita) e genéticos (cultivares, parte da planta, assim como a fase de seu desenvolvimento) (Cosentino et al., 1999; Marino et al., 1999; Faleiro et al., 2002). Assim um óleo essencial extraído de plantas diferentes, mas de uma mesma espécie pode apresentar diferentes graus de suas propriedades antimicrobianas (Dorman & Deans, 2000). Segundo Marino et al. (1999), óleos essenciais produzidos durante ou imediatamente após a floração, geralmente apresentam maior atividade antimicrobiana. Delaquis et al. (2002) também constataram que o óleo essencial extraído da semente de coentro tem diferente composição comparado ao óleo extraído das folhas jovens da mesma planta.

2.3.2. Modo de ação dos óleos essenciais na nutrição de frangos

2.3.2.1. Sensibilidade oronasal e condicionamento digestivo

Os efeitos benéficos estimulantes de plantas condimentares na alimentação datam de muitos anos e tem sido recentemente pesquisada em experimento com animais. Os óleos essenciais a partir de alho, orégano,

pimenta, canela, cominho, coentro, cebola entre outros, e seus compostos atuam como condimento através da ativação de três mecanismos de sensores periféricos nas cavidades oral e nasal (ou cavidade oronasal): sentido somatisador, cheiro e gosto (Tominaga & Julius, 2000; Platel & Srinivasan, 2004; Srinivasan, 2007). A sensibilidade oronasal prepara o trato gastrointestinal para a recepção do alimento e estimula as secreções e a mobilidade intestinal (Katschinski, 2000; Hiraoka et al., 2003; Laugerette et al., 2005). O animal percebe através dos receptores presentes na mucosa oronasal, o cheiro e o gosto condimentar do alimento e envia a informação para o nervo trigeminal no cérebro que dá o sinal de alerta para o aumento da motilidade gastrointestinal, a produção de saliva e consequente produção de enzimas e secreções gástricas e biliares (Kaunitz & Akiba, 2001; Akiba et al., 2002; Platel & Srinivasan, 2004) para proteger o epitélio digestivo. Contudo, como as aves ao contrário dos mamíferos, apresentam baixa percepção a gostos e cheiros condimentares, sua tolerância para óleos essenciais no alimento é bastante alta. Segundo Mason et al. (1991) e Roura et al. (2008), aves alimentadas com 20000 ppm de capsaicina e outros óleos essenciais se mostraram indiferentes a sua presença no alimento.

2.3.2.2. Atividade antimicrobiana e reguladora da microbiota do TGI

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi verificada em muitos trabalhos sobre bactérias, fungos, protozoários e vírus (Larrondo et al., 1995; Tabak et al., 1999; Dorman & Deans, 2000). Segundo Chao et al. (2000) a ação antibacteriana de 45 óleos essenciais testados contra um largo espectro de micro-organismos, demonstrou uma maior resistência das bactérias gram

negativas em relação as gram positivas. Resultado semelhante foi encontrado por Smith-Palmer et al. (1998) sobre patógenos de alimentos (*E. coli*, *S. enteritidis*, *C. jejuni*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*) quando utilizaram óleos essenciais a base de canela, tomilho e cravo-da-índia. A composição química dos óleos essenciais pode variar de acordo com a localização geográfica e período de colheita das plantas. Esta possível variação na composição é suficiente para causar graus de suscetibilidade das bactérias gram positivas e negativas. Além disso, existe o efeito sinérgico ou antagônico entre os componentes principais (em maior nível) e os de menor representatividade presentes nos óleos essenciais, que pode potencializar ou reduzir a ação antimicrobiana. O sinergismo entre o carvacrol e seu precursor *p*-cineme sobre células vegetativas de *Bacillus cereus* foi demonstrado por Ultee et al. (2002). O *p*-cineme tem um efeito antimicrobiano, capaz de aumentar a permeabilidade das membranas das células bacterianas, favorecendo o transporte do carvacrol para o interior das células.

A mistura de cinamaldeído e eugenol (250 e 500 µg/mL, respectivamente), inibiram o crescimento de *Staphiloccocus* sp., *Bcacillus* sp., *Microccocus* sp. e *Enterobacter* sp. por mais de 30 dias, enquanto esses compostos aplicados individualmente não demonstraram esse mesmo efeito (Moleyar & Narasimham, 1992).

O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais na nutrição de frangos previne doenças causadas por micro-organismos patogênicos, regula a microbiota do TGI e proporciona melhor desempenho do animal. O efeito de dois diferentes óleos essenciais não identificados (*blends*) foi constatado contra *Clostridium perfringens* no intestino e excreta de frangos por Mitsch et al.

(2004). Segundo os autores, esse efeito foi obtido pela ação direta dos óleos essenciais sobre as bactérias. Contudo, as enzimas digestivas induzidas pelos óleos essenciais da dieta podem também aumentar a digestibilidade dos nutrientes e, regular e estabilizar a microbiota digestiva. A inativação de toxinas de *C. perfringens* por enzimas digestivas, como a tripsina (Arbuckle, 1972; Baba et al., 1992) pode explicar como a colonização desta bactéria foi reduzida com o uso de óleos essenciais. Resultados semelhantes foram apresentados por Sims et al. (2004), demonstrando que frangos desafiados por *C. perfringens* apresentaram menos lesões intestinais e melhor desempenho, em relação a dieta controle, quando receberam dieta com mistura comercial de óleos essenciais ou bacitracina. Cross et al. (2002) e Jang et al. (2007) constataram a redução na contagem de coliformes em aves suplementadas com óleo de tomilho e com uma mistura comercial de óleos essenciais, incluindo o óleo de tomilho. Resultados semelhantes também foram encontrados com a mistura formada por capsaicina, cinamoaldeído e carvacrol, diminuindo o número de *E. coli* e *C. perfringens* (Tucker, 2002; Jamroz et al., 2003). Tellez et al. (1993) e Orndorff et al. (2005) em frangos e Vicente et al. (2007) em poedeiras também demonstraram efeito profilático da capseacina sobre *Salmonella enteritides*.

O efeito dos óleos essenciais tem sido demonstrado no controle de coccidiose em frangos de corte. O efeito de diferentes tratamentos no desempenho de frangos infectados com espécies de eimérias foi investigado por vários pesquisadores. Ibrir et al. (2002) com tomilho, Giannenas et al. (2003) com orégano e Christaki et al. (2004) com uma preparação comercial, não encontraram efeito entre os tratamentos para a excreção de oocistos

durante o período de infecção, mas encontraram um benefício significativo no desempenho e diminuição na excreção de oocistos nas fezes no período pós infecção. Evans et al. (2001) constataram a redução da excreção de oocistos em frangos que receberam dietas contendo 50 ppm da mistura de óleos essenciais (cravo-da-índia 1%, tomilho 0,1%, hortelã-pimenta 0,1% e limão 0,1%) comparado com aqueles alimentados com dietas controle (não suplementadas). Assim como, Oviedo-Rondón et al. (2006) e Hume et al. (2006) que demonstraram o efeito de uma mistura comercial de óleos essenciais na regulação da população de micro-organismos intestinais de frangos vacinados contra coccidiose, evitando drásticas alterações após a infecção por coccídios.

Outros estudos sobre o efeito de óleos essenciais nas dietas para frangos de corte foram obtidos para respostas morfológicas e histológicas do trato intestinal. Jamroz et al. (2006) constataram um aumento no muco das paredes do jejuno em frangos alimentados com mistura comercial de óleos essenciais. A produção de muco pode afetar a adesão das bactérias na mucosa intestinal e promover mudanças na microbiota intestinal e evitar a proliferação de patógenos (Jeurissen, et al., 2002).

2.3.3. Óleos essenciais em parâmetros de produção de frangos

Vários trabalhos foram publicados ao longo das últimas décadas sobre o efeito de óleos essenciais no desempenho produtivo, atividades de enzimas digestivas e digestibilidade de dietas de frangos de corte. Um resumo sobre o efeito dos óleos essenciais no desempenho foi concentrado na revisão de Windisch et al. (2008). Pode-se observar em grande parte dos trabalhos uma redução no consumo de alimento e uma melhora na conversão

alimentar. Diferindo desses resultados, outros autores (Lee et al., 2003; Hernández et al., 2004, Jang et al., 2007), usando óleo essencial de orégano, tomilho, pimenta, alho e mistura de óleos essenciais com tomilho não encontraram diferenças nos parâmetros de desempenho. Contudo, diferentes pesquisas desenvolvidas em muitos países ilustram o efeito positivo dos óleos essenciais no desempenho de frangos. Assim como Kamel (1999; 2000) usando compostos a base de capsaicina e polifenóis, Jamroz et al. (2003) a base de capsaicina, cinamaldeído e carvacrol, Lewis et al. (2003) usando óleo essencial a base de alho e Alcicek et al. (2003; 2004) usando uma mistura de óleos essenciais a partir de extratos de alho e tomilho. Também foi encontrado um efeito de melhora no desempenho associado à redução do peso intestinal (Demir et al., 2003), com redução na profundidade de cripta no íleo quando óleos essenciais a base de alho e tomilho foram incluídos na dieta. Em um estudo com mistura de óleos essenciais a partir de orégano, canela, tomilho e pimenta (Zhang et al., 2005) em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho (BMD e virginamicina), foi encontrado valores de conversão alimentar foram semelhantes em ambas as dietas. Garcia et al.(2007) também encontraram resultados semelhantes entre antibiótico avilamicina e o óleo essencial a partir de sálvia, tomilho e orégano (capsaicina, cinamaldeído e carvacrol) para parâmetros de digestibilidade da dieta.

2.4. Enzima

2.4.1. Caracterização das enzimas

As enzimas são proteínas globulares, que atuam como catalizadores biológicos, sobre substratos específicos, dependente das condições ótimas de

temperatura e pH, e aceleram a velocidade das reações químicas no organismo sem serem alteradas nesse processo. As enzimas se classificam com base nas reações que desempenham. Algumas enzimas são proteínas simples, outras conjugadas, e contém grupos prostéticos constituídos por íons metálicos, por coenzimas ou por ambos (Lehninger et al., 1995).

Além da atividade catalítica, as enzimas podem ser caracterizadas por propriedades físicas e químicas como solubilidade, mobilidade eletroforética, número de cadeias polipeptídicas, coeficiente de sedimentação, massa molecular, composição de aminoácidos, sequência peptídica, estrutura secundária, terciária e eventualmente quaternária.

A estrutura molecular das enzimas é bastante frágil e pode ser desnaturada pelo calor, pelos ácidos, pelas vitaminas, pelos minerais, pelos metais pesados e por outros agentes oxidantes. Por essa razão existe a preocupação de que as enzimas utilizadas na alimentação animal possam manter o nível de atividade suficiente para se obter resposta significativa. Segundo Acamovic & McCleary (1996) e Jensen (1998), as enzimas exógenas devem ser estáveis durante o armazenamento, compatíveis com minerais, vitaminas e outros microingredientes encontrados no premix; termoestáveis a todas as temperaturas encontradas durante o processo de produção do alimento e, resistentes a variações de pH e atividade proteolítica do trato digestório do animal.

2.4.2. Obtenção das enzimas utilizadas na alimentação animal

As enzimas utilizadas nas rações avícolas são produzidas, industrialmente em laboratórios especializados por meio de culturas aeróbias, sendo derivadas principalmente da fermentação bacteriana, fúngica e de

leveduras destacando-se bactérias do gênero *Bacillus* e de fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* (Fireman & Fireman, 1998).

As principais enzimas disponíveis no mercado são as carboidratases, as proteases e a fitase. Dentre as carboidratases, as xilanases são obtidas a partir do *Trichoderma longibrachiatum*; as β -glucanases são sintetizadas pelos *Bacillus circulans*, *B. subtilis* e o *Penicillium emersonii* e; as amilases são produzidas principalmente por micro-organismos do gênero *Bacillus* (Vanbelle, 1992; Oliveira, et al., 2007).

2.4.3. Enzimas exógenas para aves: breve histórico

O estudo das enzimas com o objetivo de melhorar o valor nutricional dos alimentos para aves teve início na década de 50, quando um grupo de pesquisadores da Universidade de Washigton/EUA passaram a investigar as razões do baixo desempenho e cama úmida, quando utilizavam determinados cereais, como o trigo, cevada e centeio, nas dietas de frangos de corte. Os pesquisadores verificaram que quando os cereais eram umedecidos antes de serem fornecidos às aves melhoravam o desempenho dos frangos, o que poderia ser devido a liberação de enzimas dos cereais em decorrência do umedecimento, desencadeando a pré-germinação da semente. Posteriormente, a equipe de pesquisadores verificou que o pré-umedecimento poderia ser substituído pela adição de uma amilase microbiana. Na época o alto custo de produção e a baixa estabilidade desta enzima ao calor e às condições adversas no trato digestivo, até atingir o substrato alvo, impediram a aplicação comercial desta descoberta (Graham & Inberr, 1993).

As pesquisas foram se desenvolvendo concentradas, principalmente no desenvolvimento de enzimas que pudessem melhorar o baixo desempenho

e cama úmida das aves alimentadas com dietas contendo ingredientes com altos teores de polissacarídeos não amiláceos, como o trigo, a cevada e o centeio, ingredientes bastante utilizados na Europa.

O fato de as enzimas serem muito específicas na sua reação catalítica determina que os produtos que contenham só uma enzima sejam insuficientes para produzir o máximo de benefício como suplemento em dietas avícolas. Isto sugere que misturas de enzimas ou sistemas multienzimáticos sejam mais efetivos, atuando sobre uma série de polissacarídeos da parede celular dos grãos, levando ao melhor aproveitamento da dieta. Esses complexos seriam mais efetivos em frangos jovens, porque nesta fase, estes ainda não apresentam o desenvolvimento completo do trato gastrointestinal, assim como do seu sistema enzimático (Vanbelle, 1992; Steinfeldt et al., 1998a; Batal & Parsons, 2002; Mourão & Pinheiro, 2009).

Segundo Bedford & Morgan (1996), a utilização de complexos enzimáticos em dietas com matérias primas de alta viscosidade, como trigo, centeio e cevada seria uma rotina na indústria avícola europeia desde a década de 80, apresentando vantagens técnicas e econômicas.

2.4.4. Polissacarídeos não amiláceos

Polissacarídeo é o nome dado à macromolécula constituída de um grande número de monossacarídeos (unidade simples de açúcar) unidos por ligações glicosídicas (IUPAC, 2005).

Os polissacarídeos não amiláceos solúveis (PNAs) são macromoléculas de polímeros de açúcares simples (monossacarídeos) resistentes a hidrólise no trato gastrointestinal de animais não ruminantes devido ao tipo de ligações das unidades de açúcar.

Os PNAs (arabinoxilanos, D-xilanos, β -glucanos, D-mananos, galactomananos, xiloglucanos, entre outras) presentes nas dietas não são digeridos por apresentarem ligações β . As ligações β (1 \rightarrow 4) D glucanos, são resistentes às enzimas de degradação do amido, que possui as ligações α de mais fácil degradação. O trigo apresenta quantidade de arabinoxilanos, seguidos pelo centeio. A cevada tem um alto conteúdo de β -D glucanos, fator responsável pela sua baixa digestibilidade nas dietas para frangos (Smits & Annison, 1996).

Os arabinoxilanos são polissacarídeos complexos formados pelos açúcares arabinose e xilose em uma estrutura ramificada. Quando em presença de água são facilmente hidratados e se tornam viscosos (Smits & Annison, 1996). A solubilidade e a viscosidade dos PNAs dificultam a interação das enzimas endógenas aos substratos da digesta, influenciando na digestão do amido, gordura e proteína e diminuindo a energia metabolizável das dietas, resultando em baixo desempenho dos animais. A viscosidade também aumenta o tempo de retenção da digesta no TGI das aves, favorecendo a proliferação microbiana intestinal (Langhout et al., 1999; Hubner et al., 2002; Shakouri et al., 2009) e também pode causar alterações na fisiologia e morfologia do trato gastrointestinal (Shakouri et al., 2009).

Chesson (2001) cita alguns dos mecanismos que podem teoricamente aumentar a viscosidade da digesta pela ingestão dos PNAs:

1. Conexão cruzada e oxidativa e formação irreversível do gel;
2. Interações não covalentes entre regiões adjacentes de polímeros de arabinoxilanos altamente ramificados liberados do endosperma e da camada de aleurona e;

3. Alto peso molecular destes polissacarídeos.

2.4.5. Função das enzimas exógenas em dietas

Os efeitos adversos dos arabinoxilanos e glucanos são diminuídos quando esses polímeros são parcialmente hidrolizados. As enzimas glucanases e xilanases causam uma despolimerização parcial dos glucanos e arabinoxilanos, reduzindo a viscosidade do conteúdo intestinal, aumentando assim a interação das enzimas digestivas com os substratos da dieta, resultando em melhor digestão e absorção de nutrientes (Choct et al., 1999).

Contudo as enzimas também são usadas em dietas com baixa viscosidade, principalmente as amilases. O objetivo com a introdução destas enzimas é melhorar a taxa de digestão do amido no intestino delgado. Noy & Sklan (1995) relatam que em nível de íleo, a digestibilidade do amido raramente é superior a 85%, o que implica em mais amido que não é digerido no intestino delgado (aproximadamente 15%), servindo de fonte energética nos processos de fermentação para os micro-organismos residentes (Jamroz et al., 2002), principalmente nos cecos dos frangos (Van Der Wielen et al., 2000; Ricke, 2003).

2.4.6. Fatores que afetam a eficiência das enzimas

Além da especificidade enzima/substrato, o tipo de cereal incluído na dieta, o nível de enzima administrado à ração e a idade das aves são fatores que podem influenciar a eficiência das enzimas em dietas para aves.

A composição de nutrientes e fatores antinutricionais pode variar muito de um cereal para outro. O trigo, por exemplo, apresenta uma grande quantidade de PNAs em sua composição. Quando introduzido nas dietas, geralmente aumenta a viscosidade da digesta, baixando a digestibilidade da

dieta e o desempenho dos animais. Já no milho a presença de PNAs é bem menor e os efeitos adversos são menos intensos, o que o torna mais digestível em relação ao trigo. Essa característica favorece a eficiência das enzimas exógenas para dietas com farelo de trigo, pois o percentual de digestibilidade do milho já é alto, assim a margem de aumento conseguida com a introdução de enzimas se torna menor (Amerah et al., 2008) em relação a digestibilidade do trigo.

A origem do cereal, bem como a cultivar também pode afetar a digestibilidade e a eficiência da dieta (Ravindram et al. 2006). Condições de solo, clima e estação do ano pode caracterizar um maior ou menor nível de fatores antinutricionais presente nos cereais (Çiftci et al., 2003).

Além disso, a idade também tem um efeito importante na eficiência da enzima. Segundo Nitsan et al. (1991) e Noy & Sklan (1997) as aves jovens apresentam limitações das atividades das enzimas digestivas e das funções do trato gastrointestinal, contudo a medida que crescem aumenta a produção das enzimas endógenas, aumentando também a absorção de aminoácidos e energia pelo desenvolvimento do trato gastrintestinal (Noy & Sklan, 1995). Olukosi et al. (2007) observaram uma maior retenção da matéria seca, energia e nitrogênio com o aumento da idade. Eles concluíram que os frangos jovens são mais beneficiados com a ação das enzimas, já que em aves mais velhas a retenção de nutrientes diminui e a eficiência das enzimas exógenas fica menos evidente. Steinfeldt et al. (1998a) e Zhou et al. (2009) também verificaram uma maior digestibilidade da dieta e um maior desempenho zootécnico das aves alimentadas com enzimas incluídas às dietas, porém esse efeito foi mais pronunciado nas aves jovens.

2.4.7. Efeito das enzimas exógenas nas dietas

Zanella et al. (1999), observaram melhoria no ganho de peso e na conversão alimentar de 1,9 e 2,2%, respectivamente, em dietas a base de milho/farelo de soja, quando uma mistura de xilanase, amilase e protease foi introduzida a dieta. Os autores Steinfeldt et al. (1998b) e Garcia et al. (2008) também constataram melhora na conversão alimentar e diminuição da viscosidade intestinal em dietas com trigo/farelo de soja, quando as enzimas xilanase e β -glucanase foram adicionadas à dieta.

Wyatt & Bedford (1998), investigaram a resposta da energia metabolizável à suplementação da mistura das enzimas protease e amilase, substituindo diretamente a gordura adicionada por milho (reduzindo os níveis totais de energia). A substituição direta da gordura pelo milho diminuiu os níveis de energia em 3,9% na dieta inicial e aproximadamente 9% nas dietas de crescimento e terminação (3150 contra 3030 kcal/kg, inicial; 3320 contra 3049 kcal/kg, crescimento; 3370 contra 3090 kcal/kg, terminação). A redução de energia não teve efeito sobre o peso vivo final e a conversão alimentar, promovendo um desempenho semelhante às aves em relação as que receberam a dieta padrão. Estes resultados demonstram que o uso adequado de enzimas pode liberar energia de dietas milho/farelo de soja, resultando num desempenho equivalente à dieta de alta energia e custo de ração por kg de carne mais barato.

Zanella et al. (1999), observaram redução na atividade endógena das enzimas pancreáticas, amilase e tripsina em frangos de 21 dias de idade, alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas amilase e protease. Os autores concluíram que a inclusão de enzimas exógenas nas

dietas avícolas reduz a síntese de enzimas endógenas. Em consequência, o organismo tem a disposição mais aminoácidos para a síntese proteica. De acordo com Garcia (1997), em situações normais, aproximadamente 25% das necessidades diárias de nitrogênio podem ser destinadas para síntese de enzimas endógenas.

Mathlouthi et al. (2002) avaliaram o efeito da adição de xilanase e β -glucanase sobre o desempenho, a digestibilidade dos nutrientes, as condições físico-químicas do intestino e a microbiota cecal de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho, arroz e cevada. Os autores observaram melhora na digestibilidade dos nutrientes através da melhora da energia metabolizável aparente.

Wang et al. (2005) avaliando dietas a base de trigo com suplementação de xilanase e β -glucanase verificaram efeito das enzimas no desempenho (ganho de peso e conversão alimentar) e na digestibilidade da proteína bruta e na EMA, aumentando significativamente os valores destas variáveis. Além disso, a inclusão das enzimas promoveu uma diminuição no tamanho dos órgãos e do trato gastrointestinal (o peso de cada segmento diminuiu linearmente- $P < 0,05$ -) e um aumento na produção de ácidos graxos voláteis.

Józefiak et al. (2007), pesquisando o efeito da suplementação de xilanase em dietas com trigo, tritcale e arroz verificaram que a viscosidade da dieta e o peso relativo dos cecos diminuíram com introdução da enzima, mas houve uma maior fermentação microbiana (maior produção de ácidos graxos voláteis) nas dietas com arroz.

Gao et al. (2008) avaliando dietas a base de trigo/milho/farelo de

soja verificaram um aumento no desempenho dos animais, uma diminuição no peso relativo do duodeno, jejuno, pâncreas aos 21 dias de idade e dos cecos aos 49 dias, quando a mistura das enzimas xilanase, β -glucanase, celulase e pectinase) foram introduzidas às dietas. Essas enzimas também promoveram um maior pH do conteúdo do duodeno e jejuno aos 21 dias e um menor pH dos cecos aos 49 dias.

Zhou et al. (2009) avaliando dietas a base de farelo de trigo e milho com diferentes níveis de energia metabolizável (12,55, 12,30, 12,05, 11,80 e 11,55 MJ/kg) nas fases inicial, crescimento e terminação, verificaram que a metabolizabilidade da matéria seca diminuiu significativamente com a redução da energia metabolizável (EM) das dietas inicial e de crescimento, mas a adição da mistura com enzimas xilanase, α -amilase e protease às dietas proporcionou aumento desta variável em todas as dietas e fases analisadas. Contudo o maior aumento foi obtido com o menor nível de energia metabolizável. A energia metabolizável aparente (EMA) também diminuiu linearmente, com a redução do nível de EM da dieta, para as fases inicial, crescimento e terminação, mas aumentou em todas as fases com a introdução das enzimas. Contudo, o maior aumento para esta variável foi obtido com 11,55 MJ/kg de EM na fase inicial. A retenção da proteína bruta (PB) aumentou pela suplementação com enzima nas dietas com os níveis de EM de 11,55 e 11,80 MJ/kg. Os autores concluíram que o nível de energia metabolizável da dieta afetou a metabolizabilidade da MS, PB e a EMA e a suplementação com enzimas aumentou a metabolizabilidade destas variáveis e da EMA, sendo esta melhoria mais pronunciada nas dietas com menor EM.

4. HIPÓTESES

Neste trabalho, as seguintes hipóteses foram estabelecidas para identificar o efeito de aditivos em dietas para frangos de corte:

a) Dietas com probiótico ou óleos essenciais melhoram o desempenho e a saúde intestinal;

b) Dietas com probiótico e/ou enzimas melhoram o desempenho e diminuem os parâmetros de morfometria e pH do TGI; aumentam parâmetros de metabolizabilidade e digestibilidade da dieta e reduzem a produção de resíduos para o ambiente. Além disso, são capazes de alterar a microbiota do lúmen ileal.

5. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar em dietas para frangos de corte, o efeito do probiótico a base de *Enterococcus faecium*, dos óleos essenciais extraídos de tomilho e cravo-da-índia e da mistura das enzimas xilanase, amilase e β -glucanase sobre parâmetros produtivos e sanitários.

CAPÍTULO II

Integridade intestinal e desempenho de frangos corte sob estresse infeccioso

Intestinal integrity and performance of broilers under infectious stress

I. I. Santos, A. M. Kessler, J. F. Mendes, M. F. Gianfelici, R. V. Labres

RESUMO

Considerando a melhora na produtividade animal e a ação trófica de alguns aditivos sobre a saúde intestinal, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes aditivos sobre a integridade, a morfometria intestinal e o desempenho de frangos de corte, sob condições de estresse infeccioso por *Eimerias sp.* Utilizou-se 240 frangos Cobb de 1 dia de idade e 4 dietas experimentais: Dieta controle sem aditivo, probiótico, óleos essenciais e antibiótico. Avaliou-se o ganho de peso (GP), o consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA); os escores de lesão; a altura, largura e densidade de vilos, profundidade de cripta (PC) e a relação vilos:cripta (V:C) nos segmentos intestinais. Aos 28 dias de idade foi encontrado nos animais que consumiram óleos essenciais um maior ($P<0,05$) escore de lesão em relação aos demais. Aos 21 e 28 dias, uma menor PC e maior ($P<0,05$) relação V:C foram verificados nos animais que receberam antibiótico na dieta. As dietas com probiótico e antibiótico possibilitaram um maior ($P<0,05$) CR e GP aos 21 dias em relação as demais dietas. Porém, somente os animais que receberam as dietas com antibióticos e controle apresentaram melhor ($P<0,05$) CA. Aos 28 dias de idade os animais que consumiram antibiótico na dieta apresentaram

uma CA melhor ($P < 0,05$) do que aqueles da dieta com óleo essencial. Com exceção do CR aos 21 dias, as dietas analisadas não melhoraram ($P > 0,05$) o desempenho e o escore de lesão dos animais em relação à dieta controle. Contudo, a dieta com antibiótico diminuiu significativamente a PC e aumentou ($P < 0,05$) a relação vilos:cripta, indicando melhor eficiência digestiva para os animais.

Palavras chave: Antibiótico; cripta; probiótico; óleos essenciais

ABSTRACT

Considering improvement in animal production and the trophic action of some additives about intestinal health, this paper aims at evaluating the influence of different additives around intestinal performance and morphometry from broilers under infectious stress by *Eimerias sp.* 240 day-old broiler chickens Cobb and 4 trials: Control diet, probiotic, essential oil and antibiotic. The weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion (FC) and villus height, breadth and density and depth crypts (DC) and the relation of villus height:depth crypt (V:D) from intestinal segments were evaluated. The essential oils diet in the 28 days-old yielded major ($P < 0,05$) lesion scores in relation to others. A minor DC and major relation V:D were found in animals from antibiotic diet in the 21 and 28 days. The probiotic and antibiotic diets in the 21 days promoted a larger FI and WG in relation to the other diets. This WG was significantly larger than the WG from animals of essential oils diet. But only animals that received antibiotic and control diet presented a major ($P < 0,05$) FC. With exception of FI in the 21 days the diets do not improve ($P > 0,05$) the growth performance and lesion scores from animals in relation to control diet. However, the antibiotic diet

decreased significantly the CD and increased ($P < 0,05$) the V:D relation suggesting better digestive efficiency for animals.

Keywords: antibiotic; cript; essential oils; probiotic; villus

INTRODUÇÃO

A sobrevivência e o bom desempenho das aves dependem da forma como o organismo animal obtém energia e compostos químicos. Para uma obtenção adequada, é necessário que o trato digestório apresente características estruturais funcionais desde a ingestão dos alimentos até a sua absorção (Romer & Parsons, 1981).

A absorção está intimamente relacionada aos processos ocorridos na mucosa intestinal. O desenvolvimento da mucosa intestinal é decorrente de eventos citológicos e perdas por descamação envolvendo as criptas e os vilos (Uni et al., 1998; Uni, 2000. Segundo Yamauchi & Ishiki (1991), a densidade de vilos é diferente nas várias porções intestinais (duodeno, jejuno e íleo). De acordo com Macari (1999) o número de vilosidades e seu tamanho, bem como o de microvilos, em cada segmento do intestino delgado, conferem a eles características próprias, sendo que na presença de nutrientes a capacidade absorptiva do segmento será diretamente proporcional ao número de vilosidades ali presentes, tamanho dos vilos e área de superfície disponível para a absorção.

Normalmente, o epitélio intestinal age como uma barreira natural contra bactérias patogênicas e substâncias tóxicas presentes na luz intestinal. Distúrbios na população microbiana normal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, patógenos e 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 absorção de nutrientes e causando ainda inflamações crônicas na mucosa intestinal (Hofstad, 1972; Podolsky, 1993). Conseqüentemente ocorre diminuição das vilosidades, aumento do turnover celular e diminuição da atividade digestiva e absorptiva (Visek, 1978).

Como os processos de absorção de nutrientes são totalmente dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal, a manipulação de micro-organismos probióticos, substâncias antibióticas e óleos essenciais dentro do trato gastrointestinal, têm sido usada com o objetivo de melhorias no desempenho e, conseqüentemente na eficiência energética no intestino (Bradley et al., 1994; Pelicano et al., 2003; Miles et al., 2006).

A competição entre bactérias e hospedeiro por nutrientes e a formação de metabólitos depressores do crescimento no intestino podem ter efeitos negativos sobre a mucosa intestinal. Acredita-se que a inibição da atividade microbiana pelos antibióticos e óleos essenciais reduz a competição com o hospedeiro por nutrientes e a produção de metabólitos depressores do crescimento (Ravindran et al., 1984; Apajalahti et al., 2004). A adição de antibióticos ao alimento em baixos níveis é prática comum na produção de aves e melhora o ganho de peso e a eficiência alimentar em torno de 1 a 5% (Thomke & Elwinger, 1998). Os antibióticos controlam e limitam não só o crescimento de micro-organismos prejudiciais às aves, mas também de bactérias não-patogênicas incluindo lactobacilos, bifidobactérias, bacteróides e enterococos e, reduzem a produção de antagonistas microbianos como a amônia que afeta adversamente a fisiologia do hospedeiro (Ferket, 2002).

A microbiota do TGI desempenha importante papel na manutenção da saúde do hospedeiro. Os benefícios da ingestão de probióticos incluem a produção de substâncias antimicrobianas e ácidos orgânicos, proteção aos vilos e superfícies absortivas contra toxinas de patógenos, bem como estímulo ao sistema imune (Vicent, 1959; Dobrogosz et al., 1991; Walker & Duff, 1998). De acordo com alguns autores, a utilização dos probióticos possibilita a colonização do trato digestivo, mantendo ou incrementando a população microbiana natural, prevenindo a colonização de microrganismos patogênicos (Fuller, 1989; Vanbelle et al., 1990; Houdijk et al., 1999).

Relatos de Cook & Bird (1973) indicam que aves criadas em ambientes livres de patógenos apresentam uma redução na altura de vilos, bem como na profundidade de cripta, sugerindo que o crescimento normal do epitélio intestinal dependa também do equilíbrio da microbiota ali residente. Assim, a integridade da mucosa do trato gastrointestinal confere ao frango de corte condições adequadas para a digestão e absorção dos nutrientes.

Nos últimos anos, o emprego de micro-organismos intestinais e substâncias antimicrobianas (bacitracina metileno dissalicilato e óleos essenciais) têm proporcionado bons resultados na nutrição das aves, principalmente em condições experimentais. Porém, respostas diferentes são encontradas em testes realizados a campo, segundo as distintas condições de criação. A manutenção do ambiente de conforto térmico e os níveis de contaminação das dietas, das instalações e dos equipamentos não são totalmente controlados dentro das unidades produtivas. Visando experimentar uma situação de desvio das condições ideais de manejo, propõe-se neste trabalho, um estresse infeccioso por *Eimerias* sp. Foram avaliados os efeitos

de um micro-organismo intestinal (probiótico) e substâncias antimicrobianas (bacitracina metileno dissalicilato-BMD e óleos essenciais) sobre a integridade da mucosa, morfometria intestinal e o desempenho de frangos de corte aos 14, 21 e 28 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ensino Zootécnico (LEZO)/UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. A fase de campo e o abate dos animais foram realizados nas dependências do setor de avicultura do e as análises laboratoriais nos Laboratórios de Anatomia Patológica-Faculdade de Veterinária/UFRGS e Fisiologia – Instituto de Ciências Básicas da Saúde/UFRGS.

O experimento foi conduzido com 240 frangos, machos Cobb. No primeiro dia de idade, os animais foram pesados e alojados num total de 12 aves por gaiola. O peso dos animais por gaiola foi equalizado mantendo-se a variabilidade máxima de $\pm 5\%$ entre as médias. A temperatura ambiental e a umidade relativa do ar foram controladas e registradas diariamente. O abastecimento dos comedouros com ração foi feito através de conchas específicas para cada tratamento, tomando-se assim, o devido cuidado para que os micro-organismos de um tratamento não contaminassem o outro, sendo este mesmo procedimento adotado com o material de limpeza necessário para a lavagem dos bebedouros. Os animais receberam durante todo o período experimental água clorada e ração (a base de milho e farelo de soja) *ad libitum*, sendo este período dividido em duas fases: inicial (1 a 21 dias), onde as aves receberam uma dieta contendo 3050 kcal de energia metabolizável por kg de

ração, 21% de proteína bruta, 1,29% de lisina, 0,57% de metionina, 0,5% de monensina, 0,95% de Ca e 0,45% de P disponível; e na fase de crescimento (22 a 28 dias), as aves receberam uma dieta contendo 3150 kcal de energia metabolizável por kg de ração, 20% de proteína bruta, 1,20% de lisina, 0,53% de metionina, 0,5% de monensina, 0,90% de Ca e 0,42% de P disponível. Os demais níveis nutricionais foram aqueles recomendados por Rostagno et al. (2005).

Os animais foram pesados semanalmente e avaliou-se o ganho de peso (GP), o consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA).

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, constituído por 4 dietas: 1-Controle negativo, sem aditivo melhorador de crescimento; 2-Probiótico ($3,5 \times 10^{10}$ UFC/g de *Enterococcus faecium* - 35g/ton); 3- Oléos essenciais (extraído a partir de plantas de tomilho e cravo-da-índia - 100g/ton) e; 4- Controle positivo constituído pelo antibiótico Bacitracina Metileno Dissalicilato 11% (BMD 11% - 200g/ton).

Para o desafio com eimerias, os pintinhos foram inoculados, individualmente, via intra-esofágica, aos 15 dias de idade, com solução contendo 10×10^3 oocistos de *Eimeria acervulina* e 5×10^3 oocistos de *Eimeria maxima*.

Aos 14, 21 e 28 dias de idade, após jejum de 12 horas, foi realizado o abate de 5 aves por tratamento para a avaliação de escores de lesão, segundo Johnson & Reid (1970) e coleta dos diferentes segmentos do intestino delgado para as análises de morfometria.

As amostras do duodeno, jejuno e íleo foram fixadas em formalina tamponada a 10%, cortadas transversalmente, colocadas paralelamente em

cassetes, processados em aparelho histotécnico e incluídos em parafina. Cortes histológicos de 3 a 5 micrômetros foram obtidos em micrótomo rotatório e corados com hematoxilina-eosina (Prophet et al., 1992).

Nos diferentes períodos (14, 21 e 28 dias de idade) cinco lâminas por tratamento foram feitas para cada segmento do intestino delgado. De cada lâmina foram efetuadas seis medidas de altura de vilos (AV), comprimento de vilos (CV), largura de vilos (LV), densidade de vilos (DV) e profundidade de cripta (PC), utilizando-se uma objetiva de duas vezes de aumento e uma régua acoplada à lente. Os resultados das leituras foram multiplicados por um fator de correção, para obtenção do valor em micrômetro. A altura de vilos foi medida a partir da região basal dos vilos, coincidente com a porção superior das criptas, até seu ápice. As criptas foram medidas da sua base até a região de transição entre a cripta e os vilos.

O estudo morfométrico foi realizado através do sistema analisador de imagem (Image-Pro plus 6.0) acoplado a um microscópio binocular.

Os dados de desempenho (GP, CR e CA), morfometria (DV, LV, AV, PC e a relação v:c) e escore de lesão foram submetidos à análise de variância pelo pacote estatístico SPSS (2006) e na presença de diferença significativa foi realizada a comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estresse infeccioso

Aos 14 dias de idade, foi analisada a saúde intestinal das aves e não se constatou qualquer lesão. Logo após, os animais receberam via esofágica a

inoculação de oocistos de *Eimerias acervulina* e *maxima*.

Aos 21 dias de idade observou-se que as lesões eram menos presentes no grupo que recebeu antibiótico. No entanto, não se encontrou diferença significativa ($P>0,05$) entre os grupos (Tab. 1).

Aos 28 dias os escores médios foram mais baixos que aos 21 dias, mostrando uma recuperação contra a infecção. Porém, encontrou-se uma diferença significativa ($P<0,05$) no escore de lesão provocado por *Eimeria máxima* para os animais que receberam a dieta com óleos essenciais. Contudo esses animais não se diferiram daqueles que receberam a dieta controle e probiótico. Ao contrário do que foi encontrado por Giannenas et al. (2003), Oviedo-Rondón et al. (2006) e Silva et al. (2009), o grupo com óleo essencial apresentou um maior escore de lesão em relação aos grupos das demais dietas, indicando uma capacidade de recuperação menor ao estresse infeccioso (Tab. 1).

Tabela 1- Escore de lesão em frangos de corte sob estresse infeccioso por *Eimeria maxima* e *E. acervulina* aos 21 e 28 dias de idade.

| Tratamentos | <i>Eimeria maxima</i> | | | | <i>Eimeria acervulina</i> | | | |
|--------------------------|-----------------------|--------------------|---------|-------------------|---------------------------|-------|---------|-----|
| | 21 dias | | 28 dias | | 21 dias | | 28 dias | |
| Controle | 1,2 ¹ | 13,50 ² | 0,4 | 9,0 ^{ab} | 0,8 | 11,25 | 0,4 | 9,0 |
| Probiótico ³ | 1,3 | 14,75 | 0,4 | 9,0 ^{ab} | 0,8 | 11,25 | 0,4 | 9,0 |
| Óleo essencial | 1,4 | 15,75 | 0,5 | 11,5 ^b | 0,4 | 11,0 | 0,4 | 8,0 |
| Antibiótico ⁴ | 0,6 | 12,25 | 0,2 | 7,75 ^a | 0,0 | 10,25 | 0,4 | 8,0 |
| Probabilidades | 0,149 | | 0,036 | | 0,672 | | 1,0 | |
| CV% | 3,50 | | 3,30 | | 2,8 | | 2,5 | |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente ($P < 0,05$). ¹Valores médios de escore de lesão. ²valores médios ranqueados de escore de lesão. Utilizou-se a análise estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis para análise dos dados. ³*Enterococcus faecium* ($3,5 \times 10^{10}$ UFC/g). ⁴BMD 11%. CV: coeficiente de variação.

Morfometria intestinal

A maioria dos processos digestivos e de absorção ocorre no intestino delgado e parte da digestão ocorre na superfície das vilosidades. A máxima capacidade da digestão e absorção acontece quando o animal apresenta uma grande área luminal, com altas vilosidades e enterócitos maduros (Macari, 1999). Sendo assim, parâmetros morfométricos como altura, largura e densidade de vilos e profundidade de criptas são importantes indicadores da saúde digestiva e capacidade de absorção na mucosa intestinal. No presente trabalho, não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) para altura, densidade e largura de vilos em nenhum segmento intestinal das aves aos 14, 21 e 28 dias de idade. No entanto, foram verificadas diferenças significativas na profundidade de cripta (PC) e na relação vilos:cripta (V:C) no íleo aos 21 e 28 dias (Tab. 2).

A cripta é uma área onde as células totipotentes se dividem dando origem a reposição de enterócitos nos vilos. A profundidade de cripta é um indicativo do intenso turnover existente nos vilos em resposta a perda de células pela descamação ou inflamações de patógenos e toxinas produzidas por eles. Quando a intensidade do turnover é aumentada mais energia da dieta é requerida, ficando menos disponível para o crescimento do animal. A grande massa de tecido do intestino protege o corpo da entrada de patógeno, mas requer mais energia/proteína para sua manutenção. A adição de antibiótico na dieta diminui a população microbiana e a quantidade de inflamações provocadas por ela (Walton, 1988). Neste trabalho o grupo que recebeu antibiótico na dieta apresentou menor PC ($P < 0,05$) em relação aos demais grupos analisados. Miles et al. (2006) avaliando os antibióticos virginimicina e

BMD na dieta de frangos de corte, reportaram que no íleo de animais com uma semana de idade houve uma diminuição na profundidade de cripta em relação a dieta controle. Mas, não encontrou diferença significativa entre todos os tratamentos na terceira semana de idade.

A relação V:C também é um indicador da capacidade digestiva do intestino delgado. Um aumento nesta relação corresponde a uma melhor digestão e absorção (Montagne et al., 2003). No presente trabalho, o grupo com antibiótico apresentou uma maior relação V:C, indicando para os animais deste grupo uma melhor eficiência digestiva. Esses resultados diferem um pouco daqueles encontrados por Silva et al. (2009). Esses autores verificaram que os animais da dieta com antibiótico apresentaram uma relação V:C significativamente maior quando comparados ao grupo da dieta controle. Porém, não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) morfométricas em relação àqueles que receberam a dieta com óleo essencial.

Tabela 2 – Parâmetros de morfometria (em μm) do íleo de frangos de corte sob estresse infeccioso por *Eimerias sp.*

| Tratamentos | 21 dias | | | 28 dias | | |
|--------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| | AV (μm) | PC (μm) | V:C | AV (μm) | PC (μm) | V:C |
| Controle | 730,20 | 175,25 ^a | 4,17 ^b | 1015,83 | 283,36 ^a | 3,59 ^b |
| Probiótico ¹ | 733,97 | 177,94 ^a | 4,12 ^b | 1021,59 | 286,00 ^a | 3,57 ^b |
| Óleo Essencial | 728,73 | 175,50 ^a | 4,16 ^b | 1016,61 | 286,63 ^a | 3,56 ^b |
| Antibiótico ² | 814,25 | 151,83 ^b | 5,36 ^a | 1025,65 | 247,12 ^b | 4,15 ^a |
| Probabilidades | 0,416 | 0,037 | 0,001 | 0,998 | 0,004 | 0,019 |
| CV% | 12,38 | 10,10 | 15,51 | 8,09 | 8,33 | 10,48 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); ¹ *Enterococcus* ($3,5 \times 10^{10}$ UFC/g); ² BMD 11%; CV: coeficiente de variação; AV: altura de vilos; PC: profundidade de cripta; V:C: relação vilos cripta.

Desempenho zootécnico

Até aos 14 dias de idade os animais não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros de desempenho entre as dietas analisadas. No período de 14 a 21 dias (Tab. 3), as dietas com probiótico e antibiótico resultaram num maior ($P<0,05$) CR e GP. Esse GP foi significativamente maior que do que o encontrado para os animais da dieta com óleo essencial e controle. Os animais que receberam as dietas com antibiótico e controle apresentaram uma melhor ($P<0,05$) CA. O melhor desempenho dos animais que receberam a dieta com antibiótico pode estar associado aos resultados de escore de lesão e morfometria. Diferente ($P<0,05$) do grupo com óleo essencial na dieta, os animais que receberam antibiótico obtiveram menor escore de lesão no epitélio intestinal e melhor resposta à sua recuperação, assim como menor PC e maior relação V:C, indicando melhor eficiência digestiva. Santos et al. (2009) comparando dietas semelhantes em frangos sob estresse infeccioso, não encontraram diferença significativa de desempenho aos 21 dias. No entanto, diferenças significativas de desempenho e morfometria foram verificadas no período de 1 a 35 dias.

No período de 22 a 28 dias (Tab. 3), não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) de GP e CR entre nenhum dos tratamentos analisados. Porém, pode-se observar um resultado melhor ($P<0,05$) de CA para os animais que receberam a dieta com antibiótico, quando comparados com aqueles da dieta com óleo essencial. Esses resultados diferem dos encontrados por Mathis & Scicutella (2007), que não observaram diferenças ($P<0,05$) de desempenho entre as dietas com BMD e óleos essenciais.

Dietas com óleo essencial costumam apresentar um efeito

antibiótico, principalmente coccidiano (Manzanilla et al., 2004; Mathis & Scicutella, 2007; Silva et al., 2009). As piores respostas, nos parâmetros escore de lesão e morfometria, encontrados no presente trabalho podem ter determinado as baixas ($P < 0,05$) respostas de desempenho dos animais do grupo que consumiu dieta com óleo essencial.

Além dos animais da dieta com óleo essencial, os animais da dieta com probiótico também mostraram uma pior CA aos 21 dias de idade, porém diferentemente dos primeiros, estes melhoraram significativamente aos 28 dias, obtendo resultado significativamente semelhante aos animais que receberam antibiótico (Tab. 3). Resultados semelhante foram encontrados por Mountzouris et al. (2007) que não observaram diferença significativa na CA entre os animais da dieta com probiótico e antibiótico. No entanto, Gao et al. (2009) constataram que o uso de probiótico melhorou a resposta imune e o desempenho dos animais infectados por coccídios.

Tabela 3- Desempenho zootécnico de frangos de corte nos períodos de 14 a 21 e de 22 a 28 dias de idade.

| Tratamentos | 14 a 21 dias | | | 22 a 28 dias | | |
|--------------------------|----------------------|---------------------|-------------------|--------------|--------|--------------------|
| | GP (g) | CR (g) | CA | GP (g) | CR (g) | CA |
| Controle | 515,64 ^{bc} | 692,33 ^b | 1,34 ^a | 523,71 | 897,07 | 1,72 ^{ab} |
| Probiótico ¹ | 523,58 ^{ab} | 725,64 ^a | 1,39 ^b | 530,11 | 912,17 | 1,72 ^{ab} |
| Óleo essencial | 492,64 ^c | 683,85 ^b | 1,39 ^b | 522,16 | 915,64 | 1,75 ^b |
| Antibiótico ² | 547,51 ^a | 733,06 ^a | 1,34 ^a | 533,93 | 908,02 | 1,69 ^a |
| Probabilidades | <0,001 | 0,002 | <0,001 | 0,414 | 0,377 | 0,014 |
| CV% | 4,71 | 3,85 | 17,65 | 2,33 | 1,91 | 1,86 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ¹*Enterococcus* ($3,5 \times 10^{10}$ UFC/g). ²BMD 11%. GP: ganho de peso. CR: consumo de ração. CA: conversão alimentar. CV: coeficiente de variação.

CONCLUSÃO

Com exceção do GP e do CR aos 21 dias de idade, as dietas com probiótico, óleo essencial e antibiótico, não melhoraram significativamente o desempenho e o nível de lesões dos animais em relação àqueles que receberam a dieta controle. Contudo, a dieta com antibiótico diminuiu significativamente a PC e aumentou ($P < 0,05$) a relação vilos:cripta, indicando melhor eficiência digestiva para os animais.

BIBLIOGRAFIA

- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.60, p.223–232, 2004.
- BRADLEY, G. L.; SAVAGE, T. F.; TIMM, K. I. The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on male poultry performance and ileal morphology. **Poultry Science**, Champaign, v.73,

p.766-1770, 1994.

COOK, R. H.; BIRD, F. H. Duodenal villus area and epithelial cellular migration in convention and germ-free chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.52, p.2276-2280, 1973.

DOBROGSZ, W. J.; BLACK, B. L. E; CASAS, I. A. Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p.158, 1991.

FERKET, P. R.; PARKS, C. W.; GRIMES, J. L. (2002). Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. **Proceedings of Multi-State Poultry Feeding and Nutrition Conference**, Indianapolis, USA, p. 14-16. Disponível em: <<http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/multistate/Proceedings.Multi-tate%20MeetingFerket.pdf>> Acesso: 02/12/2009.

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

GAO, J.; ZHANG, H. J.; WU, S. G.; YU, S. H.; YOON, I.; MOORE, D.; GAO, I. P.; YAN, H. J.; QI, G. H. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on immune functions of broilers challenged with *Eimeria tenella*. **Poultry Science**, Champaign, v.88, n.10, p.2141-2151, 2009.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A. B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.57, p.99-106, 2003.

HOFSTAD, M. S. **Diseases of poultry**. 6 ed. Hofstad, M.S. (ed). Ames: The

Iowa State University Press, 1972, 1176 p.

HOUDIJK, J. G. M.; BOSCH, M. W.; TAMMINGA, S. Apparent ileal and total-tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary nondigestible oligosaccharides. **Journal of Animal Science**, Bethesda, v.77, p.148-158, 1999.

JOHNSON, J.; REID, W. M. Anticoccidial Drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor-pen Experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, Oxford, v.28, p.30-36, 1970.

MACARI, M. **Fisiologia do Sistema Digestivo das Aves (I)**. Aves e Ovos, v.15, n.8/9, 2-20 p, 1999.

MANZANILLA, E. G.; PERES, J. F.; MARTIN, M.; KAMEL, C.; BAUCCELLS, F.; GASA, J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Bethesda, v.82, p.3210–3218, 2004.

MATHIS, G.; SCICUTELLA, N. A comparison of performance of coccidia vaccinated broilers fed RepaXol, AciXol, or Bacitracin Methylene Disalicylate. **Journal of Dairy Science**, Davis, v.90, n.1, p.131, 2007.

MILES, R. D.; BUTCHER, G. D.; HENRY, P. R.; LITTELL, C. R. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.476-485, 2006.

MONTAGNE, L; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.108, p.95-117, 2003.

- MOUNTZOURIS, K. C.; TSIRTSIKOS, P.; KALAMARA, E.; NITSCH, S.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.309–317, 2007.
- OVIEDO-RONDON, E. O.; CLEMENTE-HERNANDEZ, P.; SALVADOR, F.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. Essential oils on mixed coccidia vaccination and infection in broilers. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.5, n.8, p.723-730, p. 2006.
- PELICANO, E. R. L; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.98, n.547, p.124-134, 2003.
- PODOLSKY, D. K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, many questions. **American Journal of Physiologic**, Bethesda, v.264, p.179-186, 1993.
- PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory methods in histotechnology**. Armed Forces Institute of Pathology. American Registry of Pathology, Washington, 1992. 279p.
- RAVINDRAN, V.; KORNEGEY, E. T.; JR WEBB, K. E. Effects of fiber and virginiamycin on nutrient absorption, nutrient retention and rate of passage in growing swine. **Journal of Animal Science**, Bethesda, v.59, p.400-408, 1984.

- ROMER, A. S.; PARSONS, T. S. **Anatomia Comparada**. Ed. México: Iberoamericana. 1981. 428p.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2ª edição-Viçosa: UFV, 2005. 186 p.
- SANTOS, I. I.; KESSLER, A. M.; MENDES, J. F.; LABRES, R. V. Aditivos melhoradores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte desafiados por coccídios. In: 21 Congresso Brasileiro de Avicultura e 27 Conferência FACTA, 2009, Porto Alegre. **Anais** do Prêmio Lamas 2009. Campinas : FACTA, 2009. (CD-ROM).
- SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; COLNAGO, G. L.; RODRIGUES, M. R. A.; NUNES, C. L.; ZANINI, M. S.; MARTINS, I. V. F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1471-1477, 2009.
- STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS). Version 15.0. [Computer program]. Chicago: SPSS Inc.; 2006.
- THOMKE, S.; ELWINGER, K. Growth promotants in feeding pigs and poultry. I. Growth and feed efficiency responses to antibiotic growth promotants. **Annales de Zootechnie**, Paris, v.47, p.85-97, 1998.
- UNI, Z. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. **British Poultry Science**, Cambridge, v.41, p.410-415, 2000.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SJLAN, D. Posthach development of mucosal function in

- the broiler small intestine. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.75-82, p.1998.
- VANBELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.40, p.477-484, 1990.
- VICENT, J. G. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.78, p.477-484, 1959.
- VISEK, W. J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**, Bethesda, v.46, p.1447-1469, 1978.
- WALKER, W. A.; DUFF, L. C. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. **Journal Nutrition Biochemical**, Berlin, v.9, p.668-675, 1998.
- WALTON, J. R. The modes of action and safety aspects of growth promoting agents. in **Proceedings of Maryland Nutrition Conference**, University of Maryland, College Park, MD.92–97p. 1988.
- YAMAUCHI K. E.; ISHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, Cambridge, v.32, p.67-78, 1991.

CAPÍTULO III

Probiótico e enzimas em dietas com dois níveis de energia: parâmetros produtivos e intestinais de frangos de corte

Probiotic and enzymes in diets with two energy levels: productive and intestinal parameters of broilers

I. I. Santos, A. M. Kessler, G. Corção, J. F. Mendes, R. V. Kras

RESUMO

Neste trabalho foram utilizados frangos machos Ross para avaliar o efeito de probiótico e enzimas em dietas com dois níveis de energia, nos períodos de 11 a 14 e 32 a 35 dias de idade. A dieta com o nível padrão de energia (EP) foi baseada em milho e farelo de soja e a dieta de baixa energia (BE) com milho e os farelos de soja e trigo. Cada nível de energia recebeu quatro tratamentos: Sem aditivo; enzimas xilanase, amilase e β -glucanase; probiótico *Enterococcus faecium* e; enzimas com o probiótico utilizados nos demais tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso e cada tratamento recebeu 5 repetições de 12 aves no primeiro período e 8 no segundo. Calculou-se o efeito sob o desempenho, a morfometria e o pH do TGI de frangos de corte. Os frangos alimentados com as dietas de BE consumiram mais ($P < 0,001$) ração em ambos os períodos e expressaram um menor ($P < 0,05$) ganho de peso no período inicial e uma pior conversão alimentar nos dois períodos. Também houve efeito da energia para os parâmetros de morfometria e pH. As dietas com BE apresentaram uma diminuição significativa do pH e aumentaram o comprimento e o peso da moela aos 14 dias e do ceco

esquerdo aos 14 e 35 dias de idade. No entanto, nestas dietas, a adição das enzimas isoladas e em combinação com o probiótico diminuiu significativamente o comprimento e o peso do ceco esquerdo aos 14 dias. Conclui-se que as dietas com BE reduzem o desempenho e o pH dos cecos dos frangos de corte e aumentam os parâmetros de morfometria. Porém, a presença das enzimas isoladas e em combinação com o probiótico nestas dietas (BE) é capaz de reduzir o comprimento e peso do ceco esquerdo aos 14 dias de idade das aves.

Palavras chave: Amilase; desempenho; pH; trigo; xilanase

ABSTRACT

This study used Ross male broiler chickens to evaluate the effect of probiotic and enzymes in diets with two energy levels from 11 to 14 and from 32 to 35 days-old. The (LE) low energy diet was based on corn, soy and wheat and standard energy level with corn and soy. Each energy levels received 4 treatments: Without additive; enzymes xylanase + amylase + β -glucanase; *Enterococcus faecium* probiotic and; mix of the enzymes and probiotic used in the other treatments. The experimental design was completely randomized and each treatment received 5 repetitions of 12 birds in the first period and 8 birds in the second period. The effect on growth performance, TGI and ceaca morphometry and pH were calculated. The poultry feed with LE diets consumed more ($P < 0,001$) ration in both periods and expressed a minor weight gain in start period and a minor intake conversion in both periods. For parameters of pH and morphometry there were also effect of energy level. The diets with LE presented an decrease ($P < 0,05$) of the pH, of the relative length and weight of

gizzard at 14 days and of the left caeca at 14 and 35 days. But, the addition of enzymes alone and mixed with the probiotic in the LE diets significantly reduce the relative length and weight of left caeca in the 14th days. In conclude the diet with LE reducing the growth performance and pH of caecas of poultry and increase the morphometric parameters. But, the addition enzymes alone and mixed with probiotic in the LE diets are able to reduce the length and weight of left caeca in the 14th days.

Keywords: Amylase, growth performance; pH; wheat; xylanase

INTRODUÇÃO

Durante anos os antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) melhoradores de crescimento foram utilizados na nutrição animal para prevenir doenças e aumentar o desempenho zootécnico (Barton, 2000). Contudo, a presença de resíduo desses antimicrobianos em tecido animal e no ambiente, assim como a ameaça de resistência de patógenos aos antibióticos utilizados em humanos (Barton, 2000; Van den Bogaard & Stobbering, 2000) levou sua retirada da produção animal em quase todo o mundo. Essa nova realidade tem levado ao desenvolvimento de alternativas e pesquisas para prevenir a ocorrência de doenças e garantir a saúde e o desempenho dos animais. Entre elas, a seleção de animais geneticamente mais resistentes, práticas sanitárias, eliminação de patógenos na água, vacinação e aplicação de aditivos em rações. Dentre os aditivos utilizados nas rações, os probióticos e enzimas têm sido exaustivamente pesquisados (Fuller, 1989; Bertechini & Hosaain, 1993; Mountzouris et al., 2007).

Segundo Fuller (1989), o probiótico é um suplemento alimentar

microbiano vivo, capaz de afetar benéficamente o hospedeiro, com capacidade de promover o equilíbrio da população microbiana do TGI, prevenindo doenças no trato digestório. Além disso, melhora a digestibilidade das rações (Apata, 2008; Li et al., 2008), levando à maior utilização dos nutrientes, o que resulta em melhor desempenho zootécnico dos animais (Kabir et al., 2004; 2005; Mountzouris et al., 2007; 2010). Mountzouris et al. (2007; 2009) demonstraram que o probiótico além de efetivo no desempenho de frangos de corte, também é capaz de regular a população de bactérias cecais, reduzindo o nível de *Salmonella enteritidis*, quando os animais por ela são desafiados.

Segundo Penz Jr. (1998), as enzimas alimentares suplementam a produção de enzimas endógenas do animal. Atuam principalmente provocando a ruptura das paredes celulares das fibras, sobretudo os polissacarídeos não amiláceos solúveis, aumentando a digestibilidade e a eficiência dos alimentos. Os PNAs têm elevada capacidade de ligar-se a grandes quantidades de água, resultando no aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, diminuindo a velocidade do fluxo de passagem dos alimentos ao longo do trato digestório, dificultando a ação das enzimas endógenas. Isso reflete na diminuição da absorção dos nutrientes e o desempenho dos animais (Choct and Annison, 1992; Almirall et al., 1995; Choct et al., 1995). Para compensar parcialmente os efeitos antinutricionais, as aves alimentadas com dietas com elevada quantidade de PNAs podem sofrer adaptações fisiológicas, como o aumento do comprimento e peso do trato digestório (Brenes et al., 1993). Esse é um mecanismo utilizado pela ave para aumentar a digestão e a absorção dos nutrientes e melhorar o desempenho (Brenes et al., 1993; Steinfeldt et al., 1998; Wang et al., 2005; Gao et al., 2008; García et al., 2008; Biggs & Parsons,

2009). Porém, nesse caso, quase sempre o aumento do trato digestório é resultado do desvio de nutrientes que seriam utilizados para o crescimento do animal, resultando no processo final de produção em baixo rendimento de carcaça (Yasar & Forbes, 1997; Danicke et al. 2000).

De acordo com Wyatt & Bedford (1998), a inclusão das enzimas na dieta pode levar em conta a formulação padrão sem alterar os níveis nutricionais, ou alterar a formulação da dieta por meio da redução dos nutrientes. No segundo caso, a adição de enzimas é utilizada para restaurar o valor nutricional reduzido, visando o mesmo desempenho de uma dieta com os níveis nutricionais recomendado. Neste contexto, desenvolveu-se o presente trabalho para avaliar o efeito de probiótico e enzimas em dietas com dois níveis de energia. Para isso, analisou-se o desempenho, a morfometria e o pH do trato gastrointestinal de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido com frangos machos da linhagem Ross. No primeiro dia de idade, os animais foram pesados e alojados num total de 12 aves por gaiola. A temperatura ambiental e a umidade relativa do ar foram controladas e registradas diariamente. O abastecimento dos comedouros com ração foi feito através de conchas específicas para cada tratamento, tomando-se o devido cuidado para que os micro-organismos de um tratamento não contaminassem o outro e, este mesmo procedimento foi adotado com o material de limpeza necessário para a lavagem dos bebedouros. Os animais receberam durante todo o período experimental água clorada e ração à vontade. As dietas experimentais foram constituídas de duas formulações, uma

com nível padrão de energia, à base de milho e farelo de soja, e outra com nível baixo de energia (redução de 100 kcal/kg de EM em relação à dieta padrão, obtida pela inclusão de farelo de trigo) (Tab.1). Exceto pelo nível de energia, as dietas apresentaram balanceamento e equivalência nos níveis dos demais nutrientes, atendendo às exigências nutricionais da espécie, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). Cada nível de energia recebeu quatro tratamentos: 1- Controle (sem aditivo); 2- enzimas (xilanase + amilase + β -glucanase); 3- probiótico (*Enterococcus faecium*) e; 4- enzimas mais o probiótico utilizados nos tratamentos 2 e 3 (Tab. 1).

Tabela 1- Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais nas fases inicial (1-21 dias) e de crescimento (22-35 dias)

| INGREDIENTES (%) | 1-21 dias | | 22-35 dias | |
|-------------------|------------------|-------|------------|-------|
| | Nível de Energia | | | |
| | Padrão | Baixo | Padrão | Baixo |
| Milho | 58,46 | 52,38 | 59,59 | 53,53 |
| Farelo de soja 46 | 34,08 | 32,66 | 31,94 | 30,52 |
| Farelo de trigo | - | 7,54 | - | 7,52 |
| Óleo de soja | 3,08 | 3,08 | 4,38 | 4,38 |
| Calcáreo | 1,36 | 1,39 | 1,31 | 1,35 |
| Fosfato bicálcico | 1,72 | 1,63 | 1,59 | 1,50 |
| Sal comum | 0,46 | 0,46 | 0,46 | 0,46 |
| Premix Vitamínico | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| Premix Mineral | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 |
| Lisina | 0,29 | 0,30 | 0,22 | 0,23 |
| DL-Metionina | 0,27 | 0,28 | 0,24 | 0,24 |
| Aditivos* | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Colina 60 | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,05 |
| Monensina 20% | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| EM (kcal/kg) | 3050 | 2950 | 3150 | 3050 |
| PB | 21 | 21 | 20 | 20 |
| FB | 3,25 | 3,75 | 3,16 | 3,66 |
| Ca | 0,95 | 0,95 | 0,90 | 0,90 |
| Pdisponível | 0,45 | 0,45 | 0,42 | 0,42 |
| Sódio | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| Lisina Total | 1,29 | 1,29 | 1,18 | 1,18 |
| Metionina Total | 0,57 | 0,57 | 0,53 | 0,53 |
| Triptofano Total | 0,27 | 0,27 | 0,26 | 0,26 |
| Colina (mg/kg) | 1500 | 1500 | 1400 | 1400 |

* Probiótico contituído por *Enterococcus faecium* - 10^{10} UFC/g (Cilactin[®]): 30g/ton; Mistura de enzima xilanase (Ronozyme WX): 100g/ton e enzimas amilase + β -glucanase (Ronozyme A): 400g/ton.

Foi avaliado o desempenho das aves e calculou-se o ganho de peso (GP), o consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA) nos períodos de

1 a 21 e de 22 a 35 dias de idade.

Para as medidas de morfometria intestinal, aos 14 e 35 dias, uma ave de cada repetição foi abatida por deslocamento cervical, o intestino delgado foi excisado e de acordo com Wang et al. (2005), a moela, a porção anterior intestinal (duodeno e jejuno), o íleo e o ceco esquerdo foram pesados e os comprimentos medidos. Nestes mesmos dias, os respectivos conteúdos da moela, íleo e cecos foram homogeneizados com água estéril em béquer de 50 mL e de acordo com González-Alvarado et al. (2007) foi medido o pH em cada segmento do trato gastrointestinal.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com o esquema fatorial 2x4 (dois níveis de energia e quatro aditivos) e cada tratamento recebeu 5 repetições de 12 aves no primeiro período e 8 no segundo.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do programa estatístico SPSS (2006) e na presença de diferença significativa foi realizada a comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho zooténico

Para os resultados de desempenho observou o efeito ($P < 0,05$) da energia nos dois períodos analisados (1 a 21 e 21 a 35 dias idade) (Tab. 2).

Os frangos alimentados com as dietas de baixa energia (com farelo de trigo) consumiram uma maior ($P < 0,05$) quantidade de ração em ambos os períodos e expressaram um menor ($P < 0,05$) GP no período inicial e uma pior

CA nos dois períodos. Esperava-se que os aditivos incluídos nas dietas expressassem algum efeito sobre o desempenho das aves e compensassem a redução original da EM (100 kcal/kg), mais isso não ocorreu. A incorporação de enzimas às dietas para frangos tem resultado em aumentos significativos de desempenho, principalmente em dietas com grãos de trigo (Steenfeldt et al. 1998; Wang et al., 2005; Gao et al., 2008; García et al., 2008; Biggs & Parsons, 2009). Dietas com trigo ou com farelo de trigo geralmente apresentam grandes quantidade de pentosanas que promovem o aumento da viscosidade da digesta (Józefiak et al., 2007) reduzindo a assimilação de nutrientes, por causa da dificuldade de interação entre as enzimas endógenas e seus substratos (Choct & Annison, 1992; Choct et al., 1995; Penz Jr., 1998). O uso de probióticos para frangos de corte tem mostrado, entre outros benefícios, o aumento da produção de ácido láctico (Fuller, 1977) e da disponibilidade de vitaminas e enzimas (Fuller, 1989), que tem reflexos na digestão da dieta com melhores resultados de desempenho (Apata et al., 2008; Mountzouris et al., 2010). Porém, neste trabalho as enzimas e os probióticos (isolados e em combinação) utilizados nas dietas, não trouxeram resultados melhores de desempenho. Corroborando com estes resultados, Gonal et al. (2004), Huang et al. (2004), Li et al. (2008) e Mourão & Pinheiro (2009) também não observaram efeitos no desempenho de frangos, quando xilanases foram adicionadas à dietas com trigo e mistura de micro-organismos à dietas com milho. Alguns autores (Wang et al., 2005; Mountzouris et al., 2010) atribuem a falta de efeito das enzimas e probióticos no desempenho dos animais às suas dosagens na dieta. Neste trabalho, utilizou-se farelo de trigo nas dietas de baixa energia, o qual apresenta quantidade de PNAs superiores ao trigo em

grão. Por essa característica, níveis maiores de enzimas talvez expressassem melhores resultados de desempenho. No meio científico é comum afirmar que a melhor concentração de probiótico na dieta fica em torno de 10^8 a 10^{10} UFC/kg de dieta. No entanto, alguns pesquisadores encontraram melhora de desempenho quando níveis mais baixos de probiótico foram introduzidos à dieta (Apata, 2008; Li et al., 2008). Contudo, a eficiência ou ineficiência do probiótico está relacionada também a outros fatores, tais como composição da espécie microbiana e sua viabilidade, método e frequência de aplicação, idade da ave, higiene das instalações, composição da dieta (tipo de cereal e seu sinergismo ou antagonismo ao micro-organismo utilizado) e fatores de estresse ambiental.

Tabela 2- Desempenho zootécnico de frangos de corte nos períodos de 1 a 21 e 22 a 35 dias de idade

| Tratamento | 1 a 21 dias | | | 22 a 35 dias | | |
|----------------|-------------|---------|-------|--------------|---------|--------|
| Energia | GP (g) | CR (g) | CA | GP (g) | CR (g) | CA |
| Padrão | 939,30 | 1215,95 | 1,30 | 1136,09 | 2096,06 | 1,85 |
| Baixa | 925,52 | 1237,69 | 1,35 | 1133,88 | 2145,02 | 1,89 |
| Aditivos | | | | | | |
| Controle | 929,95 | 1224,49 | 1,33 | 1133,88 | 2113,37 | 1,86 |
| Enzima | 930,22 | 1229,54 | 1,32 | 1134,63 | 2117,47 | 1,87 |
| Probiótico | 931,20 | 1226,82 | 1,32 | 1135,65 | 2129,92 | 1,88 |
| Enz+Prob | 929,22 | 1226,45 | 1,32 | 1135,78 | 2121,40 | 1,87 |
| Probabilidades | | | | | | |
| Energia (E) | 0,040 | 0,046 | 0,011 | 0,832 | 0,008 | <0,001 |
| Aditivo (A) | 0,974 | 0,989 | 0,987 | 0,999 | 0,920 | 0,754 |
| E x A | 0,982 | 0,897 | 0,944 | 0,996 | 0,969 | 0,967 |
| CV(%) | 2,63 | 3,11 | 4,55 | 2,65 | 2,62 | 1,78 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Energia padrão: 3050 (11-14 dias) e 3150 (32-35 dias) kcal/kg e Energia baixa: 2950 (11-14 dias) e 3050 (32-35 dias) kcal/kg; Enzima (Enz): amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar; CV: Coeficiente de variação.

Morfometria do TGI

Comparando-se os resultados de morfometria aos 14 e 35 dias de idade, percebe-se uma diminuição no peso e comprimento relativo dos órgãos intestinais com o aumento da idade (Tab. 3 e 4). Isso se deve ao maior crescimento corporal dos frangos em relação ao crescimento de seus órgãos. Resultados semelhantes foram observados previamente em outros experimentos (Nitsan et al., 1991; Palo et al., 1995; Ravindram et al., 2006; Gabriel et al., 2008; Jimenez-Moreno et al., 2009).

Constatou-se nas dietas com baixa energia (farelo de trigo) um aumento significativo no comprimento e peso relativo dos órgãos analisados

aos 14 (moela, e ceco), e aos 35 dias (ceco) em relação às demais dietas (Tab. 3 e 4). Outros investigadores observaram alterações semelhantes no desenvolvimento do trato digestório quando utilizaram dietas com cevada ou trigo (Brenes et al., 1993; Svihus et al., 1997; Mourão e Pinheiro, 2009) ou com concentrações elevadas de PNA solúveis (Langhout et al., 1999).

A adaptação do trato digestório das aves ao consumo de dietas com teores elevados em PNAs pode contribuir para a redução dos efeitos antinutricionais (Marquardt et al., 1994). O aumento no desenvolvimento do TGI observado neste experimento pode ter permitido o aumento do tempo de permanência da dieta no trato digestivo, facilitando sua digestão e o aumento da superfície absorptiva para os nutrientes (Yasar & Forbes, 1997; Jiménez-Moreno et al., 2009).

Avaliando-se o efeito dos aditivos aos 14 e 35 dias de idade, observou-se o efeito das enzimas sozinhas e em combinação com o probiótico, somente nas dietas de baixa energia (com farelo de trigo) aos 14 dias, conforme demonstrado pela interação significativa (Tab. 3 e 4). Nestas dietas, os grupos controle, probiótico, enzima e enzima mais probiótico apresentaram um comprimento relativo do ceco de 20,91; 19,04; 21,13 e 20,07, respectivamente e um peso relativo de 2,46; 2,07; 2,52; 2,07, respectivamente. As enzimas isoladas e em combinação com o probiótico promoveram uma redução no comprimento relativo do ceco de aproximadamente 7% e no peso relativo de aproximadamente 20% em relação aos demais tratamentos. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Wang et al. (2005) e Józefiak et al. (2007) que verificaram decréscimo nos órgãos digestórios quando adicionaram xilanases às dietas com trigo ou com arroz. Em geral, a

adição de enzimas é mais eficiente na fase inicial de desenvolvimento do frango. Nesta fase há um crescente aumento na diversidade e quantidade de enzimas endógenas, assim como o aumento de secreções do trato gastrointestinal, mas ainda não é suficiente para a digestão eficiente de algumas dietas (Iji et al., 2001; Gabriel et al., 2008). Já na fase adulta, mesmo não havendo a produção de algumas enzimas como a xilanase, por exemplo, a produção de enzimas endógenas, assim como de secreções gástricas, pancreáticas e biliares, aliadas ao completo desenvolvimento do TGI supre as necessidades do animal para a digestão e absorção de nutrientes, resultando muitas vezes na ineficiência das enzimas exógenas (Noy & Sklan, 1995; Steinfeldt et al., 1998; Batal e Parsons, 2002; Zhou et al., 2009).

Tabela 3- Comprimento relativo (cm/kg de peso vivo) dos segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade

| Tratamento | 14 dias | | | 35 dias | | |
|----------------|---------|--------|-------|---------|-------|-------|
| | Óleo | IA | Ceco | Óleo | IA | Ceco |
| Energia | | | | | | |
| Padrão | 156,78 | 109,68 | 19,02 | 39,71 | 34,08 | 5,76 |
| Baixo | 156,39 | 110,06 | 20,07 | 40,28 | 34,10 | 5,98 |
| Aditivos | | | | | | |
| Controle | 157,24 | 110,40 | 20,00 | 40,68 | 34,13 | 5,92 |
| Enzima | 155,79 | 109,20 | 18,99 | 39,63 | 34,17 | 5,82 |
| Probiótico | 157,42 | 110,14 | 20,07 | 40,26 | 34,16 | 5,95 |
| Enz+Prob | 155,90 | 109,74 | 19,13 | 39,41 | 33,91 | 5,80 |
| Probabilidades | | | | | | |
| Energia (E) | 0,810 | 0,828 | 0,001 | 0,192 | 0,939 | 0,005 |
| Aditivo (A) | 0,835 | 0,966 | 0,014 | 0,153 | 0,902 | 0,420 |
| E x A | 0,995 | 0,992 | 0,021 | 0,971 | 0,686 | 0,857 |
| CV(%) | 2,98 | 4,57 | 6,04 | 3,38 | 2,41 | 4,26 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); IA (Intestino anterior): duodeno e jejuno; Energia padrão: 3050 (11-14 dias) e 3150 (32-35 dias) kcal/kg e Energia baixa: 2950 (11-14 dias) e 3050 (32-35 dias) kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

Tabela 4- Peso relativo (g/kg de peso vivo) dos segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade

| Tratamento | 14 dias | | | | 35 dias | | | |
|----------------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|
| | Moela | IA | Íleo | Ceco | Moela | IA | Íleo | Ceco |
| Padrão | 15,66 | 29,68 | 13,01 | 2,08 | 6,62 | 11,28 | 6,24 | 1,31 |
| Baixo | 16,85 | 29,66 | 13,02 | 2,28 | 6,70 | 11,24 | 6,23 | 1,38 |
| Aditivos | | | | | | | | |
| Controle | 16,42 | 29,62 | 13,07 | 2,25 | 6,63 | 11,25 | 6,24 | 1,34 |
| Enzima | 16,12 | 29,70 | 12,98 | 2,07 | 6,70 | 11,31 | 6,23 | 1,35 |
| Probiótico | 16,25 | 29,62 | 13,04 | 2,31 | 6,64 | 11,18 | 6,21 | 1,35 |
| Enz+Prob | 16,24 | 29,74 | 12,96 | 2,08 | 6,66 | 11,29 | 6,25 | 1,34 |
| Probabilidades | | | | | | | | |
| Energia (E) | <0,001 | 0,977 | 0,969 | 0,002 | 0,169 | 0,781 | 0,928 | 0,001 |
| Aditivo (A) | 0,749 | 0,995 | 0,977 | 0,016 | 0,865 | 0,921 | 0,997 | 0,995 |
| E x A | 0,992 | 0,969 | 0,981 | 0,007 | 0,620 | 0,737 | 0,975 | 0,617 |
| CV(%) | 5,04 | 3,77 | 4,30 | 11,47 | 2,70 | 3,73 | 5,78 | 4,37 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); IA (Intestino anterior): duodeno e jejuno; Energia padrão: 3050 (11-14 dias) e 3150 (32-35 dias) kcal/kg e Energia baixa: 2950 (11-14 dias) e 3050 (32-35 dias) kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

pH da digesta do TGI

Comparando as dietas de baixa energia (com farelo de trigo) com energia padrão (sem farelo de trigo), aos 14 e 35 dias de idade, constatou-se uma diminuição significativa nos valores de pH no conteúdo da moela e ceco, para as dietas com baixa energia, aos 14 dias (Tab. 5). A diminuição do pH da digesta pode ser consequência do maior conteúdo de fibra solúvel presente nas dietas (Jiménez-Moreno, 2007). Partículas de mais difícil digestão ficam retidas por mais tempo dentro da moela, estimulando sua atividade (Hetland et al., 2005; Jiménez-Moreno, 2007). Duke (1986) observou que a presença de alimento na moela induz ao aumento da produção de ácido clorídrico pelo proventrículo, baixando o pH da moela. A diminuição do pH pode melhorar a

atividade da pepsina, a retenção de nitrogênio e a solubilidade da fração mineral do alimento (Guinotte et al., 1995). Além disso, a redução do pH da moela pode promover um efeito preventivo ao desenvolvimento de patógenos, como *Salmonella* sp e *Clostridium. perfringens* (Engberg et al., 2004; Bjerrum et al., 2005). Nos cecos a fração solúvel da fibra que não é digerida e nem absorvida até a porção final do intestino, pode baixar o pH da digesta cecal pela atividade fermentativa da população microbiana residente. O produto da fermentação, ácidos orgânicos e gases (Józefiak et al., 2004a,b), contribuem para diminuir o pH cecal e muitas vezes podem melhorar os resultados de desempenho.

Os valores de pH da digesta nos diferentes segmentos do TGI também aumentaram com a idade (Tab 5), concordando com os resultados encontrados por outros pesquisadores (González-Alvarado et al., 2007; Jiménez-Moreno et al., 2009). Segundo Jiménez-Moreno et al. (2009) o diâmetro do orifício de saída da moela para o duodeno é menor aos 5 do que aos 15 dias de idade, e conseqüentemente, a porcentagem de partículas maiores retida na moela será reduzida com a idade, aumentando o pH. O aumento do pH também pode ser afetado pelo aumento da produção de enzimas digestivas que cresce no frango até a idade de 35 dias (Iji et al., 2001; Gabriel et al., 2008). As enzimas são responsáveis por degradar moléculas complexas de polissacarídeos (Choct et al., 1999; Mathlouthi et al., 2003) e quando sua atuação é eficiente há uma diminuição do conteúdo cecal e da fermentação microbiana, implicando na redução da produção de ácidos graxos voláteis, o que geralmente eleva os valores de pH (Stanoganois & Pearce, 1985).

Contudo, no presente trabalho a adição de enzimas e probióticos isolados e em combinação não promoveu a redução dos valores de pH em nenhum dos segmentos analisados (tab. 5).

Tabela 5- pH de segmentos do TGI de frangos de corte aos 14 e 35 dias de idade

| Tratamento | 14 dias | | | 35 dias | | |
|----------------|---------|-------|--------|---------|-------|-------|
| Energia | Moela | Íleo | Ceco | Moela | Íleo | Ceco |
| Padrão | 3,74 | 6,80 | 6,09 | 3,79 | 7,02 | 6,23 |
| Baixo | 3,28 | 6,81 | 5,88 | 3,80 | 7,03 | 6,24 |
| Aditivos | | | | | | |
| Controle | 3,50 | 6,80 | 5,96 | 3,78 | 7,04 | 6,27 |
| Enzima | 3,52 | 6,81 | 5,98 | 3,81 | 7,02 | 6,25 |
| Probiótico | 3,51 | 6,79 | 5,99 | 3,83 | 7,01 | 6,20 |
| Enz+Prob | 3,52 | 6,82 | 6,00 | 3,79 | 7,04 | 6,24 |
| Probabilidades | | | | | | |
| Energia (E) | <0,001 | 0,679 | <0,001 | 0,699 | 0,909 | 0,633 |
| Aditivo (A) | 0,866 | 0,463 | 0,763 | 0,135 | 0,605 | 0,359 |
| E x A | 0,675 | 0,795 | 0,700 | 0,956 | 0,858 | 0,966 |
| CV(%) | 6,84 | 6,90 | 2,34 | 1,32 | 0,85 | 1,28 |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Energia padrão: 3050 (11-14 dias) e 3150 (32-35 dias) kcal/kg e Energia baixa: 2950 (11-14 dias) e 3050 (32-35 dias) kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

CONCLUSÃO

Comparando os dois níveis de energia das dietas conclui-se que as dietas com baixo nível de energia reduzem o desempenho de frangos de corte e aumentam ($P < 0,05$) o pH, o comprimento e o peso de seguimento do TGI.

Os aditivos utilizados não alteram os parâmetros de desempenho e pH. No entanto, a adição das enzimas isoladas e em combinação com o probiótico, nas dietas com baixa energia (com farelo de trigo), diminui

significativamente o comprimento e o peso do ceco aos 14 dias.

BIBLIOGRAFIA

- ALMIRALL, M.; FRANCESCH, M.; PÉREZ-VENDRELL, A. M.; BRUFAU, J.; ESTEVE-GARCIA, E. The differences in intestinal viscosity produced by barley and β -glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than in chicks. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v.125, p.947–955, 1995.
- APATA, D. F. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Amsterdam, v.88, p.1253-1258, 2008.
- BARTON, M. D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.13, p.279–299, 2000.
- BATAL, A. B.; PARSONS, C. M. Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. **Poultry Science**, Champaign, v.81, p.400-407, 2002.
- BERTECHINI, A. G.; HOSSAIN, S. M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 1993 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Campinas. **Anais...** Campinas:Facta, 1993. p. 1.
- BIGGS, P.; PARSONS, C. M. The effects of whole grains on nutrient digestibilities, growth performance, and cecal short-chain fatty acid concentrations in young chicks fed ground corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, Champaign, v.88, p.1893–1905, 2009.
- BJERRUM, L.; PEDERSEN, K.; ENGBERG, R. M. The influence of whole

wheat feeding on salmonella infection and gut flora composition in broiler.

Avian Disease, Jacksonville, v.49, p.9–15, 2005.

BRENES, A.; SMITH, M.; GUENTER, W.; MARQUARDT, R. R. Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat- and barley -based diets. **Poultry Science**, Champaign, v.72, p.1731–1739, 1993.

CHOCT, M.; ANNISON, G. Antinutritive effect of wheat pentosans in broiler chicken: Role of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, Cambridge, v.33, p.821–834, 1992.

CHOCT, M.; HUGES, R. J.; TRIMBLE, R. P.; ANGKANAPORN, K.; ANNISON, G. Non-starch polysaccharide-degrading enzymes increase the performance of broiler chickens fed wheat and low apparent metabolisable energy. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v.125, p.485–492, 1995.

CHOCT, M.; HUGHES, R. J.; BEDFORD, M. R. Effects of a xylanase on individual bird variation, starch digestion throughout the intestine, and ileal and cecal volatile fatty acid production in chickens fed wheat. **British Poultry Science**, Cambridge, v.40, p.419–422, 1999.

DANICKE, S.; JEROCH, H.; BOTTCHEER, W.; SIMON, O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.84, p.279-294, 2000.

DUKE, G. E. Alimentary canal: Secretions and digestion, special digestion functions and absorption. in **Avian Physiology**. P. D. Sturkie, ed. Springer-

Verlag, New York, NY. p.289–302,1986.

ENGBERG, R. M.; HEDEMANN, M. S.; STEENFELDT, S.; JENSEN, B. B.

Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. **Poultry Science**, Champagne, v.83, p.925–938, 2004.

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

FULLER, R. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. **British Poultry Science**, Cambridge, v.18, p.85-94, 1977.

GABRIEL,I.; MALLET, S.; LECONTE, M.; TRAVEL, A.; LALLES, J.P. Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, p.144-162, 2008.

GAO, F.; JIANG, Y.; ZHOU, G. H.; HAN, Z. K. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, p.173–184, 2008.

GARCIA, M.; LAZARO, R.; LATORRE, M. A.; GRACIA, M. I.; MATEOS, G. G. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. **Poultry Science**, Champaing, v.87, p.940–948, 2008.

GONAL, M.; YASAR, S.; FORBES, J. M. Performance and some digesta parameters of broiler chickens given low or high viscosity wheat-based diets

- with or without enzyme supplementation. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Science**, Kavaklıdere, v.28, p.323-327, 2004.
- GONZALEZ-ALVARADO, J. M.; JIMENEZ-MORENO, E.; LAZARO, R.; MATEOS, G. G. Effects of cereal, heat processing of the cereal, and fiber on productive performance and digestive traits of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.1705–1715, 2007.
- GUINOTTE, F.; GAUTRON, J.; NYS, Y. Calcium solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. **British Journal Nutrition**, Cambridge, v.73, p.125–139, 1995.
- HETLAND, H.; SVIHUS, B.; CHOCT, M. Role of insoluble fiber on gizzard activity in layers. **Australian Journal Agriculture Research**, Collingwood, v.14, p.38-46, 2005.
- HUANG, M. K.; CHOI, J. L.; HOUDE, R.; LEE, J. W.; LEE, B.; ZHAO, X. Effects of lactobacilli and an acidophilic fungus on the production in Nigeria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Washington, v.20, p.51–56, 2004.
- IJI, P. A.; SAKI, A. A.; TIVEY, D. R. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 2: Development and characteristics of intestinal enzymes. **British Poultry Science**, Cambridge, v.42, p.514–522, 2001.
- JIMENEZ-MORENO, E.; GONZALEZ-ALVARADO, J. M.; DE COCA-SINOVA, A.; LAZARO, R.; MATEOS, G. G. Effects of source of fibre on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.154, p.93–101, 2009.

- JIMENEZ-MORENO, E.; GONZALEZ-ALVARADO, J. M.; GONZALEZ-SERRANO, A.; LAZARO, R.; MATEOS, G. G. Effects of inclusion of several fiber sources on digesta pH of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p640(S), 2007.
- JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; FRĄTCZAK, M.; BOROS, D. The effect of dietary fibre fractions from different cereals and microbial enzymes supplementation on performance ileal viscosity and short-chain fatty acids concentration in caeca of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.13, p.487–496, 2004a.
- JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; MARTIN, S.A. Carbohydrate fermentation in the avian caeca - a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.113, p.1–15, 2004b.
- JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; JENSE, B. B.; ENGBERG, R. M. Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.132, p.79–93, 2007.
- LANGHOUT, D. J.; SCHUTTE, J. B.; VAN LEEUWEN, P.; WIEBENGA, J.; TAMMINGA, S. Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. **British Poultry Science**, Cambridge, v.40, p.340–347, 1999.
- LI, L. L.; HOU, Z. P.; LI, T. J.; WU, G. Y.; HUANG, R. L.; TANG, Z. R.; YANG, C. B.; GONG, J.; YU, H.; KONG, X. F. Effects of dietary probiotic supplementation on ileal digestibility of nutrients and growth performance in

- 1- to 42-day-old broilers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Amsterdam, v.88, p.35–42, 2008.
- MARQUARDT, R. R.; BOROS, D.; GUENTER, W.; CROW, G. The nutritive value of barley, rye, wheat and corn for young chicks as affected by use of a *Trichoderma reesei* enzyme preparation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.45, p.363-378, 1994.
- MATHLOUTHI, N.; JUIN, H.; LARBIER, M. Effect of xylanase and β -glucanase supplementation of wheat- or wheat- and barley-based diets on the performance of male turkeys. **British Poultry Science**, Cambridge, v.44, p.291–298, 2003.
- MOUNTZOURIS, K. C.; BALASKAS, C.; XANTHAKOS, I.; TZIVINIKOU, A; FEGEROS, K. Effects of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis. **British Poultry Science**, Cambridge, v.50, p.467–478, 2009.
- MOUNTZOURIS, K. C.; TSIRTSIKOS, P.; KALAMARA, E.; NITSCH, S; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Evaluation of the Efficacy of a Probiotic Containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* Strains in Promoting Broiler Performance and Modulating Cecal Microflora Composition and Metabolic Activities. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.309–317, 2007.
- MOUNTZOURIS, K. C.; TSITRSIKOS, P.; PALAMIDI, I; ARVANITI, A.; MOHNL, M.; SCHATZMAYAR, G.; FEGEROS, K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. **Poultry Science**, Champaign, v.89, p.58-67, 2010.

- MOURÃO, J. L. T. A. M.; PINHEIRO, V. M. C. Efeitos do centeio, do trigo e da suplementação com xilanases sobre o valor nutricional de dietas e o desempenho de frangos corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.12, p.2417-2424, 2009.
- NITSAN, Z.; BEN-AVRAHAM, G; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, Cambridge, v.32, p.515–523, 1991.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.74, p.366–373, 1995.
- PALO, P. E.; SELL, J. L.; PIQUER, F. J.; VILASECA, L.; SOTO-SALANOVA, M. F. Effects of nutrient restriction on broiler chickens. 2: Performance and digestive enzyme activities. **Poultry Science**, Champaign, v.74, p.1470–1483, 1995.
- PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Botucatu-SP, v.35, p.165-178, 1998.
- RAVINDRAN, V.; WU, Y. B.; THOMAS, D. G.; MOREL, P.C.H. Influence of whole wheat feeding on the development of gastrointestinal tract and performance of broiler chickens. **Australian Journal Agriculture Research**, Collingwood, v.57, p.21–26, 2006.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2ª edição-Viçosa: UFV. Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

- STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS). Version 15.0. [Computer program]. Chicago: SPSS Inc.; 2006.
- STANOANOIS, G.; PEARCE, G. R. The digestion of fibre by pigs. 1. The effect of amount and type of fibre on apparent digestibility, nitrogen balance and rate of passage. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.53, p.513–530, 1985.
- STEENFELDT, S.; HAMMERSHÙJ, M.; MUÈ LLERTZ, A.; JENSEN, F.J. Enzyme supplementation to wheat-based diets for broilers. 2. Effects on growth performance and intestinal viscosity. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.75, p.45-65, 1998.
- SVIHUS, B.; HERSTAD, O.; NEWMAN, C. W.; NEWMAN, R. K. Comparison of performance and intestinal characteristics of broiler chickens fed on diets containing whole, rolled or ground barley. **British Poultry Science**, Cambridge, v.38, p.524–529, 1997.
- VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, London, v.14, p.327–335, 2000.
- WANG, Z. R.; QIAO, S. Y.; LU, W. Q.; LI, D. F. Effects of supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, Campaing, v.84, p.875-881, 2005.
- WYATT, C. L.; BEDFORD, M. R. Uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas á base de milho: recentes progressos no desenvolvimento e aplicação prática. In: Seminário Técnico FINNFEEDS, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: FINNFEEDS, 1998,

p.2-12.

YASAR, S.; FORBES, J. M. Effects of wetting and enzyme supplementation of wheat-based foods on performance and gut responses of broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v.38, p43-44(S), 1997.

ZHOU, Y.; JIANG, Z.; LV, D.; WANG, T. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Poultry Science, Champaign**, v.88, p.316-322, 2009.

CAPÍTULO IV

Probiótico e enzimas na alimentação de frangos de corte: efeitos na metabolizabilidade das dietas e produção de resíduos

Probiotic and enzymes in the food of broilers: effects in digestibility of diets and waste production

I. I. Santos, A. M. Kessler, J. F. Mendes, R. V. Kras, M. Gianfelici

RESUMO

Neste trabalho foram utilizados frangos machos Ross para avaliar o efeito de probiótico e enzimas em dietas com dois níveis de energia, nos períodos de 11 a 14 e 32 a 35 dias de idade. A dieta com o nível padrão de energia foi baseada em milho e farelo de soja e a dieta com baixa energia (BE) com milho e farelos de soja e trigo. Cada nível de energia recebeu quatro tratamentos: Sem aditivo; enzimas xilanase + amilase + β -glucanase; probiótico *Enterococcus faecium* e; enzimas mais probiótico utilizados nos tratamentos anteriores. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso e cada tratamento teve 5 repetições de 12 aves no primeiro período e de 8 no segundo. Calculou-se o efeito dos aditivos sob a metabolizabilidade e digestibilidade de nutrientes e a EMA. Também foi calculada a produção de dejetos (PD), a excreção de água (EA), nitrogênio (EN) e coeficiente de resíduo (CRe). Houve efeito ($P < 0,001$) da energia para os parâmetros de metabolizabilidade e digestibilidade em ambos os períodos e efeito das enzimas isoladas e em combinação com probiótico, nas dietas de BE, no primeiro período. No período de 32 a 35 dias, obteve-se os mesmos efeitos

para os métodos de coleta total e ileal, porém com exceção da proteína bruta os valores do método de coleta total foram significativamente maiores para todos os parâmetros analisados. A PD, EA, EN e o CRe foram maiores ($P < 0,005$) nas dietas com BE em ambos os períodos. Porém, a adição das enzimas sozinhas e em combinação com probiótico, nas dietas com BE baixou significativamente a PD na MS, o CRe e a EN, no período de 11 a 14 dias. Conclui-se que, a adição das enzimas isoladas ou em combinação com probiótico para as dietas com baixa energia é mais eficiente e necessária do que para aquelas com nível de energia padrão, aumentando a digestibilidade e diminuindo a excreção de resíduos.

Palavras chave: Amilase; dejetos; nitrogênio; trigo; xilanase

ABSTRACT

This study used Ross male broiler chickens to evaluate the effect of probiotic and enzymes in diets with two energy levels from 11 to 14 and from 32 to 35 days-old. The (LE) low energy diet was based on corn, soy and wheat and the standard diet with corn and soy. Each energy level received four treatments: Without additive; xylanase + amylase + β -glucanase enzymes; *Enterococcus faecium* probiotic and; enzymes plus probiotic used in the other treatments. The experimental design was completely randomized with 5 repetitions of 12 birds in the first period and 8 birds in the second period in each treatments. The effect of EMA and metabolization and digestibility of nutrients was calculated. In addition the (SP) sludge, (WE) water and (NE) nitrogen excretion and (RC) residue coefficient too were calculated. For both periods there was an effect ($P < 0,001$) of energy level to all the metabolization and digestibility parameters

and in the first period there was an effect of enzyme isolate and in combination with probiotic in the LE diets. The total and ileal collection method obtained the same effects in the period of 32 to 35 days. But, the values of total collection method were significantly bigger for every parameter analyzed with exception of gross protein. For both periods the SP, WE, NE and the RC were bigger ($P < 0,005$) in the diets with LE. But, at 11 to 14 days the addition of enzymes alone and in combination with probiotic in the LE diets reduced significantly the SP to MS, the RC and NE. In conclusion, the addition of the enzymes alone or mix with the probiotic is more efficient and necessary for the low energy than standard energy diets. Thus they improve the digestibility of LE diets and reduce waste production.

Keywords: Nitrogen; sludge; wheat; amylase, xylanase

INTRODUÇÃO

Na criação de aves no Brasil, o milho é o principal alimento energético utilizado nas formulações de dietas. Entretanto, devido a oscilações no preço, especialmente na entressafra, e sua utilização para produção de etanol, a busca pela substituição total ou parcial do milho nas dietas, tem ganhado atenção dos pesquisadores brasileiros.

Um dos cereais bastante pesquisado é o trigo, que na Europa é o principal ingrediente da dieta de aves. O trigo é um alimento de grande valor nutricional, porém apresenta em sua composição uma gama de fatores antinutricionais, entre eles os polissacarídeos não amiláceos solúveis (PNAs) que interferem na digestibilidade dos nutrientes. No trigo, o principal componente dos PNAs é o arabinoxilano, representando 50-80 g/kg de matéria

seca (Annison, 1990). Choct & Annison (1992), monitorando níveis de arabinoxilanos nas dietas com trigo, constataram resultados significativamente menores da energia metabolizável aparente nas dietas cujas quantidades de arabinoxilanos eram maiores. O farelo de trigo é o subproduto da produção da farinha de trigo e representa em torno de 25% do grão inteiro. No farelo os compostos fibrosos estão em maior concentração, o que pode acarretar, dependendo do nível de inclusão, baixa digestibilidade em dietas não ruminantes.

Dietas com baixa digestibilidade podem afetar o desempenho das aves, especialmente no período inicial (Campbell & Bedford, 1992) e aumentar a excreção de resíduos poluentes.

A baixa digestibilidade dos PNAs se deve a sua capacidade de ligar-se a moléculas de água e promoverem a hidratação da digesta, que pode dificultar fisicamente os processos de digestão e absorção dos nutrientes e a atuação das enzimas digestivas (Penz Jr., 1998), favorecendo o aumento na quantidade de excreta produzida e interferindo na qualidade da cama onde os animais estão alojados.

Dos resíduos produzidos pela criação de animal, o nitrogênio está entre os principais componentes poluentes (Kurvits & Martab, 1998). O principal problema do nitrogênio no solo é sua transformação em nitrato, uma forma que se torna facilmente solúvel, sendo lixiviado para lençóis freáticos, contaminando água e solo (Vitousek et al., 1997).

Para melhorar a digestibilidade dos nutrientes, muitos pesquisadores têm utilizado probióticos e enzimas na alimentação animal. Tournut (1998), Apata et al. (2008) e Mountzouris et al. (2010) apresentaram dados em que

probióticos administrados através da dieta, elevaram os valores de energia metabolizável da ração e melhoraram a digestibilidade da gordura e proteína para frangos de corte. Almirall et al. (1995) e Steinfeldt et al. (1998a,b) verificaram que, a introdução de enzimas às dietas diminuiu a viscosidade da digesta, melhorou a digestão, a absorção dos nutrientes (Jiménez-Moreno et al., 2009) e reduziu a excreção de água (Garcia et al. (2008).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de probiótico e enzimas em dietas com e sem farelo de trigo, sob dois níveis de energia, nos períodos de 11 a 14 e 32 a 35 dias de vida de frangos de corte. Calculou-se o efeito sob a digestibilidade de nutrientes e a EMA e sob o coeficiente de resíduo, a produção de dejetos, a excreção de água e nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, tendo a fase de campo e o abate dos animais realizados nas dependências do setor de avicultura do Laboratório de Ensino Zootécnico e, as análises laboratoriais no Laboratório de Nutrição Animal.

O experimento foi conduzido com frangos machos da linhagem Ross a partir do primeiro dia de idade. Os animais foram pesados e alojados em gaiolas, admitindo-se uma variabilidade de $\pm 5\%$ entre as médias dos pesos para cada gaiola. A temperatura ambiental e a umidade relativa do ar foram controladas e registradas diariamente. O abastecimento dos comedouros com ração foi feito através de conchas específicas para cada tratamento, tomando-se o devido cuidado para que os micro-organismos de um tratamento não contaminassem o outro e este mesmo procedimento foi adotado com o material

de limpeza necessário para a lavagem dos bebedouros. Os animais receberam durante todo o período experimental água clorada e ração à vontade.

As dietas experimentais foram constituídas de duas formulações, uma com nível padrão de energia, à base de milho e farelo de soja, e outra com nível baixo de energia (redução de 100 kcal/kg de EM, em relação à dieta padrão, obtido pela inclusão de farelo de trigo) (Tab.1). Exceto pelo nível de energia, as dietas apresentaram balanceamento e equivalência nos níveis dos demais nutrientes, atendendo às exigências nutricionais da espécie, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). Cada nível de energia recebeu quatro tratamentos: 1- Controle (sem aditivo); 2- enzimas (xilanase + amilase + β -glucanase); 3- probiótico (*Enterococcus faecium*) e; 4- enzimas mais o probiótico utilizados nos tratamentos 2 e 3 (Tab. 1).

Tabela 1- Composição e níveis nutricionais calculados para as dietas experimentais nas fases inicial (1-21 dias) e de crescimento (22-35 dias)

| INGREDIENTES (%) | 1-21 dias | | 22-35 dias | |
|-------------------|------------------|-------|------------|-------|
| | Nível de Energia | | | |
| | Padrão | Baixo | Padrão | Baixo |
| Milho | 58,46 | 52,38 | 59,59 | 53,53 |
| Farelo de soja 46 | 34,08 | 32,66 | 31,94 | 30,52 |
| Farelo de trigo | - | 7,54 | - | 7,52 |
| Óleo de soja | 3,08 | 3,08 | 4,38 | 4,38 |
| Calcáreo | 1,36 | 1,39 | 1,31 | 1,35 |
| Fosfato bicálcico | 1,72 | 1,63 | 1,59 | 1,50 |
| Sal comum | 0,46 | 0,46 | 0,46 | 0,46 |
| Premix Vitamínico | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| Premix Mineral | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 |
| Lisina | 0,29 | 0,30 | 0,22 | 0,23 |
| DL-Metionina | 0,27 | 0,28 | 0,24 | 0,24 |
| Aditivos* | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Colina 60 | 0,060 | 0,06 | 0,05 | 0,05 |
| Monensina 20% | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| EM (kcal/kg) | 3050 | 2950 | 3150 | 3050 |
| PB | 21 | 21 | 20 | 20 |
| FB | 3,25 | 3,75 | 3,16 | 3,66 |
| Ca | 0,95 | 0,95 | 0,90 | 0,90 |
| Pdisponível | 0,45 | 0,45 | 0,42 | 0,42 |
| Sódio | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| Lisina Total | 1,29 | 1,29 | 1,18 | 1,18 |
| Metionina Total | 0,57 | 0,57 | 0,53 | 0,53 |
| Triptofano Total | 0,27 | 0,27 | 0,26 | 0,26 |
| Colina (mg/kg) | 1500 | 1500 | 1400 | 1400 |

* Probiótico *Enterococcus faecium* - 10^{10} UFC/g (Cilactin®): 30 g/ton; Mistura de enzima xilanase (Ronozyme® WX): 100 g/ton e amilase + β -glucanase (Ronozyme® A): 400 g/ton.

O período experimental foi constituído por duas etapas: dos 11 aos 14 e dos 32 aos 35 dias de vida das aves.

Para a digestibilidade foi utilizado o método de coleta total das excretas na primeira etapa e na segunda os métodos de coleta total e ileal. Em ambos os métodos foi feita a pesagem das aves, bem como das rações fornecidas no início e final de cada período experimental. A coleta das excretas foi realizada pela manhã e à tarde, com um intervalo de 12 horas. Toda a excreta produzida foi acondicionada em sacos plásticos identificados e conservada em freezer para análises posteriores. O óxido de cromo foi utilizado como indicador externo para determinação da digestibilidade ileal, sendo adicionado às dietas na razão de 0,25%.

A coleta da digesta ileal foi feita logo após ao abate, utilizando-se três aves por repetição. O íleo foi delimitado entre o divertículo de Meckel e a junção íleo-ceco-cólica.

As amostras das excretas, das dietas e do conteúdo íleal foram analisadas quanto aos teores de matéria seca, proteína bruta segundo AOAC (1995) e de energia bruta, segundo Parr (1988). O teor de cromo foi analisado por espectrofotometria, após digestão ácida de acordo com Udén et al. (1980). Foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), da proteína bruta (CMPB), da energia bruta (CMEB) e a energia metabolizável aparente (EMA). Para a digestibilidade ileal, os coeficientes de digestibilidade da MS e PB e a EMA foram calculados por intermédio do fator de indigestibilidade (FI) do cromo (Rodriguez et al., 2005).

Foi determinada a produção de dejetos na matéria natural e matéria seca e a excreção de água e nitrogênio. O coeficiente de resíduo foi calculado

como grama de matéria seca excretada por grama de peso vivo ganho, segundo Laurentis et al. (2007), adaptado para animais em gaiolas.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com o esquema fatorial 2x4 (dois níveis de energia e quatro aditivos) e cada dieta recebeu cinco repetições de 12 aves no primeiro período e de 8 no segundo.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico SPSS (2006) e, na presença de diferença significativa foi realizada a comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de metabolizabilidade e de digestibilidade da MS, PB e EB e a EMA das dietas estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

Constatou-se efeito ($P < 0,001$) da energia em ambos os períodos analisados (de 11 a 14 e de 32 a 35 dias). O efeito do nível de energia era esperado em função da dieta com energia padrão ter sido formulada com maior energia metabolizável em ambos os períodos (3050 e 3150 kcal/kg contra 2950 e 3050 kcal/kg), entretanto, a redução esperada na EM, originalmente de 100 kcal/kg, resultou em perdas maiores (206 kcal/kg no primeiro período e 196 kcal/kg no segundo, com base na MS). Zhou et al. (2009) verificaram que os valores no coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), da proteína bruta (CMPB) e a EMA diminuíram com a redução da EM das dietas. Porém, com a introdução de enzimas às dietas, os valores dos CMMS, CMPB e a EMA aumentaram significativamente. Esperava-se, neste trabalho, que a introdução dos aditivos nas dietas com menos EM aumentassem a metabolizabilidade das variáveis analisadas (MS, PB, EB e EMA), atingindo os

níveis semelhantes aos da dieta padrão. Mas, verificou-se que apenas na fase inicial os aditivos enzimas isoladas e em combinação com o probiótico, contidos nas dietas com baixa energia (com farelo de trigo) tiveram um aumento próximo do esperado (Tab. 2). O efeito positivo das enzimas em dietas com trigo e/ou milho é reportado em muitos trabalhos (Wang et al., 2005; Gao et al., 2008; Garcia et al., 2008; Zhou et al., 2009), em alguns deles, esse efeito é mais pronunciado na fase inicial de desenvolvimento dos frangos (0 a 21 dias de idade) (Steenfeldt et al., 1998b; Batal & Parsons, 2002; Zhou et al., 2009). Contudo, o efeito positivo das enzimas também é dependente do tipo de enzima adicionada à dieta, já que existe uma especificidade das enzimas por seus substratos (Penz Jr., 1998); da quantidade de enzima (Zhou et al., 2009) e; do tipo e quantidade do cereal presente nas dietas (Biggs & Parsons, 2009). Dietas com milho apresentam alta digestibilidade e as enzimas exógenas são menos efetivas em dietas com alta digestibilidade (Cowan et al., 1996; Tester et al., 2004; Zhou et al., 2009). Dietas com trigo geralmente são ricas em PNAs, dos quais grande parte são os arabinosilanos com elevada capacidade de se ligar as moléculas de água, causando um aumento na viscosidade da digesta (Choct & Annison, 1992) e dificultando a ação das enzimas endógenas. Nesse caso, a introdução mais adequada de enzima à dieta seria a xilanase. Steenfeldt et al. (1998b) utilizando xilanase em dietas a base de trigo encontraram um aumento significativo na EMAn e na metabolizabilidade da GB e do amido no período inicial. No presente trabalho, o efeito ($P < 0,05$) das enzimas nas dietas com farelo de trigo, no período inicial, resultou em relação às dietas sem enzima, um acréscimo médio para os coeficientes de metabolizabilidade da MS, PB e EB de 2,73%, 3,39% e 2,70%

respectivamente, e uma aumento médio da EMA de 80,5 kcal/kg MS (Tab. 2).

Não foi encontrado efeito na EMA e na metabolizabilidade da MS, PB e EB para dietas com probióticos, somente em combinação com as enzimas. Pedroso (2003) constatou que os probióticos utilizados nas dietas de frangos não foram suficientemente competitivos com os demais microorganismos presentes na população intestinal, sendo incapazes de colonizar o trato digestório. Como as dietas com o probiótico não apresentaram efeitos isoladamente, acredita-se que o efeito obtido na sua combinação com enzimas seja somente efeito das enzimas. Essa ineficiência pode estar relacionada a vários fatores como a composição da espécie microbiana e sua viabilidade, nível de administração, método e frequência de aplicação, idade da ave, higiene das instalações e fatores de estresse ambiental. Além disso, diferentemente da ação das enzimas, o probiótico utilizado não tem efeito direto sobre a metabolizabilidade dos substratos que compõe as variáveis estudadas, e sim um possível efeito indireto associado às atividades promovidas junto a comunidade microbiana do trato digestório.

Comparando os dois períodos percebeu-se que a EMA e a metabolizabilidade da MS, PB e EB foram menores nas aves mais jovens (Tab. 2 e 3). Resultados semelhantes foram obtidos por outros investigadores (Steenfeldt et al., 1998b; Batal & Parsons, 2002; Mourão & Pinheiro, 2009). A menor metabolizabilidade dos nutrientes em frangos jovens está associada à limitação da atividade das enzimas digestivas e das funções do trato gastrointestinal (Nitsan et al., 1991; Noy & Sklan, 1997). Noy & Sklan (1995) constataram que o aumento na metabolizabilidade da proteína em relação ao aumento da idade, se deu devido ao crescimento da atividade das proteases e

da maior eficiência da absorção de aminoácidos pelo desenvolvimento do trato gastrointestinal.

No período de 32 a 35 dias de idade comparou-se os resultados do método de coleta total das excretas com o método de coleta ileal da digesta e constatou-se efeito do método de coleta para a MS, EB e a EMA, obtendo-se valores maiores ($P < 0,001$) com o método de coleta total (Tab. 3). Corroborando com estes resultados, Zanella et al. (1998) avaliando dietas com e sem enzimas constataram que os resultados de EMA das dietas foram maiores quando utilizaram o método de coleta total. O método de coleta ileal permite a dieta ser digerida e absorvida até a porção ileal do intestino, enquanto que pelo método de coleta total o processo de digestão e absorção se estende além do íleo. Logo, a digestibilidade da dieta será maior com o método de coleta total. Por outro lado, a digesta ileal tem normalmente maior presença de proteína de origem endógena, o que por sua vez reduz o coeficiente de digestibilidade aparente (Sakomura & Rostagno, 2007). É normal se obter valores menores de PB com o método de coleta total em aves adultas em relação aos valores obtidos com o método de coleta ileal em aves jovens, porém não se encontrou diferença significativa em relação ao método ileal. Em frangos, fezes e urina são excretadas juntas e esta última é responsável pelo aumento do ácido úrico na excreta, subestimando os cálculos de metabolizabilidade da PB (Wallis & Balnave, 1984; Jorgensen et al., 1996). O ácido úrico pode ser determinado quimicamente (Terpstra & De Haret, 1974), mas nem sempre é possível, por isso, alguns autores consideram o método ileal mais apropriado para a determinação da digestibilidade da PB (Ravindran et al., 1999).

Também foi observado efeito da energia ($P < 0,001$) em ambos os

métodos analisados, refletindo uma diferença do método de coleta total em relação ao ileal para a MS, PB, EB e EMA de 3,3%, 1,78%, 4,38, 76 kcal, respectivamente.

Tabela 2- Coeficiente de metabolizabilidade total da matéria seca (CMMS), proteína bruta (CMPB), energia bruta (CMEB) e EMA em dietas de frangos de corte no período de 11 a 14 dias de idade

| Aditivos | CMMS% | | | CMPB% | | | CMEB% | | | EMA (kcal) | | |
|-------------------|--------------------|--------------------|-------|--------------------|--------------------|-------|--------------------|--------------------|-------|-------------------|-------------------|-------|
| | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média |
| Níveis de energia | | | | | | | | | | | | |
| Controle | 73,99 ^a | 69,78 ^c | 71,89 | 66,85 ^a | 64,51 ^b | 65,68 | 77,12 ^a | 72,61 ^c | 74,86 | 3262 ^a | 3025 ^c | 3143 |
| Enzima | 74,08 ^a | 71,43 ^b | 72,75 | 67,22 ^a | 66,34 ^a | 66,78 | 77,03 ^a | 74,31 ^b | 75,67 | 3262 ^a | 3095 ^b | 3178 |
| Probiótico | 74,05 ^a | 69,75 ^c | 71,90 | 67,27 ^a | 63,99 ^b | 65,63 | 77,14 ^a | 72,30 ^c | 74,72 | 3267 ^a | 3012 ^c | 3139 |
| Enz+Prob | 74,11 ^a | 71,62 ^b | 72,86 | 67,12 ^a | 66,52 ^a | 66,82 | 77,23 ^a | 74,51 ^b | 75,87 | 3270 ^a | 3103 ^b | 3187 |
| Média | 74,06 | 70,64 | | 67,11 | 65,34 | | 77,13 | 73,43 | | 3265 | 3059 | |
| Probabilidades | | | | | | | | | | | | |
| Energia (E) | | <0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | |
| Aditivo (A) | | <0,001 | | | <0,001 | | | 0,001 | | | 0,001 | |
| E x A | | <0,002 | | | <0,001 | | | 0,001 | | | 0,001 | |
| CV(%) | | 2,65 | | | 2,05 | | | 2,78 | | | 3,70 | |

Médias na mesma coluna e linha seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P< 0,05); Energia padrão: 3050 kcal/kg e Energia baixa: 2950 kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium* (10^{10} UFC/g); CV: Coeficiente de variação.

Tabela 3- Método de coleta total e ileal para parâmetros de metabolizabilidade e digestibilidade das dietas de frangos de corte dos 32 a 35 dias de idade

| Tratamento | Método de coleta (MC) | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|-------|--------|-------|------------|-------|--------|-------|
| | Total | Ileal | Total | Ileal | Total | Ileal | Total | Ileal |
| Aditivos | MS% | | PB% | | EMA (kcal) | | EB% | |
| Controle | 74,85 | 74,07 | 70,82 | 70,74 | 3455 | 3376 | 78,39 | 76,56 |
| Enzima | 75,05 | 74,05 | 71,48 | 70,71 | 3451 | 3377 | 78,27 | 76,59 |
| Probiótico | 74,88 | 74,04 | 70,66 | 70,71 | 3443 | 3376 | 78,13 | 76,55 |
| Enz+Prob | 74,92 | 74,07 | 71,34 | 70,75 | 3450 | 3375 | 78,24 | 76,53 |
| Energia | | | | | | | | |
| Padrão | 76,85 | 74,33 | 72,57 | 71,34 | 3548 | 3436 | 80,35 | 78,45 |
| Baixo | 73,00 | 73,78 | 69,57 | 70,12 | 3352 | 3316 | 76,17 | 75,61 |
| Probabilidades | | | | | | | | |
| MC | <0,001 | | 0,132 | | <0,001 | | <0,001 | |
| Energia (E) | <0,001 | | <0,001 | | <0,001 | | <0,001 | |
| Aditivo (A) | 0,939 | | 0,511 | | 0,902 | | 0,907 | |
| MC x E | <0,001 | | <0,001 | | <0,001 | | <0,001 | |
| MC x A | 0,924 | | 0,529 | | 0,930 | | 0,928 | |
| MC x E x A | 0,922 | | 0,514 | | 0,602 | | 0,604 | |
| E x A | 0,980 | | 0,298 | | 0,913 | | 0,919 | |
| CV(%) | 2,05 | | 2,16 | | 2,74 | | 1,29 | |

Médias na mesma coluna e linha seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Energia padrão: 3150 kcal/kg e Energia baixa: 3050 kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium* (10^{10} UFC/g); CV: Coeficiente de variação.

Os resultados dos dejetos produzidos na matéria natural (MN) e matéria seca (MS), assim como a excreção de água e o coeficiente de resíduos são apresentados nas tabelas 4 e 5. Foi encontrado efeito da energia em ambos os períodos analisados (11-14 e 32-35 dias), sendo a produção de dejetos significativamente maior nas dietas com baixa energia em função do aumento na quantidade de fibra oriunda do farelo de trigo. Nestas dietas, no período de 11 a 14 dias, houve também o efeito dos aditivos, onde as enzimas isoladas e em combinação com probiótico reduziram ($P < 0,001$) a produção de dejetos na MS.

A maior produção de dejetos na MN e MS de aves alimentadas com dietas de baixa energia pode estar relacionada com a composição da fibra contida na dieta. A fração solúvel da fibra pode aumentar a quantidade de dejetos produzidos pelos animais (Jorgensen et al., 1996; Garcia et al., 2008). De acordo com Choct & Annison (1992) e Garcia et al. (2008), a fração fibrosa da digesta pode reter grandes quantidades de água e produzir efeitos que prejudicam fisicamente os processos digestivos ocorridos no lúmen intestinal, diminuindo a digestibilidade dos nutrientes aumentando consequentemente, a produção dos dejetos.

Houve um aumento significativo da excreção de água, pelos animais que receberam a dieta com baixa energia (contendo farelo de trigo), em ambos os períodos analisados, consequência da maior excreção de MN fecal e do maior teor de água nas excretas. No primeiro período, essa diferença ($P < 0,001$), resultou em um percentual de 22,12% e no segundo período de 21,30% a mais na excreção de água nas dietas com baixa energia. Cabe ressaltar que, um aumento de aproximadamente 20% na excreção de água

favorece o aumento da umidade da cama em situação de campo. Essa maior umidade pode contribuir para o aumento da incidência de problemas como lesões nas pernas, coxins plantares e peitos em aves de corte criadas nesta situação (Carré et al., 1995; Oliveira et al., 2002; Bellaver et al., 2005), o que poderia resultar em diminuição de desempenho e valor comercial dos lotes. Segundo Steinfeldt et al. (1998a) e Garcia et al. (2008), o efeito da hidratação da digesta provocado pela presença de PNAs diminui com a idade e que a adição de enzimas às dietas diminui significativamente a quantidade de água na excreta. Porém, neste trabalho a presença de enzimas e dos demais aditivos analisados nas dietas não promoveram o mesmo efeito.

Também houve efeito da energia na excreção de nitrogênio (Tab. 5). As dietas com baixa energia (farelo de trigo) apresentaram uma maior ($P < 0,001$) excreção de nitrogênio em ambos os períodos analisados. Entretanto, a presença das enzimas nas dietas com baixa energia, no período de 11 a 14 dias, reduziu esse efeito em nível estatístico, semelhante às dietas com nível de energia padrão.

Sabe-se que a umidade excessiva da cama aumenta a proliferação de micro-organismos (Nahn, 2007) e aliados a maior presença de nitrogênio aumentam a emissão de amônia para o ambiente resultando, entre outros, problemas com a qualidade do ar. Segundo Kristensen & Wathes (2000) a amônia atmosférica é o maior poluente em um ambiente de criação de frangos. A amônia atmosférica pode causar desconforto ao animal e problemas, principalmente respiratórios. Além disso, a cama de aviário é muito usada como fertilizante em solos agrícolas e nestes o nitrogênio pode ser facilmente transformado a óxidos de nitrogênio e ser lixiviado para lençóis freáticos ou

transportado para ambientes aquáticos (Vitousek et al., 1997). Contudo a poluição no solo pelo nitrogênio da cama avícola acontecerá se o solo receber continuamente, por longos anos, cama de aviário com altos níveis de nitrogênio e este estiver acima do requerido pelo solo. Assim, existe a possibilidade de redução do nitrogênio na cama de aviário, bem como de seu efeito poluente no ambiente de criação, pela utilização de enzimas em dietas com farelo de trigo.

Tabela 4- Efeito de dietas de frangos de corte na produção de dejetos e excreção de água e nitrogênio (g/animal/dia) produzido no período de 11 a 14 dias de idade

| Aditivos | Produção de dejetos MN | | | Produção de dejetos MS | | | Excreção de água | | | Excreção de Nitrogênio | | |
|-------------------|------------------------|-------|-------|------------------------|--------------------|-------|------------------|--------|-------|------------------------|--------------------|-------|
| | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média |
| Níveis de energia | | | | | | | | | | | | |
| Controle | 59,55 | 74,75 | 67,15 | 16,13 ^a | 19,11 ^c | 17,62 | 43,42 | 55,65 | 49,53 | 0,798 ^a | 0,888 ^b | 0,843 |
| Enzima | 58,61 | 72,68 | 65,65 | 15,95 ^a | 17,82 ^b | 16,88 | 42,66 | 54,86 | 48,76 | 0,781 ^a | 0,812 ^a | 0,796 |
| Probiótico | 59,15 | 73,96 | 66,56 | 16,03 ^a | 19,09 ^c | 17,56 | 43,13 | 54,87 | 49,00 | 0,782 ^a | 0,901 ^b | 0,842 |
| Enz+Prob | 58,99 | 73,51 | 66,25 | 15,98 ^a | 17,77 ^b | 16,88 | 43,00 | 55,73 | 49,37 | 0,781 ^a | 0,819 ^a | 0,800 |
| Média | 59,08 | 73,73 | | 16,02 | 18,45 | | 43,05 | 55,28 | | 0,785 | 0,855 | |
| Probabilidades | | | | | | | | | | | | |
| Energia (E) | | 0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | |
| Aditivo (A) | | 0,062 | | | <0,001 | | | 0,274 | | | <0,001 | |
| E x A | | 0,756 | | | <0,001 | | | 0,716 | | | <0,001 | |
| CV(%) | | 11,33 | | | 7,89 | | | 12,73 | | | 5,85 | |

Médias na mesma coluna e linha seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P< 0,05); Matéria natural: MN; Matéria seca: MS; Energia padrão: 3050 kcal/kg e Energia baixa: 3950 kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glutanasase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

Tabela 5- Efeito de dietas de frangos de corte na produção de dejetos e excreção de água e nitrogênio (g/animal/dia) produzido no período de 32 a 35 dias de idade

| | Excreção de dejetos MN | | | Excreção de dejetos MS | | | Excreção de água | | | Excreção de Nitrogênio | | |
|----------------|------------------------|--------|--------|------------------------|--------|-------|------------------|--------|--------|------------------------|--------|-------|
| | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média |
| | Níveis de energia | | | | | | | | | | | |
| Aditivos | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média |
| Controle | 136,71 | 171,47 | 154,09 | 34,27 | 41,18 | 37,72 | 103,14 | 130,29 | 116,72 | 1,384 | 1,634 | 1,509 |
| Enzima | 136,27 | 171,81 | 154,04 | 33,41 | 40,91 | 37,16 | 103,14 | 130,90 | 117,02 | 1,353 | 1,591 | 1,472 |
| Probiótico | 137,91 | 173,11 | 155,51 | 33,76 | 41,15 | 37,45 | 103,35 | 131,97 | 117,66 | 1,399 | 1,637 | 1,518 |
| Enz+Prob | 136,48 | 171,24 | 153,86 | 33,78 | 40,92 | 37,52 | 102,36 | 130,32 | 116,34 | 1,413 | 1,582 | 1,497 |
| Média | 136,84 | 171,91 | | 33,89 | 41,04 | | 103,00 | 130,87 | | 1,388 | 1,611 | |
| Probabilidades | | | | | | | | | | | | |
| Energia (E) | | <0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | | | <0,001 | |
| Aditivo (A) | | 0,677 | | | 0,442 | | | 0,809 | | | 0,419 | |
| E x A | | 0,992 | | | 0,689 | | | 0,963 | | | 0,473 | |
| CV (%) | | 11,68 | | | 9,87 | | | 12,31 | | | 8,63 | |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Matéria natural: MN; Matéria seca: MS; Energia padrão: 3150 kcal/kg e Energia baixa: 3050 kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glucanase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

Como nos parâmetros anteriores, também houve o efeito da energia no coeficiente de resíduo (Tab. 6). As aves que receberam dieta com baixa energia (farelo de trigo) apresentaram um aumento significativo no coeficiente de resíduo. O ideal é que o coeficiente de resíduo seja o menor possível, para diminuir assim, o impacto ambiental da atividade avícola. Uma das estratégias utilizadas na avicultura é o uso de aditivos para aumentar a digestibilidade das dietas com conseqüente redução no coeficiente de resíduo. Neste trabalho, no período de 11 a 14 dias, as enzimas isoladas e em combinação com o probiótico nas dietas de baixa energia (com farelo de trigo) reduziram significativamente o coeficiente de resíduo, resultando numa diminuição percentual de 5,3%, resultados similares aos encontrados por Silva et al. (2007), que verificaram uma redução de 10% no coeficiente de resíduo, com o uso de enzimas nas dietas.

Tabela 6- Efeito de dietas de frangos de corte no coeficiente de resíduo (g dejetos MS/g GP) nos períodos de 11 a 14 e 32 a 35 dias

| Aditivos | 11 a 14 dias | | | 32 a 35 dias | | |
|----------------|--------------------|--------------------|-------|--------------|--------|-------|
| | Níveis de energia | | | | | |
| | Padrão | Baixo | Média | Padrão | Baixo | Média |
| Controle | 0,319 ^a | 0,381 ^c | 0,350 | 0,407 | 0,485 | 0,446 |
| Enzima | 0,315 ^a | 0,358 ^b | 0,336 | 0,403 | 0,482 | 0,443 |
| Probiótico | 0,319 ^a | 0,382 ^c | 0,350 | 0,407 | 0,484 | 0,446 |
| Enz+Prob | 0,319 ^a | 0,357 ^b | 0,338 | 0,407 | 0,483 | 0,445 |
| Média | 0,318 | 0,369 | | 0,406 | 0,484 | |
| Probabilidades | | | | | | |
| Energia (E) | | <0,001 | | | <0,001 | |
| Aditivo (A) | | <0,001 | | | 0,898 | |
| E x A | | 0,002 | | | 0,984 | |
| CV(%) | | 8,32 | | | 9,08 | |

Médias na mesma linha e coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Energia padrão: 3050 (11-14 dias) e 3150 (32-35 dias) kcal/kg e Energia baixa: 2950 (11-14 dias) e 3050 (32-35 dias) kcal/kg; Enzima (Enz): Amilase e xilanase + β -glucanase. Probiótico (Prob): *Enterococcus faecium*; CV: Coeficiente de variação.

CONCLUSÃO

Neste trabalho conclui-se que, o aumento da digestibilidade das dietas para frangos de corte está relacionado com o nível de energia, a adição de aditivos nas dietas e a idade das aves. A adição das enzimas isoladas ou em combinação com probiótico, para as dietas com farelo de trigo e baixa energia é mais eficiente e necessária do que para aquelas sem farelo de trigo e com nível de energia padrão.

O método de coleta total das excretas e o método de coleta ileal da digesta apresentam os mesmos efeitos para a digestibilidade da MS, EB e para a EMA nas dietas de frangos de corte, no período de 32 a 35 dias de idade, mas o método de coleta total das excretas é capaz de aumentar ($P < 0,05$) os valores absolutos desses efeitos.

Dietas com baixa energia produzem mais ($P < 0,05$) dejetos, excreção de água, nitrogênio e aumentam significativamente o coeficiente de resíduo em relação às dietas com nível de energia padrão. Porém, com a adição de enzimas sozinhas ou em combinação com probiótico nas dietas com baixa energia, é possível baixar significativamente a produção de dejetos na MS, a excreção de nitrogênio e o coeficiente de resíduo, no período de 11 a 14 dias, minimizando seus possíveis efeitos poluentes.

BIBLIOGRAFIA

- ALMIRALL, M.; FRANCESCH, M.; PEREZ-VENDRELL, A. M.; BRUFAU, J.; ESTEVE-GARCIA, E. The differences in intestinal viscosity produced by barley and β -glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than in cocks. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v.125, p.947–955, 1995.
- ANNISON, G. Polysaccharide composition of Australian wheats and the digestibility of their starches in broiler chicken diets. *Aust. Journal Experimental Agriculture*, Cambridge, v.30, p.183-184, 1990.
- APATA, D. F. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Amsterdam, v.88, p.1253–1258, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 12. ed., Washington, D.C.: 1995. 1094p.
- BATAL, A. B.; PARSONS, C. M. Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, p.400-407, 2002.

- BELLAVER, C.; COSTA, C. A. F.; AVILA V. S.; FRAHA, M.; LIMA, G. J. M. M.; HACKENHAR, L.; BALDI, P. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, p.671-677, 2005.
- BIGGS, P.; PARSONS, C. M. The effects of whole grains on nutrient digestibilities, growth performance, and cecal short-chain fatty acid concentrations in young chicks fed ground corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, Champaign, v.88, p.1893–1905, 2009.
- CAMPBELL, G. L.; BEDFORD, M. R. Enzyme applications for monogastric feeds: A review. **Canadian Journal of Animal Science**, Toronto, v.72, p.449-466, 1992.
- CARRÉ, B.; MONREDON, F.; MELCION, J. P.; GOMEZ, J. Qualité de la litière en aviculture. Aliments et caractéristiques physiques des excréta. **INRA Productions Animales**, Lion, v.8, n.5, p.331-334, 1995.
- CHOCT, M.; ANNISON, G. Antinutritive effect of wheat pentosans in broiler chicken: Role of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**. Cambridge, v.33, p.821–834, 1992.
- COWAN, W. D.; KORSEBAK, A.; HASTRUP, T.; RASMUSSEN, P. B. Influence of added microbial enzymes on energy and protein availability of selected feed ingredients. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.60, p.311–319, 1996.
- GAO, F.; JIANG, Y.; ZHOU, G. H.; HAN, Z. K. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, p.173–

184, 2008.

- GARCIA, M.; LÁZARO, R.; LATORRE, M. A.; GRACIA, M. I.; MATEOS, G. G. Influence of enzyme supplementation and heat processing of Barley on digestive traits and productive performance of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.940–948, 2008.
- JIMÉNEZ-MORENO, E.; GONZALEZ-ALVARADO, J. M.; DE COCA-SINOVA, A.; LAZARO, R.; MATEOS, G. G. Effects of source of fibre on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.154, p.93–101, 2009.
- JORGENSEN, H.; ZHAO, X.; KNUDSEN, K. E. B.; EGGUM, B. O. The influence of dietary fiber source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. **British Journal Nutrition**. Cambridge, v.75, p.379-395, 1996.
- KABIR, S. M. L.; RAHMAN, M. M.; RAHMAN, M. B.; AHMED, S. U. The dynamics of probiotics on growth performance and im-mune response in broilers. **International Journal of Poultry Science**, Fayetteville, v.3; p.361–364, 2004.
- KRISTENSEN, H. H.; WATHES, C. M. Ammonia and poultry welfare: a review. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.56, p.235-245, 2000.
- KURVITS, T.; MARTAB, T. Agricultural NH₃ and NO_x emissions in Canada. **Environmental Pollution**, Toronto, v.102, n.1, p.187-194, 1998.
- LAURENTIS, A. C.; JUNQUEIRA, M. O.; FILARD, R. S.; ASSUENA, V.; CASARTELI, E. M.; COSTA, R. Efeito da adição da enzima fitase em rações para frangos de corte com redução dos níveis de fósforo nas diferentes fases de criação. **Ciência Rural Brasileira**, Santa Maria, v.8,

n.2, p.207-216, 2007.

MOUNTZOURIS, K. C.; TSITRSIKOS, P.; PALAMIDI, I; ARVANITI, A.; MOHNL, M.; SCHATZMAYAR, G.; FEGEROS, K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. **Poultry Science**, Champaign, v.89, p.58-67, 2010.

MOURÃO, J. L. T. A. M.; PINHEIRO, V. M. C. Efeitos do centeio, do trigo e da suplementação com xilanases sobre o valor nutricional de dietas e o desempenho de frangos corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.12, p.2417-2424, 2009.

NAHN, K. H. Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from poultry manure. **Bioresource Technology**, Oxford, v.98, p.2282-2300, 2007.

NITSAN, Z.; BEN-AVRAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, Cambridge, v.32, p.515–523, 1991.

NOY, Y.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.74, p.366–373, 1995.

NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.6, p.344–354, 1997.

PARR INSTRUMENTS Co. **Instructions for the 1241 and 1242 adiabatic calorimeters**. Moline, EUA. 1988. 29p.

OLIVEIRA, M. C.; GOULART, R. B.; SILVA, J.C.N.S. Efeito de duas densidades e dois tipos de cama sobre a umidade da cama e a incidência de lesões na carcaça de frango de corte. **Ciência Animal Brasileira**,

Goiânia, v.3, n.2, p.7-12, 2002.

- PEDROSO, A. A. **Estrutura da comunidade de bactéria do trato intestinal de frangos suplementados com promotores de crescimento**. 2003. 103f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Viçosa, 2003.
- PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 35, Botucatu-SP. 165-178p, 1998.
- RAVINDRAN, V.; HEW, L. I.; RAVINDRAN, G.; BRYDEN, W. L. A comparison of ileal digesta and excreta analysis for the determination of amino acid digestibility in food ingredients for poultry. **British Poultry Science**, Cambridge, v.40,n.2, p.266-274, 1999.
- RODRIGUEZ, P.; MARTINEZ, R.; FREITAS, R.; BERTECHINI, A.; FIALHO, E. Influência sobre o tempo de coleta e metodologias sobre a digestibilidade e o valor energético de rações para aves. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.34, n.3, p.882-889, 2005.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2ª edição-Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
- SILVA, B. K. R. da; PINHEIRO, C. C.; NARDI, V. K.; DAHLKE, F.; WARPECHOWSKI, M. B. Efeito da adição de enzimas em dietas com alto

e baixo teor de fibra sobre a produção de dejetos, nitrogênio e água por frangos de corte¹. In: Zootec. 2007 – XVI Congresso Brasileiro e IV Congresso Internacional de Zootecnia, 2007, Londrina. **Anais do Zootec 2007**. Londrina: Editora universitária - UEL, 2007. 15p.

STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS). Version 15.0. [Computer program]. Chicago: SPSS Inc.; 2006.

STEENFELDT, S.; HAMMERSHØJ, M.; MUELLERTZ, A.; JENSEN, F.J. Enzyme supplementation to wheat-based diets for broilers. 2. Effects on growth performance and intestinal viscosity. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.75, p.45-65, 1998a.

STEENFELDT, S.; HAMMERSHØJ, M.; MUELLERTZ, A.; JENSEN, F.J. Enzyme supplementation to wheat-based diets for broilers. 2. Effects on apparent metabolisable energy content and nutrient digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.75, p.45-64, 1998b.

TERPSTRA, K.; DE HARET, N. The estimation of urinary nitrogen and faecal nitrogen in poultry excreta. Zeitschrift für Tierphysiologie. **Tierernahrung und Futtermittelkunde**, Hamburg, v.32, p.306-320, 1974.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, V.60, p.186–195, 2004.

TOURNUT, J. R. Probiotics. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. 179-199p.

UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Science**

- of Food and Agriculture**, Amsterdam, v.31, p.625-632, 1980.
- VITOUSEK, P. M.; ABER, A.; HOWARTH, R. W.; LIKENS, G. E.; MATSON, P. A.; SCHINDLER, D. W.; SCHLESINGER, W. H.; TILMAN, G. D. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Issues in Ecology*. **Journal of Applied Ecology**, London, v.7, n.3, p.737-750, 1997.
- WALLIS, I. R.; BALNAVE, D. The influence of environmental temperature, age and sex on the digestibility of aminoacids in growing broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v.25, p.401-407, 1984.
- WANG, Z. R.; QIAO, S. Y.; LU, W. Q.; LI, D. F. Effects of supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, Champaign, v.84, p.875-881, 2005.
- ZANELLA, I.; SAKOMURA, N. K.; SILVERSIDES, F. G.; FIQUEIREDO, A.; PACK, M. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v.78, p.561–568, 1999.
- ZHOU, Y.; JIANG, Z.; LV, D.; WANG, T. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Poultry Science**, Champaign, v.88, p.316-322, 2009.

CAPÍTULO V

Microbiota ileal de frangos de corte submetidos à diferentes dietas

Ileal microbiota from broilers submited to diferent diets

I. I. Santos, G. Corção, A. M. Kessler, Iaranjeira V. S., M. Lima

RESUMO

Este estudo foi conduzido para analisar as alterações do perfil microbiano da digesta íleal de frangos de corte alimentados com dietas com dois níveis de energia. A dieta com o nível de energia padrão (EP) foi baseada em milho e farelo de soja e a dieta de baixa energia (BE) com milho e os farelos de soja e trigo. Cada nível de energia recebeu quatro tratamentos: Sem aditivo; enzimas xilanase, amilase e β -glucanase; probiótico *Enterococcus faecium* e; enzimas mais o probiótico utilizados nos demais tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso e cada dieta recebeu 5 repetições de 12 aves. Aos 19 dias, uma ave de cada repetição foi abatida e o conteúdo ileal coletado e armazenado em freezer. Foram feitas as extrações do DNA do micro-organismo probiótico e da microbiota ileal utilizando o kit QIAamp DNA Stool. As amostras extraídas foram amplificadas utilizando-se os oligos universais 338fCG e 518r e foi utilizada a técnica de eletroforese em gel por gradiente desnaturante para caracterização do perfil da microbiota ileal e do probiótico utilizado nas dietas. Os resultados mostraram que as dietas com BE apresentaram 21 amplicons, enquanto as dietas com EP 13 amplicons. Todos os aditivos apresentaram padrões de amplicons diferentes, com exceção das enzimas isoladas e em combinação nas dietas com EP. O perfil do micro-organismo probiótico estava ausente em todas as dietas. Conclui-se que os aditivos introduzidos às dietas foram capazes de alterar a microbiota digestiva

do lúmem ileal e o probiótico utilizado nas rações não foi capaz de colonizar o trato ileal de frangos de corte.

Palavras chave: Enzimas; DGGE; DNA, probiótico; trigo

ABSTRACT

This study was conducted to analyze the variation of the microbiological profile of the ileal digesta of broilers feed with two levels of energy. The (LE) low energy diet was based on corn, soy and wheat and standard energy level with corn and soy. The each energy level received four treatments: Without additive; Xylanase + amylase + β -glucanase enzymes; *Enterococcus faecium* probiotic and; Mix of the enzymes and probiotic used in the other treatments. The experimental design was completely randomized with 5 repetitions of 12 birds. One bird of each repetition was slaughter and the ileal content was collected and stored in freezer in the 19 days. The DNA extraction of probiotic microorganism and of the ileal microbiota was made. The kit QIAamp DNA Stool was used to extract the DNA of samples following the recommendations of manufacturer. The PCR was made for the amplify the V3 region of the 16S rDNA gene present in the microbial population and the technique of denaturing gradient gel electrophoresis was used for characterization of ileal microbiota profile and of the probiotic used in diets. The results showed that the diets with LE presented 21 amplicons, while the diets with the SE presented 13 amplicons. The diversity also was major in the BE diets (8 in LE against 7 in SP). All additives presented differents standards of amplicons with exception of enzymes alone e mix with probiotic in the SE diets. The probiotic microorganism profile was absence in every diets. In conclude,

the additives inserted in the diets were able of change the digestive microbiota of ileal lumen and the probiotic used in the ration did not able to colonize the ileal trato of poultry.

Keywords: Enzymes; DGGE; DNA; probiótic; wheat

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da microbiota intestinal nos frangos está estreitamente relacionado aos ingredientes utilizados na dieta. As espécies bacterianas diferem em relação a suas preferências de substratos e suas necessidades para o crescimento. Por isso, a composição química e a estrutura da digesta determinam amplamente a distribuição da microbiota no trato digestório (Apajalahti & Kettunen, 2002; Apajalahti, 2005). A população bacteriana, em um dado momento reflete a capacidade de cada grupo bacteriano em competir com outros grupos, frente ao sistema de defesa e em determinadas condições físicas e químicas do meio. Por isso, as mudanças na composição da dieta, densidade de nutrientes, características físicas e processamento do alimento, o tipo e o nível de aditivo utilizado nas dietas podem ter efeitos significantes sobre a dinâmica da microbiota intestinal (Apajalati et al., 2001; Guo et al., 2004; Hume et al., 2003, 2006; Oviedo-Rondón et al., 2006; Parker et al., 2007), o que por sua vez influi na habilidade dos animais para digerir e absorver nutrientes. Apajalati et al. (2001) utilizando métodos moleculares analisaram microbiotas intestinais de frangos de corte, alimentados com dieta a base de trigo em oito aviários comerciais da Finlândia. Eles encontraram um efeito individual da dieta e uma forte interação (dieta x aviário) na estrutura microbiana dos cecos. Em outro estudo, comparando

frangos que receberam dietas contendo milho, sorgo, cevada, aveia e centeio, constatou-se que os animais alimentados com milho e sorgo mostraram uma menor abundância de bifidobactérias do que aquelas alimentadas com as outras dietas (Apajalahti & Kuttunen, 2002). Portanto, é possível alterar a microbiotas patogênicas e benéficas mediante mudanças nas dietas e conseqüentemente, na dinâmica intestinal.

Compreender e monitorar as mudanças da ecologia microbiana são pontos importantes para o desenvolvimento de métodos ou produtos que alterem e regulem a comunidade de bactérias melhorando o desempenho ou reduzindo os efeitos de estresse ou doenças. Adicionalmente, essas ferramentas podem servir para controlar patógenos presentes em ingredientes da ração, reduzir a produção de amônia e substâncias voláteis das fezes, responsáveis pelos odores nocivos no ambiente de criação. Assim, o estudo das microbiotas intestinais pode ter impacto na produção, saúde e bem estar de frangos de corte.

Existem poucos métodos disponíveis para monitorar a comunidade microbiana total do trato digestório. As bactérias suficientemente grandes podem ser vistas por microscopia de fluorescência e só algumas podem ser cultivadas em condições de laboratório. A maioria das bactérias que crescem em uma comunidade tão complexa depende de fatores de crescimento administrado por outros micro-organismos ou de secreções dos tecidos do hospedeiro. Devido à complexidade destas necessidades é comum que menos de 10% das bactérias que vivem no intestino possam ser cultivadas em condições de laboratório (Apajalahti et al, 2002). Como conseqüência, a maioria dos trabalhos e conclusões obtidas reflete apenas mudanças

minoritárias na população microbiana. Atualmente, técnicas baseadas em DNA têm sido utilizadas para analisar a microbiota do trato gastrointestinal. Através destas técnicas, o DNA total da microbiota de amostras do trato gastrintestinal é recuperado usando uma combinação de métodos físicos, químicos e enzimáticos (Hume et al., 2006; Oviedo-Rondón et al., 2006; Thompson et al., 2008). No presente estudo utilizou-se a eletroforese em gel por gradiente desnaturante (DGGE) para caracterização do perfil bacteriano da digesta ileal de frangos de corte e do probiótico utilizado na dieta. Para isso, foi feita a extração do DNA da amostra e a amplificação da região V3 do gene 16S rRNA presente no genoma da microbiota ileal. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos aditivos (probiótico e enzimas) na microbiota ileal de frangos de corte alimentados com diferentes dietas e identificar no perfil analisado o probiótico utilizado nas dietas experimentais, verificando dessa forma se as dietas foram capazes de promover alguma mudança na microbiota e se o probiótico utilizado foi capaz de colonizar o trato digestório dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais, dietas e amostras

O experimento foi conduzido com frangos machos da linhagem Ross a partir do primeiro dia de idade. Diariamente foram controladas e registradas a temperatura ambiental e a umidade relativa do ar. Foi fornecido aos animais durante todo o período experimental água clorada e ração à vontade.

As dietas experimentais foram constituídas de duas formulações, uma com nível de energia padrão, à base de milho e farelo de soja, e outra com nível baixo de energia (redução de 100 kcal/kg de EM, em relação à dieta

padrão, obtido pela inclusão de farelo de trigo) (Tab.1). Com exceção do nível de energia, as dietas apresentaram balanceamento e equivalência nos níveis dos demais requerimentos, atendendo às exigências nutricionais da espécie, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). Os níveis de energia receberam quatro tratamentos: 1- Controle (sem aditivo); 2- enzimas (xilanase, amilase e β -glucanase); 3- probiótico (*Enterococcus faecium* - 10^{10} UFC/g) e; 4- enzimas mais o probiótico utilizados nos tratamentos 2 e 3 (Tab. 1). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com o esquema fatorial 2x4 (dois níveis de energia e quatro aditivos) e cada dieta recebeu 5 repetições de 12 aves.

Aos 19 dias uma ave de cada repetição foi abatida, o íleo foi exposto a partir de 4 cm anteriores a região íleo-ceco-cólica, a digesta ileal foi coletada e armazenada em freezer (-24°C). Posteriormente, as amostras foram descongeladas, as repetições de cada tratamento juntadas e homogeneizadas para a extração do DNA total das amostras.

Tabela 1- Composição e níveis nutricionais calculados para as dietas experimentais de frangos de corte

| INGREDIENTES (%) | Nível Padrão de Energia | Nível Baixo de Energia |
|-------------------|-------------------------|------------------------|
| Milho | 58,46 | 52,38 |
| Farelo de soja 46 | 34,08 | 32,66 |
| Farelo de trigo | - | 7,54 |
| Óleo de soja | 3,08 | 3,08 |
| Calcáreo | 1,36 | 1,39 |
| Fosfato bicálcico | 1,72 | 1,63 |
| Sal comum | 0,46 | 0,46 |
| Premix vitamínico | 0,04 | 0,04 |
| Premix mineral | 0,08 | 0,08 |
| Lisina | 0,29 | 0,30 |
| DL-Metionina | 0,27 | 0,28 |
| Aditivos* | 0,05 | 0,05 |
| Colina 60 | 0,060 | 0,06 |
| Monensina 20% | 0,05 | 0,05 |
| EM (kcal/kg) | 3050 | 2950 |
| PB | 21 | 21 |
| FB | 3,25 | 3,75 |
| Ca | 0,95 | 0,95 |
| Pdisponível | 0,45 | 0,45 |
| Sódio | 0,20 | 0,20 |
| Lisina Total | 1,29 | 1,29 |
| Metionina Total | 0,57 | 0,57 |
| Triptofano Total | 0,27 | 0,27 |
| Colina (mg/kg) | 1500 | 1500 |

* Probiótico *Enterococcus faecium* - 10^{10} UFC/g (Cilactin®): 30 g/ton; Mistura de enzima xilanase (Ronozyme® WX): 100 g/ton e amilase + β -glucanase (Ronozyme® A): 400 g/ton.

Extração do DNA do probiótico e da microbiota ileal

Para a extração do micro-organismo probiótico, 3 g de probiótico foram adicionadas a um tubo de ensaio contendo 10 mL do meio caldo verde brilhante e cultivado em estufa a 37 °C por 24 h. A partir de então, 1,2 mL do cultivo foi transferido a um eppendorf, centrifugado a 4000 rpm por 2 minutos e coletado o precipitado. Este foi lavado com solução salina (0,9%) duas vezes para posterior extração do DNA. A extração do probiótico, assim como da microbiota ileal dos tratamentos foi realizada utilizando-se o kit QIAamp DNA Stool (Qiagen®, São Paulo, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. A integridade total do DNA foi checada por eletroforese em gel de agarose 0,8 % com brometo de etídeo (0,5 µL/mL). As amostras de DNA extraído foram armazenadas a -10 °C.

Amplificação do DNA

Para a amplificação dos fragmentos específicos da região V3 do gene 16S rRNA do micro-organismo probiótico e da microbiota ileal utilizou-se os oligonucleotídeos iniciadores: BA338fCG (5' CGC CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA GCA CGG GGG GAC TCC TAC GGG 3') e UN518r (5' ATT ACC GCG GCT GCT GG 3') (Pedroso et al., 2005). A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi conduzida em um volume de 25 µL contendo 0,2 mM de cada nucleotídeotri-fosfatase (dNTP), 2,5 mM de MgCl₂, 5 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 2,0 U de *Taq* DNA polimerase, tampão DNA polimerase 10X e 200 ng de DNA. Todas as reações foram feitas em duplicata. A PCR do DNA probiótico e da microbiota ileal foi feita seguindo o protocolo utilizado por Thompson et al. (2008): 1 ciclo de 94 °C por 3 min; 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 65 °C por 1 min (diminuindo 0,5 °C por ciclo), e 72 °C

por min;1 ciclo de 72 °C por 7 min. Uma alíquota dos produtos da PCR foi analisada em gel de agarose 0,8%.

Eletroforese em gel por gradiente Desnaturante – DGGE

A DGGE foi conduzida de acordo com as recomendações descritas por Muyzer et al. (1993). Para separar os fragmentos amplificados pela PCR, um gel de 8% poliacrilamida:bisacrilamida (37:5:1) foi preparado contendo um gradiente desnaturante variando de 15 a 55%, usando duas soluções: solução 100% de desnaturação contendo 40% formamida e 7 M de uréia e, solução 0% desnaturante, sem uréia ou formamida (Ovreas et al., 1997). A DGGE foi realizada utilizando-se o equipamento DCode (BioRad) em gel de 16 x 16 x 0,1 cm e tampão TAE 1X (a partir de TAE 50X:20 mM Tris-acetato, 10 Mm acetato de sódio, 0,5 mM EDTA - pH 8,0). As reações de PCR foram juntadas e um volume de 42 µL do produto de PCR de cada amostra foi adicionado individualmente a cada canaleta do gel. A eletroforese foi realizada a 100V e 60 °C por 16 h. Os géis foram corados em solução de TAE 1X:Brometo de etídio (0,5 µg/mL), analisados em luz ultravioleta com captura de imagem por meio digital (Kodak 1D image Analysis).

Análise de dados

A partir da análise dos amplicons detectados nas diferentes amostras montou-se uma matriz de presença ou ausência e os tratamentos foram agrupados hierarquicamente por dendrograma, com base no seu perfil eletroforético. Para isso, utilizou-se o programa NTsyspc software, version 2.0 for Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, encontra-se o gel de poliacrilamida com gradiente desnaturante submetido à eletroforese (DGGE). Em cada coluna do gel verifica-se o padrão de bandas (amplicons) relativo às microbiotas presentes na digesta ileal de frangos de corte. As bandas com maior intensidade representam populações mais abundantes e as de menor intensidade, as menos abundantes. Na figura 2 encontra-se o dendrograma, no qual pode-se observar os grupamentos formados pela similaridade genotípica das microbiotas de cada tratamento analisado. Percebe-se que os aditivos foram capazes de alterar a microbiota digesta ileal e que as dietas com baixa energia favorecem a existência de um número maior de amplicons, o qual pode estar associado a um maior número de espécies bacterianas no lúmen ileal dos animais. Estas dietas apresentavam farelo de trigo em sua composição, ingrediente com grande quantidade de polissacarídeos não amiláceos solúveis (PNAs). Normalmente, os PNAs diminuem o trânsito de passagem da digesta no trato intestinal a ponto dos micro-organismos serem capazes de competir por nutrientes com o animal, tendo dessa forma mais condições para sua reprodução e aumento da população (Apajalahti et al, 2002; Shakouri et al., 2009).

Nas dietas de baixa energia (BE), somente no tratamento com o probiótico, o amplicon 4 não foi detectado, possivelmente este aditivo inibiu o desenvolvimento desta microbiota, porém, apresentou em comum os amplicons 1, 2, 3, 5 e 6 em relação ao tratamento controle. Os perfis de bandas destes tratamentos estão relacionados entre si com um coeficiente de similaridade de aproximadamente 88%. A presença das enzimas na dieta favoreceram a

presença do amplicon 7, o reaparecimento do amplicon 4 e um aumento na intensidade do amplicon 6. Este tratamento apresentou um coeficiente de similaridade em relação às dietas controle e probiótico de aproximadamente 93% e 88%, respectivamente. Porém, quando em combinação com o probiótico, as enzimas favoreceram o aparecimento do amplicon 8, além da presença dos amplicons 3 e 5, sendo esses últimos também encontrados nas demais dietas. Contudo, a combinação das enzimas com o probiótico foi capaz de inibir os amplicons 1, 2, 4, 6 e 7, encontradas nas dietas com os demais aditivos, resultando numa similaridade bastante baixa (50%) com os demais tratamentos. As enzimas exógenas em dietas com alta concentração de PNAs aumentam a digestibilidade das dietas, diminuindo o fluxo de passagem e disponibilizando menos nutrientes para a reprodução e proliferação de micro-organismos no trato intestinal do animal. Além disso, alguns micro-organismos beneficiados diretamente com uma determinada dieta podem produzir substâncias que favoreçam ou inibam o aparecimento de outras espécies (Collier et al., 2003; Servin, 2004).

Nas dietas com energia padrão (EP), no tratamento controle, os amplicons 1, 3, 4, 8, 9 e 10 foram observados. No tratamento com probiótico houve o favorecimento da presença dos amplicons 11 e a inibição dos amplicons 1, 8, 9 e 10 encontrados no controle. Apenas os amplicons 3 e 4 foram comuns aos dois tratamentos, resultando numa similaridade de aproximadamente 45%. A maior alteração microbiana nas dietas com EP foi encontrada nos tratamentos com enzimas isoladas e em combinação com o probiótico. Esses tratamentos favoreceram apenas o predomínio dos amplicons 3 e 5, inibindo a presença dos outros amplicons encontrados nas demais

dietas. Este padrão de amplicons resultou numa similaridade , bastante baixa, de aproximadamente 37%, em relação aos demais tratamentos.

No probiótico comercial (*E. faecium*) foi encontrado o amplicon 12. A presença desta banda não foi constatada em quaisquer dietas avaliadas. Contudo, a microbiota foi alterada quando apresentou probiótico na dieta com energia padrão (sem farelo de trigo) e quando em associação com as enzimas nas dietas de baixa energia (com farelo de trigo). Acredita-se que o probiótico promova um efeito antagônico ou sinérgico em relação à microbiota dessas dietas, devido provavelmente às várias bacteriocinas que produz. Porém, não foi suficientemente competitivo para manter-se em quantidade expressiva a ponto de colonizar o lúmem ileal.

Foram encontradas nas dietas avaliadas 11 amplicons diferentes. Este baixo número pode ser explicado pela comigração de alguns fragmentos com pares de bases pouco distintos (Jackson et al., 2002) ou conteúdo C+G bastante semelhantes (Simpson et al., 1999). Zhu & Joerger (2003) identificaram 243 diferentes sequências de bactérias a partir do gene 16S rRNA presentes no conteúdo cecal de frangos de corte, através de técnicas de clonagem e sequenciamento, porém visualizaram através do DGGE apenas 20 amplicons.

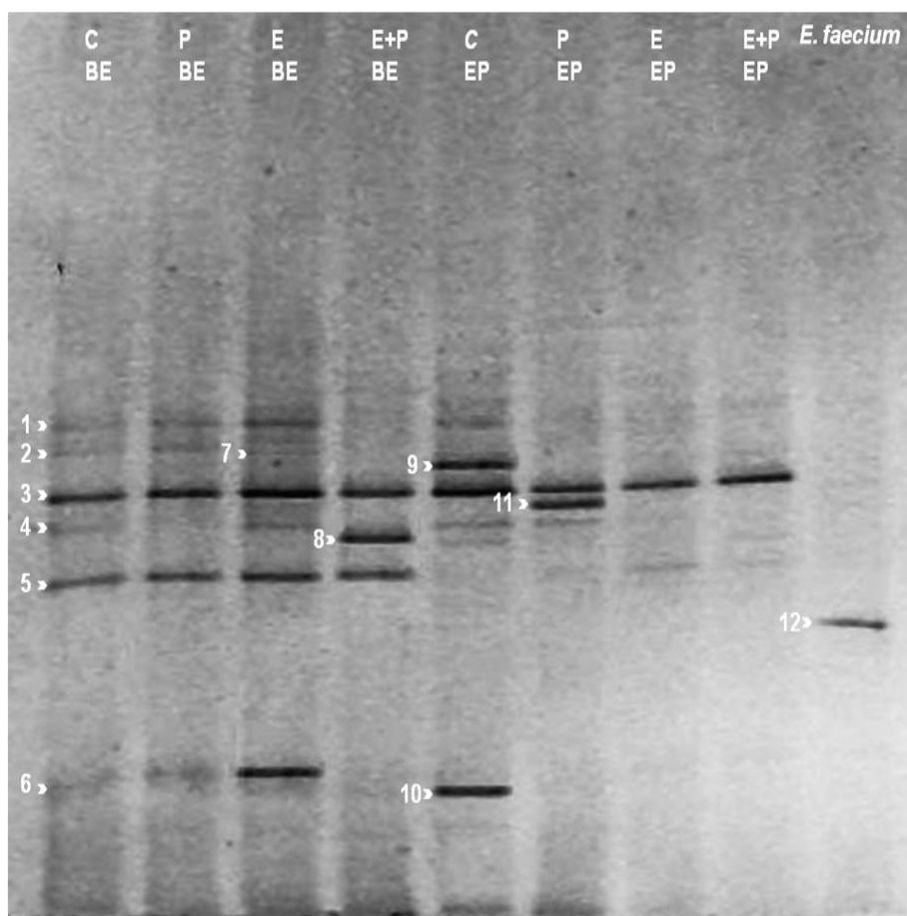


Figura 1. DGGE do produto de PCR da região V3 do gene 16S do rRNA de amostras da digesta ileal de frangos de corte, alimentados com dietas contendo dois níveis de energia (Energia padrão-EP e Baixa energia-BE,) e diferentes aditivos: Controle (C), Probiótico (P), Enzima (E), Enzima + probiótico (E+P).

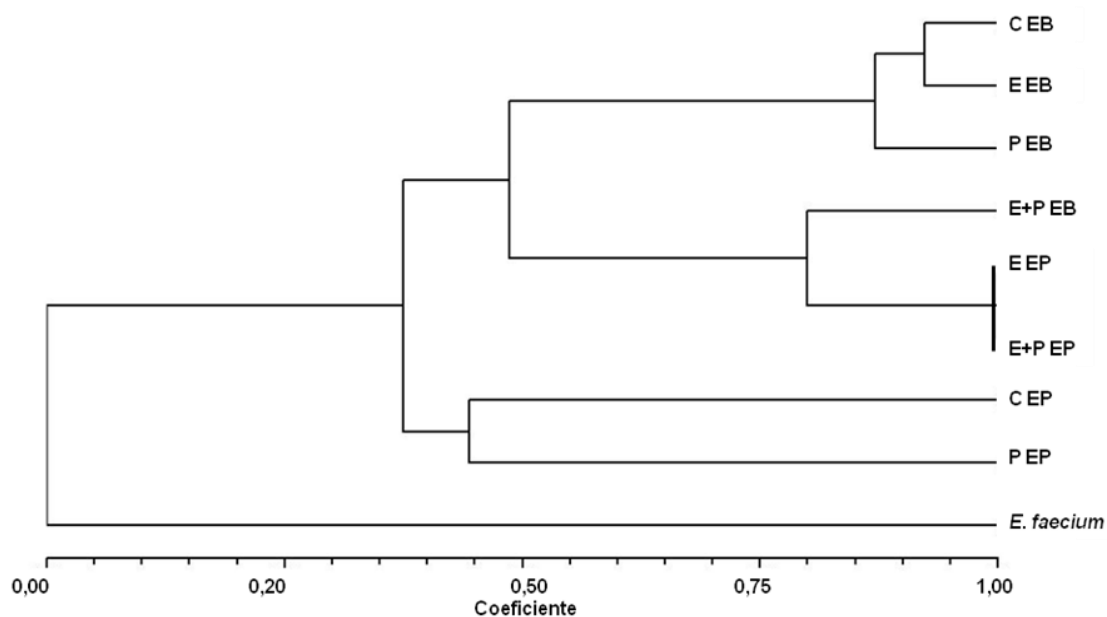


Figura 2. Dendrograma dos amplicons obtidos pelo DGGE do PCR da região V3 do gene 16S do rDNA de amostras da digesta ileal de frangos de corte alimentados com dietas contendo dois níveis de energia (Energia padrão-EP e Baixa energia-BE) e diferentes aditivos: Controle (C), Probiótico (P), Enzima (E), Enzima +probiótico (E+P).

CONCLUSÃO

Os aditivos introduzidos às dietas para frangos de corte são capazes de alterar a população microbiana do lúmen íleal.

O probiótico utilizado não foi capaz de colonizar o trato ileal de frangos de corte.

BIBLIOGRAFIA

APAJALAHTI J. H. A.; KETTUNEN, A.; BEDFORD, M. R.; HOLBEN, W. E.

Percent G+C profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. **Applied Environmental Microbiology**, Washigton, v.67, p.5656-5667, 2001.

APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A. Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. In: XVII CURSO DE ESPECIALIZACION

FEDNA, 2002, Barcelona. Disponível em: <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2002CAP_III.pdf>. Acesso em: 23/03/2007.

APAJALAHTI, J. Comparative Gut Microflora, Metabolic Challenges, and Potential opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v.14, p.444–453, 2005.

APAJALAHTI, J. H.; KETTUNEN, H.; KETTUNEN, A.; HOLBEN, W. E.; NURMINEN, P. H.; RAUTONEN, N.; MUTANEN, M. Culture-independent microbial community analysis reveals that inulin in the diet primarily affects previously unknown bacteria in the mouse cecum. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.68, p.4986-4995, 2002.

COLLIER, C. T.; VAN DER KLIS, J. D.; DEPLANCKE, B.; ANDERSON, D. B.; GASKINS, H. R. Effects of tylosin on bacterial mucolysis, *Clostridium perfringens* colonization, and intestinal barrier function in a chick model of necrotic enteritis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.47, p.3311–3317, 2003.

GUO, F. C.; WILLIAMS, B. A.; KWAKKEL, R. P.; LI, H. S.; LI, X. P.; LUO, J. Y.; LI, W. K.; VERSTEGEN, M. W. A. Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.175-182, 2004.

HUME, M. E.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S.; OVIEDO-RONDÓN, E. O. Effects of feed additives and mixed *Eimeria* species infection on intestinal microbial ecology of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.2106-2111, 2006.

HUME, M. E.; KUBENA, L. F.; EDRINGTON, T. S.; DONSKEY, C. J.; MOORE,

- R. W.; RICKE, S. C.; NISBET, D. J. Poultry digestive microflora biodiversity as indicated by denaturing gradient gel electrophoresis. **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.7, p.1100-1107, 2003.
- JACKSON, M. D.; GOULD, S. J.; ZABRISKIE, T. M. Studies on the formation and incorporation of streptolidine in the biosynthesis of the peptidyl nucleoside antibiotic streptothricin F. **The Journal of Organic Chemistry**, Utah, v.67, p.2934–2941, 2002.
- MUYZER, G.; WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.59, p.695–700, 1993.
- OVIEDO-RONDÓN, E. O.; HUME, M. E.; HERNÁNDEZ, C.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S. Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species, and supplemented with essential oil blends. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.854-860, 2006.
- OVREAS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F. L.; TORSVIK, V. Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelevannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.63, p.3367–3373, 1997.
- PARKER, J.; OVIEDO-RONDÓN, E. O.; CLEMENTE HERNÁNDEZ, S.; OSBORNE, J.; REMUS, J. C.; KETTUNEN, H.; MAKIVUOKKO, H.; PIERSON, E. M. Enzymes as feed additive to aid in responses against *Eimeria* spp in coccidia vaccinated broilers fed corn-soybean meal diets with different protein levels. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.643-653,

2007.

PEDROSO, A. A.; MENTEN, J. F. M.; LAMBAIS, M. R. The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v.15, p.232–237, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2ª edição-Viçosa: UFV. Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SHAKOURI, M. D.; IJI, P. A.; MIKKELSEN, L. L.; COWIESON, A. J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.93, 647-658, 2009.

SERVIN, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, London, v.28, p.405–440, 2004.

SIMPSON, J. M.; MCCRACKEN, V. J.; GASKIN, H. R.; MACKIE, R. I. Application of denaturant gradient gel electrophoresis for the analysis of the porcine gastrointestinal microbiota. **Journal of Microbiological Methods**, Washington, v.36, p.167–179, 1999.

THOMPSON, K.; BURKHOLDER, K.; PATTERSON, J.; APPLGATE, J. T. Microbial ecology shifts in the ileum of broilers during feed withdrawal and dietary manipulations. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.1624-1632, 2008.

ZHU, X. Y.; JOERGER, R. D. Composition of microbiota in content and mucus

from caecae of broiler chickens as measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific, 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.1242–1249, 2003.

CAPÍTULO VI

1.CONCLUSÃO GERAL

Em dietas com milho e farelo de soja, o probiótico e óleos essenciais não promoveram benefícios de desempenho, de integridade da mucosa e de morfometria intestinal aos animais que sofreram estresse infeccioso por *Eimeria máxima* e *E. acervulina*.

Em dietas com diferentes níveis de energia, o probiótico também não se mostrou eficiente aos animais sob quaisquer parâmetros analisados. Este também não foi detectado por DGGE no trato ileal dos animais que o consumiram na dieta, sendo menos competitivo que os demais microorganismos presentes no conteúdo ileal. Contudo, tanto nas dietas contendo probiótico, quanto naquelas contendo enzimas foram verificadas alterações na microbiota do conteúdo ileal dos animais. As enzimas mostraram eficiência nas dietas de baixa energia (que continham farelo de trigo em sua composição). A adição de enzimas diminuiu ($P<0,05$) os parâmetros de morfometria e pH do trato gastrointestinal, melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade da dieta e diminuiu ($P<0,05$) a produção de dejetos no ambiente de criação. Contudo, essa eficiência só foi verificada no período inicial das aves (14 dias).

2.CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição da mistura de óleos essenciais utilizado no experimento do cap. II, não foi divulgada pelo fabricante, sabendo-se apenas que foi extraído de plantas de tomilho e cravos-da-índia, cujos principais princípios ativos são timol e eugenol, respectivamente. Na literatura encontra-

se efeito destes dois princípios ativos, principalmente contra *Clostridium perfringens* (Mitsch et al., 2004), um patógeno oportunista causador de infecções intestinais em frangos de corte e, contra a coccidiose causada por *Eimeria tenella* (Giannenas et al., 2003). Contudo, no trabalho de Mitsch et al. (2004), o timol e o eugenol estavam em combinação na dieta com outros princípios ativos, como a curcumina, a piperina e o carvacrol e no trabalho de Giannenas et al. (2003) o timol estava em combinação com o carvacrol.

Como exposto na revisão bibliográfica do cap. I, existe o efeito sinérgico ou antagônico entre os componentes principais (em maior nível) e os de menor representatividade presentes nos óleos essenciais, que pode potencializar ou reduzir a ação antimicrobiana. O sinergismo entre o carvacrol e seu precursor *p*-cineme sobre células vegetativas de *Bacillus cereus* foi demonstrado por Ultee et al. (2002). O *p*-cineme tem um efeito antimicrobiano, capaz de aumentar a permeabilidade das membranas das células bacterianas, favorecendo o transporte do carvacrol para o interior das células.

A mistura de cinamaldeído e eugenol (250 e 500 µg/mL, respectivamente), inibiram o crescimento de *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Enterobacter* sp. por mais de 30 dias, enquanto esses compostos aplicados individualmente não demonstraram esse mesmo efeito (Moleyar & Narasimham, 1992). Assim, o efeito do timol e do eugenol contra coccídios pode ser evidenciado ou potencializado pela presença de outros princípios ativos, como o carvacrol ou não se manifestar quando utilizados sozinhos nas dietas.

Neste trabalho verificou-se que o micro-organismo probiótico, mesmo detectado por DGGE no probiótico enviado pelo fabricante, não foi

capaz de colonizar o trato ileal das aves em quaisquer dietas analisadas. Os probióticos a base de *Enterococcus faecium* têm ação comprovada em trabalhos realizados com frangos de corte (Henrique et al., 1998; Mountzouris et al., 2007; Shin, et al.; 2008), porém sua eficácia também é contestada (Gonzales, 1998; Loddi et al., 2000). Como mencionado na revisão do cap. I, a ação efetiva dos probióticos está condicionada às interações existentes no TGI do animal (Remhan et al., 2007) e também a multifatores, tais como, a viabilidade da cepa microbiana, o nível e a forma de administração, a frequência de aplicação, o tipo de dieta, a idade da ave, condições de higiene do sistema de produção e fatores estressantes (Mountzouris et al., 2010). Analisando-se todas essas variáveis descartou-se o fator nível de administração, pois a dose utilizada seguiu as recomendações do fabricante e está de acordo com o recomendado na literatura (Patterson & Burkholder, 2003; Apata, 2008; Mountzouris et al., 2010). Quanto à frequência de administração, esta dificilmente impediria a eficiência do probiótico, uma vez que este foi administrado a partir do primeiro dia de idade das aves até o abate e a coleta para o DGGE foi feita aos 19 dias de idade, quando a população microbiana já está estabilizada. A ineficácia do probiótico em relação à dieta controle se mostrou tanto nas dietas com milho/farelo de soja, quanto nas dietas com milho/farelos de soja e trigo; tanto em condições de estresse (experimento do cap. I) como na ausência deste (experimento do cap. III, IV e V), restando poucos fatores a serem analisadas. Ficaram às interações existentes no TGI do animal (Remhan et al., 2007) e a viabilidade do *E. faecium* contido no probiótico. Em relação ao primeiro fator, provavelmente, o micro-organismo probiótico não teve poder de competição, em relação aos

demais micro-organismos, frente à produção de enterotoxinas das bactérias intestinais e as secreções produzidas na mucosa do TGI. Em relação à segunda variável, é possível que o probiótico não expressasse a tolerância necessária às enzimas salivares, ácidos gástricos, sais biliares e ácidos orgânicos voláteis do TGI, dificultando sua rápida proliferação e então, adequada colonização após sua ingestão, sendo incapaz de inibir patógenos e ter condições de resistência ao peristaltismo.

As enzimas se mostraram eficientes apenas nas dietas com baixa energia, as quais se diferenciaram das dietas com nível de energia padrão pela inclusão do farelo de trigo na composição. Porém, essa eficiência só foi constatada na fase inicial de desenvolvimento das aves (14 dias). Alguns autores encontraram eficiência das enzimas nas fases inicial e de crescimento, contudo, essa eficiência foi mais expressiva na fase inicial (Steenfeldt et al., 1998a; Zhou et al., 2009). Segundo Nitsan et al. (1991) e Noy & Sklan (1997), as aves jovens apresentam limitações das atividades das enzimas digestivas e das funções do trato gastrointestinal, contudo a medida que crescem aumentam a produção das enzimas endógenas, aumentando também a absorção de aminoácidos e energia pelo desenvolvimento do trato gastrintestinal (Noy & Sklan, 1995). Olukosi et al. (2007) observaram uma maior retenção da matéria seca, energia e nitrogênio com o aumento da idade. Eles concluíram que os frangos jovens são mais beneficiados com a ação das enzimas exógenas, já que em aves mais velhas a retenção de nutrientes diminui e a eficiência da enzima fica menos evidente. Contudo, a resposta da enzima também pode ser explicada pela composição da dieta. O benefício obtido com as enzimas nas dietas de baixa energia pode estar atrelado à

presença do farelo de trigo na composição destas dietas. Em geral o farelo de trigo apresenta uma grande quantidade de PNAs em sua composição. Quando introduzido nas dietas, geralmente aumenta a viscosidade da digesta, baixando a digestibilidade da dieta e o desempenho dos animais. Já no milho a presença de PNAs é bem menor e os efeitos adversos são menos intensos, o que o torna mais digestível em relação ao farelo de trigo. Essa característica favorece a eficiência das enzimas exógenas para dietas com farelo de trigo, pois o percentual de digestibilidade do milho já é alto, assim a margem de aumento conseguida com a introdução de enzimas se torna menor (Amerah et al., 2008) em relação a digestibilidade do farelo de trigo.

3.BIBLIOGRAFIA

- ACOMOVIC, T.; McCLEARY, B. V. Optimising the response. **Feed Mix**, Cambridge, v.4, p.4, p.14-19, 1996.
- AKIBA, J.; NAKAMURA, M.; NAGATA, H.; KAUNITZ, J. D.; ISHII, H. Acid-sensing pathways in rat gastrointestinal mucosa. **Journal of gastroenterology**, Tokyo, v.37, p.133-138, 2002.
- ALCICEK, A.; BOZKUT, M.; CABUK, M. The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in turkey and broilers. **South African Journal of Animal Science**, Johannesburgo, v.33, p.89-94, 2004.
- ALCICEK, A.; BOZKUT, M.; CABUK, M. The effect of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. **South African Animal Science**, Johannesburgo, v.34, p.217-222, 2003.
- AMERAH, A. M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R. G; THOMAS, D. G. Influence of feed particle size on the performance, energy utilization, digestive tract development, and digesta parameters of broiler starters fed wheat- and corn-based diets. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.2320–2328, 2008.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; SILVA, E. N.; CURI, P. R. Ácidos orgânicos e microbiota cecal anaeróbia no controle da infecção experimental de frangos

por *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.49, p.661–672, 1997.

APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A. Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. In: XVIII CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA. Barcelona, Nov. 2002. p.39-51

APAJALAHTI, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.14, p.444–453, 2005.

APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHA, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.60, p.223–232, 2004.

APATA, D. F. Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Amsterdam, v.88, p.1253–1258, 2008.

ARBUCKLE, J. B. R. The attachment of *Clostridium welchii* (*Clostridium perfringens*) type C to intestinal villi of pigs. **Journal of Pathology**, Oxford, v.6, p.65-72, 1972.

AUDISIO, M. C.; OLIVER, G.; APELLA, M. C. Effect of different complex carbon sources on growth and bacteriocin synthesis of *Enterococcus faecium*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.63, p.235–241, 2001.

AWAD, W. A.; GHAREEB, K.; ABDEL-RAHEEM, S.; BOHM, J. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.88, p.49–55, 2009.

BABA, E.; FULLER, A. L.; GILBERT, J. M.; THAYER, S. G.; McDOUGALD, L. R. Effect of *Eimeria brunetti* infection and dietary zinc on experimental induction of necrotic enteritis in broiler chickens. **Avian Disease**, Jacksonville, v.36, p.59-62, 1992.

BAR-SHIRA, E.; SKLAN, D.; FRIEDMAN, A. Establishment of immune competence in the avian GALT during the immediate post-hatch period. **Developmental & Comparative Immunology**, Aberdeen, v.27, p.147–157, 2003.

BATAL, A. B.; PARSONS, C. M. Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. **Poultry Science**, Champaign, v.81, p.400-407, 2002.

BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. **Common fragrance and flavor material: Preparation, properties and uses**, fourth ed. Wiley-VCH,

Weinheim. 2001.

- BEDFORD, M. R.; MORGAN, A. J. The use enzymes in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 52, p. 61-68, 1996.
- BJERRUM, L.; PEDERSEN, K.; ENGBERG, R. M. The influence of whole wheat feeding on salmonella infection and gut composition in broiler. **Avian Disease**, Jacksonville, v.49, p.9-15, 2005.
- BORGES, F. M. Utilização de enzimas em dietas avícolas. **Cadernos Tecnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n. 20, p. 5-30, jun. 1997.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.94, p.223-253, 2004.
- BUTOLO, J. E. Utilização de ingredientes líquidos na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Anais...** Campinas: CBNA, p. 295-334, 2001.
- CHAO, S. C.; TONG, D. G.; OBERG, C. J. Screening for inhibitory activity of essential oils selected bacteria, fungi and viruses. **Journal Essential Oil Research**, Oxford, v.12, p.639-649, 2000.
- CHESSON, A. Non starch polysaccharide degrading enzymes in poultry diets: influence of ingredients on the selection of activities. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.57, n.3, p.251-263, 2001.
- CHOCT, M.; HUGHES, R. J.; BEDFORD, M. R. Effects of a xylanase on individual bird variation, starch digestion throughout the intestine, and ileal and cecal volatile fatty acid production in chickens fed wheat. **British Poultry Science**, Cambridge, v.40, p.419-422, 1999.
- CHRISTAKI, E.; FLOROU-PANERI, P.; GIANNENAS, I.; PAPAZHARIADOU, M.; BOTSOGLOU, N.; SPAIS, A. B. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*, **Animal Research**, Les Ulis, v.53, p.137-144, 2004.
- ÇİFTÇİ, I.; YENİCE, E.; ELEROĞLU, H. Use of triticale alone and in combination with wheat or maize: effects of diet type and enzyme supplementation on hen performance, egg quality, organ weights, intestinal viscosity and digestive system characteristics. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.105, p.149-161, 2003.
- Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. Microingredientes: Microingredientes na alimentação animal. Campinas: CBNA, 2009. p.1-46.
- COOK, R. H.; BIRD, F. H. Duodenal villus area and epithelial cellular migration in convention and germ-free chicks. **Poultry Science**, Champaing, v.52,

p.2276-2280, 1973.

- COSENTINO, S.; TUBEROSO, C. I. G.; PISANO, B.; SATTA, M.; MASCIA, V.; ARZEDI, E.; PALMAS, F. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. **Letters in Applied Microbiology**, London, v.29, p.130-135, 1999.
- COWAN, M. M. Plants products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.14, n.4, p.564-582, 1999.
- CROSS, D. E.; HILLMAN, K.; McDEVITT, R. M.; ACAMOVIC, T. Effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil as an in vivo dietary supplement on chicken intestinal microflora. In: **Proceeding** of the 33 International Symposium on Essential Oils, Lisbon, Portugal. 2002.
- CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, London, v.34, n.4, p.245-253, 2002.
- DALE, N. Probióticos para aves. **Avicultura profesional**, Geórgia, v.10, p.88-89, 1992.
- DALLOUL, R. A.; LILLEHOJ, H. S.; SHELLEM, T. A.; DOERR, J. A. Enhanced mucosal immunity against *Eimeria acervulina* in broilers fed a *Lactobacillus*-based probiotic. **Poultry Science**, Champaing, v.82, n.1, p.62-66, 2003.
- DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR, J. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, Philadelphia, v.73, n.2(S), p.421-429, 2001.
- DELAQUIS, P. J.; ATANICH, K.; GIRARD, B.; MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, London, v.74, p.101-109, 2002.
- DEMIR, E.; SARICA, S.; OSCAN, M. A.; SUICMEZ, M. The use of natural feed additives as alternatives for antibiotics growth promoter in broiler diets. **British Poultry Science**, Cambridge, v.44(S), p.44-45, 2003.
- DOLEYRES, Y; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, Wisconsin, v.15, p.973-988, 2005.
- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, London, v.88, p.308-316, 2000.

- DOS SANTOS, I. I.; POLI, A.; PADILHA, M. T. S. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v.26, n.1,p.29-33, 2004.
- ECOLOGY HEALTH CENTER. Probiotics Acidophilus with *E. faecium*: Natural Factors. Disponível em <<http://www.crohns.net>>. Acesso em: 01/07/2010.
- ERF, G. F. Cell-mediated immunity in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.580–590, 2004.
- EVANS, J. W.; PLUKETT, M. S.; BANFIELD, M. J. Effect of an essential oil blend on coccidiosis in broiler chickens, 2001. **Poultry Science**, Champaign, v.80, p.258, 2001.
- FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G.; LADEIRO, F.; VENANCIO, F.; TAVARES, R.; BRITO, J. C.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. **Letters in Applied Microbiology**, London, v.36, p.35-40, 2002.
- FERNANDES, P. C. C. Lactobacillus sp. na alimentação de bezerros pré-ruminantes. In: CADERNO TÉCNICO DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, Belo Horizonte: **Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, p. 5, 1995.
- FIREMAN, F. A. T.; FIREMAN, A. K. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.1, p.173-178, 1998.
- FOX, S. M. Probiotics: Intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, Chicago, v.83, n.8, p.806-829, 1988.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. A review. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.
- GAO, F.; JIANG, Y.; ZHOU, G. H.; HAN, Z. K. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.142, p.173–184, 2008.
- GARCIA, M.; LAZARO, R.; LATORRE, M. A.; GRACIA, M. I.; MATEOS, G. G. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.940–948, 2008.
- GARCIA, O. Enzimas: recentes contribuições para a sua aplicação em nutrição animal. In: ENCONTRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 3., 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: 1997. p.1-9.

- GARCÍA V.; CATALÁ-GREGORI, P.; HERNÁNDEZ, F.; MEGÍAS, M. D.; MADRID, J. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology and meat yield of broilers. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.16, p.555-562, 2007.
- GIANNENAS, I. A.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A. B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.57, p.99-106, 2003.
- GILL, A. O.; DELAQUIS, P.; RUSSO, P.; HOLLEY, R. A. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **International Journal of Food microbiology**, London, v.73, p.83-92, 2002.
- GONZALES, E. Efeito da adição de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. *In: XXXV REUNIAO ANUAL DA SBZ*, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998, p. 189-191.
- GRAHAM, H.; INBORR, J. Stability of enzymes during processing. **Feed Mix**, Cambridge, v.1, p.18, 1993.
- GRIGGS, J. P.; JACOB, J. P. alternatives to antibiotics for organic poultry production. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.14, p.750–756, 2005.
- GUSILS, C.; CHAIA, A. P.; GONZÁLEZ, S.; OLIVER, G. *Lactobacillus* isolated from chicken intestines: potencial use as probiotics. **Journal Food Protection**, Des Moines, v.62, p.252-256, 1999.
- HENRIQUE, A. P.; FARIA, D.; FRANZOLIN, R. Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. *In:35 REUNIÃO ANUAL DA SBZ*, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998, p.297-299.
- HERNANDÉZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V.; ORENGO, J.; MEGIAS, M. D. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.169-174, 2004.
- HIGGINS, S. E.; HIGGINS, J. P.; WOLFENDEN, A. D.; HENDERSON, S. N.; TORRES-RODRIGUEZ, A.; TELLEZ, G.; HARGIS, B. Evaluation of a *Lactobacillus*-based probiotic culture for the reduction of *Salmonella* enteritidis in neonatal broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.27–31, 2008.
- HIRAOKA, T.; FUKUWATARI, T.; IMAIZUMI, M.; FUSHIKI, T. Effects of oral stimulation with fats on the cephalic phase of pancreatic enzyme secretion

- in esophagostomized rats. **Physiology Behavior**, Amsterdam, v.79, p.713-717, 2003.
- HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre and probiotics. **Food Research International**, Alberta, v.35, n.2-3, p.109-116, 2002.
- HUANG, M. K.; CHOI, Y. J.; HOUDE, R.; LEE, J. W.; LEE, B.; ZHAO, X. Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.788-795, 2004.
- HÜBNER, K.; VAHJEN, W.; SIMON, O. Bacterial responses to different dietary cereal type and xylanase supplementation in the intestinal of broiler chickens, ducks and geese. **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.56, p.167-187, 2002.
- HUME, M. E.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S.; OVIEDO-RODÓN, E. O. Effect of feed additives and mixed *Eimeria* species infection on intestinal microbial ecology of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.2106-2111, 2006.
- IBRIR, F.; GREATHEAD, H. M. R.; FORBES, J. M. The effect of thymol/carvacrol treatments on the performance of broilers chickens infected with *Eimeria acervulina*. **Proceedings of Nutrition Society**, London, 2002. 61p.
- INTERNATION UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY - **IUPAC**. Recommendations on organic & biochemical nomenclature, symbols & terminology, etc. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac>>. Acesso em: 11/07/ 2005.
- JAMROZ, D.; JAKOBSEN, K.; BACH KNUDSEN, K. E.; WILCZKIEWICZ, A.; ORDA, J. Digestibility and energy value of the non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese, fed diets containing high amounts of barley. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.131, p.657-668, 2002.
- JAMROZ, D.; ORDA, J.; KAMEL, C. I; WILCZKIEWICZ, A.; WERTELECKI, T.; SKORUPINSKA, J. The influence of phytogetic extracts on performance, nutrient digestibility, carcass characteristics, and gut microbial status in broilers chickens. **Journal of Animal Feed Science**, Champaign, v.12, p.583-596, 2003.
- JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; HOUSZKA, M.; KAMEL, C. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chickens. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.90, p.255-268, 2006.
- JANG, I. S.; KO, H. Y.; KANG, S. Y.; LEE, C. Y. Effect of commercial essential

- oils on growth performance, digestive enzymes activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Food Science and Technology**, Amsterdam, v.134, p.304-315, 2007.
- JENSEN, L. S. Historical perspective of enzymes from an earlier researcher. **Poultry International**, Lansdale, p.2-8, 1998.
- JERKOVIC, I.; MASTELIC, J.; MILOS, M. The impact of both season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. Hirtum grown wild in Croatia. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v.36, 649-654, 2001.
- JEURISSEN, S. H.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J. D.; MROZ, Z.; REBEL, J. M.; TER HUURNE, A. A. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, Norwich, v.3, p.1-14, 2002.
- JIN, L. Z.; HO, T. W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.53, p.351-368, 1997.
- JONES, C. D.; THOMAS, C. N. The maintenance of strain specificity and bile tolerance when producing stable bacteria. In: LYONS, T. P. (ed.) **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publication, p.157-166, 1987
- JONG, E. U.; LEBOUTE, E. M.; CIOCCA, M. L.; PENZ JÚNIOR, A. M. Uso de avoparcina e virginiamicina como promotores de crescimento em rações de frango de corte. 1. Efeito sobre o desempenho produtivo e utilização da energia da ração. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.14, p.529-535, 1985.
- JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; JENSE, B. B.; ENGBERG, R. M. Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.132, p.79-93, 2007.
- JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE, F. K. Probióticos e qualidade. **Aveworld**, Campinas, v.35, p.44-48, 2008.
- JUNQUEIRA, O. M.; BARBOSA, L. C. G. S.; PEREIRA, A. A.; ARAÚJO, L.F.; GARCIA NETO, M.; PINTO, M.F. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.12, p.2394-2400, 2009.
- KABIR, S. M. L.; RAHMAN, M. B.; RAHMAN, M. M.; AHMED, S. U. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.3, n.5, p.361-364, 2004.

- KAMEL, C. Extractos de plantas naturales: Remédios clássicos que aportam soluciones modernas a la producción animal. **In: III Conferencia-Salón de Fabricantes de Piensos del Mediterráneo**, Reus (Tarragona), 2000.
- KAMEL, C. Use of plants extracts in European pigs diets. **Feed Compounder**, London, v.19, p.23-27, 1999.
- KATSCHINSKI, M. Nutritional implications of cephalic phase gastrointestinal responses. **Appetite**, Paris, v.34, p.189-196, 2000.
- KAUNITZ, J. D.; AKIBA, Y. Integrated duodenal protective response to acid. **Life Science**, Davis, v.69. p:3073-3081, 2001.
- KLANHEAMMER, T. R. Microbiological considerations in selection and preparation Lactobacillus strain for use as dietary adjuncts. **Journal Dairy Science**, Wisconsin, v.65, n.7, p.1339-1349, 1982.
- KOENEN, M. E.; KRAMER, J.; VAN DER HULST, R.; HERES, L.; JEURISSEN, S. H.; BOERSMA, W. J. Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v.45, p.355–366, 2004.
- KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiology Aliments Nutrition**, Oxford, v.4, p.121-135, 1986.
- LANGHOUT, D. J.; SCHUTTE, J. B.; VAN LEEUWEN, P.; WIEBENGA, J.; TAMMINGA, S. Effect of high and low methyled citrus pectin on activity of the ileal and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. **British Poultry Science**, Cambridge, v.40, p.340-347, 1999.
- LARRONDO, J. V.; AGUT, M.; CALVO-TORRA, M. A. Antimicrobial activity of essences from labiates. **Microbios**, Califórnia, v.82, p.171-172, 1995.
- LAUGERETTE, F.; PASSILLY-DEGRACE, P.; PATRIS, B.; NIOT, I.; FEBRAIO, M.; MONTMAYEUR, J. P.; BESNARD, P. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. **Journal of Clinical Investigation**, Michigan, v.115, p.3177-3184, 2005.
- LEE, K. W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H. J.; FREHNER, M.; LOSA, R.; BEYNEN, A. C. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v.44, p.450-457, 2003.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Carbohidratos In: LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. (Eds.) **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, p.222-241, 1995.
- LEWIS, M. R.; ROSE, S. P.; MCKENZIE, A. M.; TUCKER, A. L. Effects dietary

- inclusion of plant extracts on the growth performance of male broiler chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v.44(S), p.42-43, 2003.
- LILLY, D. M.; STILLWEL, R. H. Probiotics grow promoting factors produced by microorganisms. **Science**, Washington, v.147, p.747-748, 1965.
- LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A.; ROÇA, R. O. Uso de Probiótico e Antibiótico sobre o Desempenho, o Rendimento e a Qualidade de Carcaça de Frangos de Corte1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- MACARI, M. Fisiologia do Sistema Digestivo das Aves (I). **Aves e Ovos**, v.15, n.8/9, 2-20 p, 1999. 2-20 p. 1999.
- MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. **Journal Food Protection**, Des Moines, v.62, p.1017-1023, 1999.
- MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiacea* and *Compositae* with common food additives. **International Journal Food Science & Technology**, Amsterdam, v.67, p.187-195, 2001.
- MASON, J. R.; BEAN, N. J.; SHAN, P. S.; CLARK, L. Taxon-specific differences in responsiveness to capsaicin and several analogues: correlates between chemical structure and behavioral aversiveness. **Journal Chemical Ecology**, London, v.17, p.2539-2551, 1991.
- MATHLOUTHI, N.; MALLETS, S.; SAULNIER, L.; QUEMENER, B.; LARBIER, M. Effects of xylanase and β -glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of diet. **Animal Research**, Les Ulis, v.51, n.5, p.395-406, 2002.
- MENARD, S.; CANDALH, C.; BAMBOU, J. C.; TERPEND, K.; CERF-BENSUSSAN, N.; HEYMAN, M. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport. **Gut**, v.53, p.821-828, 2004.
- METCHNIKOFF, E. **Prolong of life**. New York, Putnam, 1907.
- LILLY, D. M.; STILLWEL, R.H. Probiotics grow promoting factors produced by microorganisms. **Science**, Washington, v.147, p.747-748, 1965.
- MITSCH, P.; ZITTERL-EGLESEER, K.; KÖHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestine of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.669-675, 2004.

- MOLEYAR, V.; NARASIMHAM, P. Antibacterial activity of essential oil components. **International Journal of Food microbiology**, Washington, 1992. 16:337-342.
- MOREY, A.; CANNILAC, N. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. **Food Control**, Boston, v.13, p.:289-292, 2002.
- MOUNTZOURIS, K. C.; BALASKAS, C.; XANTHAKOS, I.; TZIVINIKOU, A.; FEGEROS, K. Effects of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis. **British Poultry Science**, Cambridge, v.50, p.467–478, 2009.
- MOUNTZOURIS, K. C.; TSIRTSIKOS, P.; KALAMARA, E.; NITSCH, S.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Evaluation of the Efficacy of a Probiotic Containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* Strains in Promoting Broiler Performance and Modulating Cecal Microflora Composition and Metabolic Activities. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.309–317, 2007.
- MOUNTZOURIS, K. C.; TSITRSIKOS, P.; PALAMIDI, I.; ARVANITI, A.; MOHNL, M.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. **Poultry Science**, Champaign, v.89, p.58-67, 2010.
- MOURÃO, J. L. T. A. M.; PINHEIRO, V. M. C. Efeitos do centeio, do trigo e da suplementação com xilanases sobre o valor nutricional de dietas e o desempenho de frangos corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.12, p.2417-2424, 2009.
- NITSAN, Z., G.; BEN-AVRAHAM, Z.; ZOREF; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, Cambridge, v.32, p.515–523, 1991.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.74, p.366–373, 1995.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v.6, p.344–354, 1997.
- NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **Nature**, London, v.241, p.210–211, 1973.
- OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, J. S.; CHAGAS-JÚNIOR, A. F. Produção de amilase por rizóbios, usando farinha de pupunha como substrato. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p.61-66, 2007.

- OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.77-86, 2007.
- ORNDORFF, B. W.; NOVAK, C. L.; PIERSON, F. W.; CALDWELL, D. J.; McELROY, A. P. Comparison of prophylactic or therapeutic dietary administration of capsaicin for reduction of *Salmonella* in broiler chickens. **Avian Disease**, Jacksonville, v.49, p.527-533, 2005.
- OVIEDO-RONDÓN, E. O.; HUME, M. E.; HERNÁNDEZ, C.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S. Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species, and supplemented with essential oil blends. **Poultry Science**, Champaign, v.85, n.5, p.854-860, 2006.
- PASTER, N.; MENASHEROV, M.; RAVID, U.; JUVEN, B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. **Journal Food Protect**, Des Moines, v.58, p.81-85, 1995.
- PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.627-631, 2003.
- PELICANO, E. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. Morfometria e Ultra-Estrutura da Mucosa Intestinal de Frangos de Corte alimentados com Dietas contendo diferentes Probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.98, n.547, p.125-134, 2003.
- PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? **Indian Journal Medical Research**, New Delhi, v.119, p.167-179, 2004.
- RAVINDRAN, V.; WU, Y. B.; THOMAS, D. G.; MOREL, P. C. H. Influence of whole wheat feeding on the development of gastrointestinal tract and performance of broiler chickens. **Australian Journal Agriculture Research**, Melbourne, v.57, p.21-26, 2006.
- REBOLÉ, A.; ORTIZ, L. T.; RODRIGUEZ, M. L.; ALZUETA, C.; TREVINO, J.; VELASCO, S. Effects of inulin and enzyme complex, individually or in combination, on growth performance, intestinal microflora, cecal fermentation characteristics, and jejunal istomorphology in broiler chickens fed a wheat- and barley-based diet. **Poultry Science**, Champaign, v.89, p.276-286, 2010.
- REHMAN, H. U.; VAHJEN, W.; AWAD, W. A.; ZENTEK, J. Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens., **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.61, p.319-335, 2007.

- RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, Champaign, v.8, p.632–699, 2003.
- ROTA, C.; CARRAMINANA, J. J.; BURILLO, J.; HERRERA, A. In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. **Journal Food Protect**, Des Moines, v.67, p.1252-1256, 2004.
- RUSSO, M.; GALLETTI, G. C.; BOCCHINI, P.; CARNACINI, A. Essential oil chemical composition of wild population of Italian oregano spice (*Oreganum vulgare* ssp. *Hirtum* (link) letsvaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis: 1. Inflorescences. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, p.3741-3746, 1998.
- SCHEUERMANN, G. N.; CUNHA JUNIOR, A. Perspectivas para a utilização de produtos de origem vegetal como aditivos alternativos na alimentação de aves. Disponível:
<http://www.engormi.com/perspectivas_a_utilização_produtos_p_artigos_16_AVG.htm> Acesso em: 13/10/2006.
- SCHNEITZ, C. Automated droplet application of a competitive exclusion preparation. **Poultry Science**, Champaign, v.71, p.2125–2128, 1992.
- SENATORE, F. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.44, p.1327-1332, 1996.
- SERVIN, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, Manchester, v.28, p.405–440, 2004.
- SHAKOURI, M. D.; IJI, P. A.; MIKKELSEN, L. L.; COWIESON, A. J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.93, 647-658, 2009.
- SHIN, M. S.; HAN, S. K.; JI, A. R.; KIM, K. S.; LEE, W. K. Isolation and characterization of bacteriocin-producing bacteria from the gastrointestinal tract of broiler chickens for probiotic use. **Journal of Applied Microbiology**, Washington, v.105, p.364-5072, 2008.
- SILVA, E. N. Probióticos e Prebióticos na Alimentação de Aves. In: CONFERENCIA **APINCO** 2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS. Campinas: Anais...Campinas. FACTA,2000. p 242-251.

- SIMON, G. L.; GORBBACH, S. L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, Orlando, v.86, p.174-193, 1984.
- SIMS, M. D.; WILLIAMS, P. G.; FREHNER, M.; LOSA, R. Crina Poultry and BMD alleviate the effects of a *Clostridium perfringens* challenge in commercial broilers. **Poultry Science**, Champaing, v.83, p.1787-1788, 2004.
- SISSONS, J. W. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals – a review. **Journal of Science Food Agricultural**, Davis, v.49, n.1, p.1-13, 1989.
- SMIRNOV, A.; PEREZ, R.; AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v.135, p.187–192, 2005.
- SMITH-PALMER, A.; STERWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils essences against five important foodborne pathogens. **Letters in Appleid Microbiology**, Washington, v.26, p.118-122, 1998.
- SMITS, C.H.M.; ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.52, p.203–221, 1996.
- SPTING, P. Effects of mannanoligosaccharide on different cecalparameters and on cecal concentrations of enteric pathogens in poultry. 1996. 120 fl. **Dissertação**. ETH Zurich, Switzerland, 1996.
- SRINIVASAN, K. Black peper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amsterdam, v.47, p.735-748, 2007.
- STEENFELDT, S.; HAMMERSHÙJ, M.; MUÈ LLERTZ, A.; JENSEN, F.J. Enzyme supplementation to wheat-based diets for broilers. 2. Effects on apparent metabolisable energy content and nutrient digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.75, p.45-64, 1998a.
- STEENFELDT, S.; HAMMERSHÙJ, M.; MUÈ LLERTZ, A.; JENSEN, F.J. Enzyme supplementation to wheat-based diets for broilers. 2. Effects on growth performance and intestinal viscosity. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.75, p.45-65, 1998b.
- STEWART, C. S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, London, v.31, p.11-33, 1993.
- STROMBECK, D. R.; GUILFORD, W. G. **Small animal gastroenterology**, 2^a ed. London: Wolfe Publ., 1991. 744 p.
- TABAK, M.; ARMON, R.; NEEMAN, I. Cinnamon extracts inhibitory effect on

Helicobacter pylori. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.67, p.269-277, 1999.

TELLEZ, G. I.; JAEGER, L.; DEAN, I.; CORRIER, C. E.; DELOACH, D. E.; WILLIAMS, J. D.; HARGIS, B. M. Effect of prolonged administration of dietary capsaicin on *Salmonella enteritidis* infection in leghorn chicks. **Avian Disease**, Jacksonville, v.37, p.143-148, 1993.

TIMMERMAN, H. M.; VELDMAN, A.; VAN DENELSEN E.; ROMBOUTS, F. M.; BEYNEN, A. C. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.1383–1388, 2006.

TOMINAGA, M.; JULIUS, D. Capsaicin receptor in the pain pathway. **Japanese Journal of pharmacology**, Tokyo, p.8320-8324, 2000.

TUCKER, L. A. Maintaining pultry performance in antibiotic free-diets supplementation with commercial botanical feed ingredients. **In: Proceedings of 7th WPSA Asian Pacific Federation Conference**, Gold Coast, Australia, p. 227-230, 2002.

ULTEE, A.; BENNINK, M. H. J.; MOEZELLAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applid Environmental microbiology**, Washington, v.68, p.1561-1568, 2002.

VAN DERWIELEN, P. W.; BIESTERVELD, S.; NOTERMANS, S.; HOFSTRA, H.; URLINGS, B.A.P.; VAN KNAPEN, F. Role of volatile fatty acids in development of the caecal microflora in broiler chickens during growth. **Applid Environmental Microbiology**, Washington, v.66, 2536–2540, 2000.

VANBELLE, M. Les enzymes probiotiques: Curso Superior de Nutrición y Alimentación Animal, **Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza**, Zaragoza, 1992.

VANBELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Archives of Animal Nutrition**, Cambridge, v.40, n.7, p.543-567, 1990.

VICENTE, J. L.; LOPEZ, C.; AVILA, E.; MORALES, E.; HARGIS, B. M.; TELLEZ, G. Effect of dietary natural capsaicin on experimental *Salmonella enteritidis*. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.6, p.393-393, 2007.

WANG, Z. R.; QIAO, S. Y.; LU, W. Q.; LI, D. F. Effects of supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, Champaign, v.84, p.875-881, 2005.

- WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, Bethesda, v.86(S), p.40-48, 2008.
- WYATT, C. L.; BEDFORD, M. R. Uso de enzimas nutricionais para maximizar a utilização de nutrientes pelo frango de corte em dietas á base de milho: recentes progressos no desenvolvimento e aplicação prática. In: Seminário Técnico FINNFEEDS, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: FINNFEEDS, 1998, p.2-12.
- ZANELLA, I.; SAKOMURA, N. K.; SILVERSIDES, F. G.; FIQUEIRDO, A.; PACK, A. N. O. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v.78, 561–568, 1999.
- ZHANG, K. Y.; YAN, F.; KEEN, C. A.; WALDROUP, P. W. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. **International Journal of poultry Science**, Faisalabad, v.4, n.9, p.612-619, 2005.
- ZHOU, Y.; JIANG, Z.; LV, D.; WANG, T. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Poultry Science**, Champaign, v.88, p.316-322, 2009.

4.APÊNDICES

APÊNDICE A – Observações experimentais – Capítulo II 1. Desempenho Zootécnico

| Tratamento | 21 dias | | | 28 dias | | |
|-------------|---------|---------|------|---------|--------|------|
| | G P (g) | C R (g) | CA | G P (g) | CR(g) | CA |
| Controle | 493,64 | 662,27 | 1,34 | 523,00 | 899,00 | 1,72 |
| Controle | 528,18 | 709,45 | 1,34 | 531,00 | 930,00 | 1,75 |
| Controle | 494,55 | 664,82 | 1,34 | 523,00 | 907,00 | 1,73 |
| Controle | 531,82 | 715,82 | 1,35 | 516,00 | 876,00 | 1,70 |
| Controle | 530,00 | 709,30 | 1,34 | 525,56 | 883,33 | 1,68 |
| Probiótico | 527,00 | 727,00 | 1,38 | 515,56 | 917,78 | 1,78 |
| Probiótico | 539,09 | 744,45 | 1,38 | 517,00 | 874,00 | 1,69 |
| Probiótico | 535,45 | 739,82 | 1,38 | 552,00 | 936,00 | 1,70 |
| Probiótico | 498,18 | 698,18 | 1,40 | 525,00 | 909,00 | 1,73 |
| Probiótico | 518,18 | 718,73 | 1,39 | 541,00 | 924,00 | 1,71 |
| Óleo Ess | 495,45 | 690,36 | 1,39 | 540,00 | 937,00 | 1,74 |
| Óleo Ess | 469,55 | 655,00 | 1,39 | 501,00 | 889,00 | 1,77 |
| Óleo Ess | 500,91 | 698,73 | 1,39 | 517,78 | 899,90 | 1,74 |
| Óleo Ess | 498,18 | 686,91 | 1,38 | 529,00 | 921,00 | 1,74 |
| Óleo Ess | 499,09 | 688,27 | 1,38 | 523,00 | 931,30 | 1,78 |
| Antibiótico | 543,64 | 726,55 | 1,34 | 535,00 | 908,00 | 1,70 |
| Antibiótico | 536,18 | 723,18 | 1,35 | 530,00 | 899,00 | 1,70 |
| Antibiótico | 542,73 | 725,18 | 1,34 | 518,00 | 882,00 | 1,70 |
| Antibiótico | 555,00 | 746,00 | 1,34 | 543,33 | 906,67 | 1,67 |
| Antibiótico | 560,00 | 744,40 | 1,33 | 543,33 | 924,44 | 1,70 |

2.Morfometria Intestinal (μm) Óleo– 21 dias

| Tratamento | Comprimento de Vilo | Largura de Vilo | Altura de Cripta | Nº de Vilos/área | Vilo:Cripta |
|----------------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------|
| Controle | 694,13 | 97,21 | 160,22 | 6,86 | 4,33 |
| Controle | 677,14 | 165,61 | 160,40 | 5,29 | 4,22 |
| Controle | 802,21 | 167,02 | 208,80 | 4,12 | 3,84 |
| Controle | 612,67 | 79,82 | 165,18 | 9,61 | 3,71 |
| Controle | 864,85 | 132,15 | 181,63 | 5,88 | 4,76 |
| Probiótico | 682,62 | 66,23 | 170,22 | 9,22 | 4,01 |
| Probiótico | 649,30 | 125,73 | 179,09 | 5,69 | 3,63 |
| Probiótico | 883,04 | 167,51 | 202,03 | 4,90 | 4,37 |
| Probiótico | 649,79 | 110,24 | 166,77 | 7,06 | 3,90 |
| Probiótico | 805,11 | 175,43 | 171,59 | 5,49 | 4,69 |
| Óleo essencial | 619,56 | 125,06 | 165,48 | 4,51 | 3,74 |
| Óleo essencial | 784,35 | 70,64 | 179,92 | 10,59 | 4,36 |
| Óleo essencial | 853,25 | 104,44 | 166,76 | 7,25 | 5,12 |
| Óleo essencial | 636,71 | 129,66 | 168,51 | 7,65 | 3,78 |
| Óleo essencial | 749,78 | 164,21 | 196,84 | 5,29 | 3,81 |
| Antibiótico | 857,22 | 134,26 | 157,37 | 5,69 | 5,45 |
| Antibiótico | 848,73 | 86,74 | 143,70 | 4,90 | 5,91 |
| Antibiótico | 863,41 | 198,81 | 157,00 | 5,10 | 5,50 |
| Antibiótico | 741,64 | 202,71 | 152,09 | 0,00 | 4,88 |
| Antibiótico | 760,26 | 162,96 | 148,99 | 5,49 | 5,10 |

3. Morfometria Intestinal (μm) íleo – 28 dias

| Tratamento | Comprimento de Vilo | Largura de Vilo | Altura de Cripta | Nº de Vilos/área | Vilo:Cripta |
|----------------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------|
| Controle | 1000,85 | 141,82 | 305,50 | 5,29 | 3,28 |
| Controle | 1051,25 | 103,78 | 275,95 | 7,84 | 3,81 |
| Controle | 1038,11 | 108,12 | 279,52 | 6,08 | 3,71 |
| Controle | 1091,97 | 154,87 | 284,20 | 4,31 | 3,84 |
| Controle | 896,96 | 200,73 | 271,62 | 4,71 | 3,30 |
| Probiótico | 1059,53 | 155,59 | 304,58 | 5,29 | 3,48 |
| Probiótico | 872,26 | 134,01 | 275,84 | 3,92 | 3,16 |
| Probiótico | 1091,43 | 133,92 | 286,33 | 6,47 | 3,81 |
| Probiótico | 991,67 | 130,62 | 275,95 | 4,71 | 3,59 |
| Probiótico | 1093,04 | 154,74 | 287,32 | 5,10 | 3,80 |
| Óleo essencial | 836,42 | 195,68 | 304,14 | 5,10 | 2,75 |
| Óleo essencial | 1069,50 | 191,66 | 274,12 | 4,12 | 3,90 |
| Óleo essencial | 1080,26 | 124,22 | 298,69 | 6,86 | 3,62 |
| Óleo essencial | 1006,67 | 160,27 | 272,89 | 5,10 | 3,69 |
| Óleo essencial | 1090,22 | 135,74 | 283,33 | 6,67 | 3,85 |
| Antibiótico | 1071,26 | 118,60 | 261,11 | 6,08 | 4,10 |
| Antibiótico | 1094,64 | 171,00 | 267,04 | 4,90 | 4,10 |
| Antibiótico | 956,55 | 129,68 | 236,84 | 5,29 | 4,04 |
| Antibiótico | 915,82 | 178,10 | 208,03 | 5,29 | 4,40 |
| Antibiótico | 1089,96 | 165,74 | 262,59 | 4,51 | 4,15 |

1. Valores médios ranqueados de Escore de Lesão por *Eimeria sp* aos 21 e 28 dias de idade de frangos de corte

| Tratamento | <i>Eimeria maxima</i> | | <i>Eimeria acervulina</i> | |
|----------------|-----------------------|---------|---------------------------|---------|
| | 21 dias | 28 dias | 21 dias | 28 dias |
| Controle | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Controle | 2 | 0 | 2 | 0 |
| Controle | 2 | 0 | 1 | 1 |
| Controle | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Controle | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Probiótico | 1 | 0 | 2 | 0 |
| Probiótico | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Probiótico | 2 | 0 | 0 | 1 |
| Probiótico | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Probiótico | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Óleo essencial | 0 | 1 | 1 | 1 |
| Óleo essencial | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Óleo essencial | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Óleo essencial | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Óleo essencial | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Antibiótico | 2 | 0 | 0 | 1 |
| Antibiótico | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Antibiótico | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Antibiótico | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Antibiótico | 1 | 0 | 0 | 0 |

APÊNDICE B – Observações experimentais – Capítulo III

1. Desempenho Zootécnico

| Tratamento | | 1-21 dias | | 32-35 dias | | | |
|------------------|------------|-----------|---------|------------|---------|---------|------|
| Nível de Energia | Aditivo | GP (g) | CR(g) | C A | G P (g) | C R (g) | C A |
| Padrão | Controle | 934,90 | 1226,10 | 1,31 | 1154,20 | 2133,90 | 1,85 |
| Padrão | Controle | 979,90 | 1263,30 | 1,29 | 1166,00 | 2125,80 | 1,82 |
| Padrão | Controle | 918,20 | 1222,80 | 1,33 | 1050,00 | 1930,70 | 1,84 |
| Padrão | Controle | 940,40 | 1149,80 | 1,22 | 1150,40 | 2159,30 | 1,88 |
| Padrão | Controle | 910,00 | 1239,20 | 1,36 | 1147,40 | 2087,50 | 1,82 |
| Padrão | Enzima | 887,80 | 1233,30 | 1,39 | 1125,80 | 2118,90 | 1,88 |
| Padrão | Enzima | 966,30 | 1185,80 | 1,23 | 1135,60 | 2091,90 | 1,84 |
| Padrão | Enzima | 974,30 | 1189,30 | 1,22 | 1156,50 | 2113,30 | 1,83 |
| Padrão | Enzima | 956,00 | 1235,70 | 1,29 | 1144,70 | 2126,80 | 1,86 |
| Padrão | Enzima | 907,80 | 1241,30 | 1,37 | 1125,30 | 2042,60 | 1,82 |
| Padrão | Probiótico | 942,00 | 1183,50 | 1,26 | 1158,60 | 2120,30 | 1,83 |
| Padrão | Probiótico | 960,70 | 1241,60 | 1,29 | 1135,10 | 2109,30 | 1,86 |
| Padrão | Probiótico | 931,40 | 1175,20 | 1,26 | 1140,80 | 2100,50 | 1,84 |
| Padrão | Probiótico | 888,00 | 1197,80 | 1,35 | 1147,40 | 2095,10 | 1,83 |
| Padrão | Probiótico | 992,40 | 1260,40 | 1,27 | 1097,20 | 2071,20 | 1,89 |
| Padrão | Enz+Prob | 992,80 | 1188,40 | 1,20 | 1178,30 | 2155,10 | 1,83 |
| Padrão | Enz+Prob | 946,80 | 1208,20 | 1,28 | 1158,50 | 2171,90 | 1,87 |
| Padrão | Enz+Prob | 905,40 | 1199,20 | 1,32 | 1096,00 | 1993,30 | 1,82 |
| Padrão | Enz+Prob | 903,40 | 1218,20 | 1,35 | 1170,70 | 2132,30 | 1,82 |
| Padrão | Enz+Prob | 947,50 | 1260,20 | 1,33 | 1083,50 | 2041,40 | 1,88 |
| Baixa | Controle | 906,70 | 1256,40 | 1,39 | 1069,20 | 2031,30 | 1,90 |
| Baixa | Controle | 957,30 | 1251,30 | 1,31 | 1111,40 | 2130,40 | 1,92 |
| Baixa | Controle | 916,60 | 1192,00 | 1,30 | 1192,10 | 2206,70 | 1,85 |
| Baixa | Controle | 868,50 | 1247,80 | 1,44 | 1151,10 | 2157,50 | 1,87 |
| Baixa | Controle | 922,70 | 1196,30 | 1,30 | 1147,20 | 2170,60 | 1,89 |
| Baixa | Enzima | 918,50 | 1192,10 | 1,30 | 1149,40 | 2147,30 | 1,87 |
| Baixa | Enzima | 903,70 | 1294,10 | 1,43 | 1127,40 | 2164,20 | 1,92 |
| Baixa | Enzima | 924,30 | 1224,50 | 1,32 | 1139,90 | 2165,40 | 1,90 |
| Baixa | Enzima | 937,80 | 1254,80 | 1,34 | 1141,50 | 2115,40 | 1,85 |
| Baixa | Enzima | 923,10 | 1244,50 | 1,35 | 1100,30 | 2088,80 | 1,90 |
| Baixa | Probiótico | 928,30 | 1249,40 | 1,35 | 1176,10 | 2195,80 | 1,87 |
| Baixa | Probiótico | 868,00 | 1269,50 | 1,46 | 1116,70 | 2109,50 | 1,89 |
| Baixa | Probiótico | 935,60 | 1207,00 | 1,29 | 1132,00 | 2183,30 | 1,93 |
| Baixa | Probiótico | 932,00 | 1219,30 | 1,31 | 1120,40 | 2141,50 | 1,91 |
| Baixa | Probiótico | 923,90 | 1264,60 | 1,37 | 1132,20 | 2172,50 | 1,92 |
| Baixa | Enz+Prob | 920,40 | 1263,50 | 1,37 | 1154,70 | 2148,80 | 1,86 |

Continuação – Observação experimentais – Capítulo III –
Desempenho Zootécnico

| Tratamento | | 1-21 dias | | | 32-35 dias | | |
|------------------|----------|----------------|-------------------|---------------------|----------------|-------------------|------|
| Nível de Energia | Aditivo | Ganho Peso (g) | Consumo Ração (g) | Conversão Alimentar | Ganho Peso (g) | Consumo Ração (g) | CA |
| Baixa | Enz+Prob | 925,80 | 1202,50 | 1,30 | 1116,30 | 2081,50 | 1,86 |
| Baixa | Enz+Prob | 922,10 | 1225,20 | 1,33 | 1107,90 | 2133,70 | 1,93 |
| Baixa | Enz+Prob | 925,80 | 1202,50 | 1,30 | 1116,30 | 2081,50 | 1,86 |
| Baixa | Enz+Prob | 922,10 | 1225,20 | 1,33 | 1107,90 | 2133,70 | 1,93 |

1. Morfometria intestinal – Peso Relativo (g) aos 14 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Peso Vivo das aves | Moela | Intestino Anterior | Íleo | Ceco |
|------------------|------------|--------------------|-------|--------------------|-------|------|
| Padrão | Controle | 500,50 | 15,88 | 30,51 | 13,91 | 1,78 |
| Padrão | Controle | 499,17 | 14,98 | 29,86 | 12,28 | 2,07 |
| Padrão | Controle | 500,83 | 16,09 | 29,29 | 12,60 | 2,20 |
| Padrão | Controle | 498,67 | 16,13 | 28,91 | 13,58 | 2,08 |
| Padrão | Enzima | 498,33 | 15,86 | 28,88 | 12,79 | 2,01 |
| Padrão | Enzima | 499,33 | 14,87 | 29,88 | 13,44 | 2,33 |
| Padrão | Enzima | 500,00 | 16,02 | 30,50 | 12,20 | 2,10 |
| Padrão | Enzima | 500,17 | 15,90 | 30,40 | 12,70 | 2,16 |
| Padrão | Enzima | 498,83 | 14,99 | 28,11 | 13,80 | 1,92 |
| Padrão | Probiótico | 499,33 | 15,92 | 30,29 | 13,09 | 1,88 |
| Padrão | Probiótico | 499,67 | 14,94 | 30,40 | 13,10 | 2,30 |
| Padrão | Probiótico | 498,00 | 15,37 | 30,30 | 12,21 | 1,84 |
| Padrão | Probiótico | 500,33 | 15,94 | 29,08 | 13,05 | 2,31 |
| Padrão | Probiótico | 500,67 | 15,99 | 29,60 | 12,95 | 1,90 |
| Padrão | Enz+Prob | 502,50 | 16,02 | 28,60 | 13,68 | 2,16 |
| Padrão | Enz+Prob | 499,17 | 16,03 | 30,29 | 13,22 | 2,08 |
| Padrão | Enz+Prob | 501,33 | 15,08 | 28,60 | 12,17 | 2,15 |
| Padrão | Enz+Prob | 497,00 | 16,22 | 30,87 | 13,18 | 2,29 |
| Padrão | Enz+Prob | 503,90 | 16,13 | 30,03 | 12,50 | 1,89 |
| Baixa | Controle | 496,67 | 17,05 | 31,07 | 12,08 | 2,70 |
| Baixa | Controle | 500,00 | 17,86 | 31,60 | 13,16 | 2,70 |
| Baixa | Controle | 497,50 | 16,10 | 27,46 | 13,47 | 2,31 |
| Baixa | Controle | 503,17 | 17,07 | 29,93 | 13,12 | 2,31 |
| Baixa | Controle | 500,17 | 17,21 | 28,71 | 13,70 | 2,30 |
| Baixa | Enzima | 499,17 | 17,07 | 29,19 | 12,42 | 2,30 |
| Baixa | Enzima | 501,82 | 16,36 | 31,90 | 12,32 | 2,09 |
| Baixa | Enzima | 500,00 | 16,08 | 30,50 | 12,70 | 1,90 |
| Baixa | Enzima | 500,17 | 16,09 | 27,21 | 14,00 | 1,96 |
| Baixa | Enzima | 495,83 | 17,95 | 29,06 | 13,19 | 2,10 |
| Baixa | Probiótico | 500,50 | 17,08 | 30,61 | 12,39 | 2,28 |
| Baixa | Probiótico | 496,33 | 16,00 | 30,22 | 13,08 | 2,78 |
| Baixa | Probiótico | 499,50 | 16,62 | 31,09 | 13,41 | 2,52 |
| Baixa | Probiótico | 500,33 | 17,07 | 28,80 | 13,11 | 2,30 |
| Baixa | Probiótico | 499,17 | 17,43 | 27,49 | 13,40 | 2,70 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,00 | 16,80 | 28,70 | 13,50 | 2,00 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,83 | 16,17 | 29,51 | 12,40 | 1,96 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,00 | 17,84 | 31,10 | 12,80 | 2,36 |
| Baixa | Enz+Prob | 496,67 | 16,11 | 30,26 | 12,28 | 1,97 |
| Baixa | Enz+Prob | 499,83 | 17,03 | 28,89 | 13,80 | 2,04 |

2. Morfometria intestinal – Peso Relativo (g) aos 35 dias

| Níveis de Energia | Aditivo | Peso Vivo das aves | Moela | Intestino Anterior | Íleo | Ceco |
|-------------------|------------|--------------------|-------|--------------------|------|------|
| Padrão | Controle | 2325,00 | 6,58 | 10,98 | 5,76 | 1,35 |
| Padrão | Controle | 2295,00 | 6,75 | 11,50 | 6,05 | 1,24 |
| Padrão | Controle | 2313,33 | 6,48 | 10,37 | 6,16 | 1,32 |
| Padrão | Controle | 2315,00 | 6,48 | 11,15 | 6,68 | 1,36 |
| Padrão | Controle | 2288,17 | 6,58 | 11,76 | 6,38 | 1,29 |
| Padrão | Enzima | 2314,00 | 6,65 | 10,75 | 5,87 | 1,36 |
| Padrão | Enzima | 2198,50 | 6,75 | 11,74 | 6,80 | 1,25 |
| Padrão | Enzima | 2342,50 | 6,62 | 11,75 | 5,98 | 1,34 |
| Padrão | Enzima | 2312,00 | 6,85 | 11,11 | 6,57 | 1,41 |
| Padrão | Enzima | 2337,40 | 6,55 | 11,49 | 6,01 | 1,22 |
| Padrão | Probiótico | 2291,00 | 6,65 | 11,09 | 6,05 | 1,20 |
| Padrão | Probiótico | 2312,50 | 6,32 | 11,71 | 6,18 | 1,36 |
| Padrão | Probiótico | 2252,00 | 6,95 | 11,18 | 6,96 | 1,35 |
| Padrão | Probiótico | 2304,00 | 6,94 | 11,02 | 6,18 | 1,32 |
| Padrão | Probiótico | 2345,70 | 6,39 | 11,53 | 5,93 | 1,27 |
| Padrão | Enz+Prob | 2312,50 | 6,49 | 10,85 | 5,97 | 1,31 |
| Padrão | Enz+Prob | 2312,50 | 6,30 | 11,25 | 6,05 | 1,33 |
| Padrão | Enz+Prob | 2289,00 | 6,85 | 11,49 | 6,89 | 1,29 |
| Padrão | Enz+Prob | 2289,00 | 6,60 | 10,98 | 6,25 | 1,39 |
| Padrão | Enz+Prob | 2313,00 | 6,57 | 11,90 | 6,10 | 1,33 |
| Baixa | Controle | 2289,00 | 6,95 | 11,45 | 6,04 | 1,42 |
| Baixa | Controle | 2280,00 | 6,51 | 11,76 | 5,74 | 1,34 |
| Baixa | Controle | 2317,50 | 6,50 | 11,76 | 6,88 | 1,40 |
| Baixa | Controle | 2330,00 | 6,60 | 10,67 | 6,07 | 1,35 |
| Baixa | Controle | 2290,00 | 6,90 | 11,11 | 6,64 | 1,38 |
| Baixa | Enzima | 2325,00 | 6,90 | 11,81 | 6,82 | 1,44 |
| Baixa | Enzima | 2275,00 | 6,64 | 11,35 | 6,22 | 1,34 |
| Baixa | Enzima | 2312,00 | 6,59 | 11,35 | 5,79 | 1,41 |
| Baixa | Enzima | 2308,00 | 6,51 | 11,23 | 6,07 | 1,36 |
| Baixa | Enzima | 2292,50 | 6,95 | 10,56 | 6,22 | 1,37 |
| Baixa | Probiótico | 2295,00 | 6,60 | 10,65 | 6,25 | 1,42 |
| Baixa | Probiótico | 2387,50 | 6,66 | 11,19 | 6,59 | 1,45 |
| Baixa | Probiótico | 1996,67 | 6,91 | 10,54 | 6,20 | 1,28 |
| Baixa | Probiótico | 2392,50 | 6,52 | 11,11 | 5,56 | 1,36 |
| Baixa | Probiótico | 2445,00 | 6,50 | 11,80 | 6,23 | 1,45 |
| Baixa | Enz+Prob | 2330,00 | 6,90 | 11,86 | 5,77 | 1,39 |
| Baixa | Enz+Prob | 2305,00 | 6,90 | 11,53 | 6,76 | 1,32 |
| Baixa | Enz+Prob | 2291,00 | 6,80 | 11,27 | 6,05 | 1,37 |
| Baixa | Enz+Prob | 2300,00 | 6,51 | 10,48 | 6,06 | 1,37 |
| Baixa | Enz+Prob | 2278,50 | 6,70 | 11,31 | 6,63 | 1,34 |

3. Mormofometria Intestinal – Comprimento Relativo (cm) aos 14 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Peso Vivo das aves (g) | Intestino Anterior | Íleo | Ceco |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------|--------|-------|
| Padrão | Controle | 500,50 | 156,96 | 101,58 | 21,08 |
| Padrão | Controle | 496,67 | 160,19 | 113,72 | 18,79 |
| Padrão | Controle | 499,17 | 161,45 | 110,94 | 18,13 |
| Padrão | Controle | 500,83 | 150,47 | 107,76 | 18,61 |
| Padrão | Controle | 498,67 | 159,56 | 114,99 | 18,89 |
| Padrão | Enzima | 498,33 | 160,70 | 102,96 | 20,35 |
| Padrão | Enzima | 499,33 | 151,90 | 106,82 | 18,42 |
| Padrão | Enzima | 500,00 | 157,06 | 108,90 | 18,56 |
| Padrão | Enzima | 500,17 | 153,65 | 114,88 | 18,69 |
| Padrão | Enzima | 498,83 | 157,25 | 111,06 | 18,64 |
| Padrão | Pro biótico | 499,33 | 161,54 | 102,82 | 18,58 |
| Padrão | Pro biótico | 499,67 | 156,20 | 111,81 | 18,51 |
| Padrão | Pro biótico | 498,00 | 158,90 | 115,34 | 20,48 |
| Padrão | Pro biótico | 500,33 | 151,58 | 108,29 | 18,59 |
| Padrão | Pro biótico | 500,67 | 158,79 | 112,85 | 18,87 |
| Padrão | Enz+Prob | 502,50 | 164,06 | 106,69 | 20,42 |
| Padrão | Enz+Prob | 499,17 | 158,34 | 115,85 | 18,79 |
| Padrão | Enz+Prob | 501,33 | 157,54 | 109,53 | 18,45 |
| Padrão | Enz+Prob | 497,00 | 148,85 | 106,86 | 18,91 |
| Padrão | Enz+Prob | 503,90 | 150,66 | 109,98 | 18,75 |
| Baixa | Controle | 496,67 | 160,17 | 117,10 | 21,20 |
| Baixa | Controle | 500,00 | 147,40 | 107,90 | 20,10 |
| Baixa | Controle | 497,50 | 157,91 | 117,37 | 19,70 |
| Baixa | Controle | 503,17 | 157,76 | 108,75 | 21,66 |
| Baixa | Controle | 500,17 | 160,49 | 103,88 | 21,89 |
| Baixa | Enzima | 499,17 | 161,95 | 115,95 | 18,43 |
| Baixa | Enzima | 501,82 | 156,93 | 116,18 | 20,17 |
| Baixa | Enzima | 500,00 | 150,80 | 101,24 | 19,86 |
| Baixa | Enzima | 500,17 | 146,19 | 108,88 | 18,19 |
| Baixa | Enzima | 495,83 | 161,45 | 105,18 | 18,55 |
| Baixa | Pro biótico | 500,50 | 158,78 | 109,27 | 21,98 |
| Baixa | Pro biótico | 496,33 | 153,12 | 116,15 | 20,79 |
| Baixa | Pro biótico | 499,50 | 163,36 | 101,44 | 21,50 |
| Baixa | Pro biótico | 500,33 | 149,58 | 106,99 | 19,99 |
| Baixa | Pro biótico | 499,17 | 162,35 | 116,45 | 21,40 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,00 | 161,20 | 116,00 | 18,80 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,83 | 155,66 | 116,25 | 19,07 |
| Baixa | Enz+Prob | 500,00 | 151,80 | 103,34 | 20,60 |
| Baixa | Enz+Prob | 496,67 | 154,03 | 105,02 | 18,89 |
| Baixa | Enz+Prob | 499,83 | 156,91 | 107,92 | 18,61 |

4. Intestinal – Comprimento Relativo (cm) aos 35 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Peso Vivo das aves | | | | |
|------------------|------------|--------------------|-------|--------------------|------|-------|
| | | (g) | Moela | Intestino Anterior | Íleo | Ceco |
| Padrão | Controle | 2325,00 | 42,74 | 34,21 | 5,81 | 42,74 |
| Padrão | Controle | 2295,00 | 39,15 | 33,79 | 5,27 | 39,15 |
| Padrão | Controle | 2313,33 | 39,57 | 33,78 | 5,84 | 39,57 |
| Padrão | Controle | 2315,00 | 41,57 | 34,57 | 6,18 | 41,57 |
| Padrão | Controle | 2288,17 | 39,18 | 33,02 | 5,86 | 39,18 |
| Padrão | Enzima | 2314,00 | 39,22 | 34,59 | 5,75 | 39,22 |
| Padrão | Enzima | 2198,50 | 39,75 | 34,29 | 5,59 | 39,75 |
| Padrão | Enzima | 2342,50 | 38,92 | 34,55 | 5,84 | 38,92 |
| Padrão | Enzima | 2312,00 | 41,00 | 34,75 | 5,96 | 41,00 |
| Padrão | Enzima | 2337,40 | 38,53 | 33,74 | 5,65 | 38,53 |
| Padrão | Probiótico | 2291,00 | 38,48 | 34,43 | 5,46 | 38,48 |
| Padrão | Probiótico | 2312,50 | 39,52 | 34,64 | 6,01 | 39,52 |
| Padrão | Probiótico | 2252,00 | 39,45 | 33,62 | 5,60 | 39,45 |
| Padrão | Probiótico | 2304,00 | 40,95 | 34,45 | 6,03 | 40,95 |
| Padrão | Probiótico | 2345,70 | 40,76 | 33,91 | 5,88 | 40,76 |
| Padrão | Enz+Prob | 2312,50 | 40,61 | 33,77 | 5,89 | 40,61 |
| Padrão | Enz+Prob | 2312,50 | 39,17 | 34,47 | 5,83 | 39,17 |
| Padrão | Enz+Prob | 2289,00 | 38,29 | 33,27 | 5,64 | 38,29 |
| Padrão | Enz+Prob | 2289,00 | 38,75 | 32,87 | 5,37 | 38,75 |
| Padrão | Enz+Prob | 2313,00 | 38,68 | 34,94 | 5,71 | 38,68 |
| Baixa | Controle | 2289,00 | 39,41 | 34,42 | 5,81 | 39,41 |
| Baixa | Controle | 2280,00 | 41,30 | 33,36 | 6,01 | 41,30 |
| Baixa | Controle | 2317,50 | 42,84 | 34,66 | 6,21 | 42,84 |
| Baixa | Controle | 2330,00 | 42,19 | 34,94 | 6,05 | 42,19 |
| Baixa | Controle | 2290,00 | 38,84 | 34,52 | 6,16 | 38,84 |
| Baixa | Enzima | 2325,00 | 38,84 | 34,65 | 6,11 | 38,84 |
| Baixa | Enzima | 2275,00 | 42,50 | 33,23 | 5,71 | 42,50 |
| Baixa | Enzima | 2312,00 | 40,44 | 34,19 | 5,99 | 40,44 |
| Baixa | Enzima | 2308,00 | 38,28 | 33,87 | 5,87 | 38,28 |
| Baixa | Enzima | 2292,50 | 38,86 | 33,84 | 5,74 | 38,86 |
| Baixa | Probiótico | 2295,00 | 38,54 | 32,83 | 5,97 | 38,54 |
| Baixa | Probiótico | 2387,50 | 41,19 | 33,81 | 5,90 | 41,19 |
| Baixa | Probiótico | 1996,67 | 41,87 | 37,30 | 6,46 | 41,87 |
| Baixa | Probiótico | 2392,50 | 40,90 | 33,71 | 5,64 | 40,90 |
| Baixa | Probiótico | 2445,00 | 40,97 | 32,93 | 6,53 | 40,97 |
| Baixa | Enz+Prob | 2330,00 | 40,85 | 34,70 | 6,03 | 40,85 |
| Baixa | Enz+Prob | 2305,00 | 40,43 | 34,20 | 6,01 | 40,43 |
| Baixa | Enz+Prob | 2291,00 | 38,85 | 32,77 | 5,86 | 38,85 |
| Baixa | Enz+Prob | 2300,00 | 40,35 | 34,73 | 5,85 | 40,35 |
| Baixa | Enz+Prob | 2278,50 | 38,13 | 33,43 | 5,79 | 38,13 |

3. pH do conteúdo do trato gastrointestinal

| Nível de Energia | Aditivo | pH 14 dias | | | pH 35 dias | | |
|------------------|------------|------------|------|------|------------|------|------|
| | | Moela | Íleo | Ceco | Moela | Íleo | Ceco |
| Padrão | Controle | 3,78 | 6,75 | 6,15 | 3,85 | 7,11 | 6,30 |
| Padrão | Controle | 3,75 | 6,78 | 6,15 | 3,79 | 7,00 | 6,22 |
| Padrão | Controle | 3,68 | 6,76 | 6,16 | 3,82 | 6,98 | 6,33 |
| Padrão | Controle | 3,78 | 6,87 | 5,97 | 3,73 | 7,08 | 6,14 |
| Padrão | Controle | 3,73 | 6,85 | 5,98 | 3,70 | 6,97 | 6,34 |
| Padrão | Enzima | 3,76 | 6,80 | 6,16 | 3,78 | 7,12 | 6,33 |
| Padrão | Enzima | 3,75 | 6,78 | 6,18 | 3,81 | 7,10 | 6,34 |
| Padrão | Enzima | 3,69 | 6,87 | 6,00 | 3,86 | 6,96 | 6,17 |
| Padrão | Enzima | 3,77 | 6,76 | 6,00 | 3,78 | 6,96 | 6,17 |
| Padrão | Enzima | 3,78 | 6,77 | 5,98 | 3,81 | 7,00 | 6,24 |
| Padrão | Probiótico | 3,66 | 6,87 | 6,20 | 3,85 | 7,10 | 6,17 |
| Padrão | Probiótico | 3,67 | 6,78 | 5,98 | 3,79 | 6,94 | 6,15 |
| Padrão | Probiótico | 3,75 | 6,73 | 6,16 | 3,75 | 7,06 | 6,33 |
| Padrão | Probiótico | 3,77 | 6,75 | 6,15 | 3,86 | 6,97 | 6,12 |
| Padrão | Probiótico | 3,78 | 6,80 | 6,07 | 3,85 | 7,00 | 6,24 |
| Padrão | Enz+Prob | 3,88 | 6,78 | 6,20 | 3,85 | 7,11 | 6,24 |
| Padrão | Enz+Prob | 3,70 | 6,85 | 6,15 | 3,79 | 7,08 | 6,32 |
| Padrão | Enz+Prob | 3,74 | 6,86 | 6,16 | 3,78 | 7,05 | 6,33 |
| Padrão | Enz+Prob | 3,70 | 6,80 | 6,00 | 3,83 | 6,98 | 6,12 |
| Padrão | Enz+Prob | 3,75 | 6,85 | 5,98 | 3,70 | 6,97 | 6,10 |
| Baixa | Controle | 3,33 | 6,80 | 5,78 | 3,89 | 7,10 | 6,16 |
| Baixa | Controle | 3,30 | 6,77 | 5,95 | 3,76 | 7,05 | 6,33 |
| Baixa | Controle | 3,28 | 6,76 | 5,96 | 3,74 | 6,98 | 6,34 |
| Baixa | Controle | 3,13 | 6,88 | 5,75 | 3,79 | 7,08 | 6,25 |
| Baixa | Controle | 3,25 | 6,79 | 5,75 | 3,71 | 7,10 | 6,33 |
| Baixa | Enzima | 3,31 | 6,86 | 5,90 | 3,87 | 7,05 | 6,27 |
| Baixa | Enzima | 3,19 | 6,78 | 5,95 | 3,85 | 7,00 | 6,22 |
| Baixa | Enzima | 3,32 | 6,75 | 5,95 | 3,78 | 7,10 | 6,32 |
| Baixa | Enzima | 3,32 | 6,87 | 5,75 | 3,78 | 6,90 | 6,12 |
| Baixa | Enzima | 3,33 | 6,88 | 5,95 | 3,79 | 7,05 | 6,32 |
| Baixa | Probiótico | 3,27 | 6,75 | 5,80 | 3,83 | 6,95 | 6,17 |
| Baixa | Probiótico | 3,32 | 6,78 | 5,90 | 3,78 | 7,05 | 6,27 |
| Baixa | Probiótico | 3,30 | 6,83 | 5,79 | 3,86 | 6,94 | 6,16 |
| Baixa | Probiótico | 3,28 | 6,75 | 5,90 | 3,84 | 7,05 | 6,10 |
| Baixa | Probiótico | 3,33 | 6,85 | 5,95 | 3,90 | 7,00 | 6,32 |
| Baixa | Enz+Prob | 3,33 | 6,78 | 5,97 | 3,79 | 7,12 | 6,34 |
| Baixa | Enz+Prob | 3,16 | 6,85 | 5,95 | 3,82 | 7,10 | 6,32 |
| Baixa | Enz+Prob | 3,32 | 6,75 | 5,77 | 3,78 | 6,92 | 6,14 |
| Baixa | Enz+Prob | 3,29 | 6,86 | 5,90 | 3,85 | 6,95 | 6,17 |
| Baixa | Enz+Prob | 3,30 | 6,85 | 5,95 | 3,70 | 7,10 | 6,32 |

APÊNDICE C – Observações experimentais – Capítulo IV

1. Metabolizabilidade de parâmetros de dietas de frango (11-14 e

32-35 dias)

| Nível de Energia | Aditivo | Metaboliz. MS% | Metaboliz. EB% | Metaboliz. PB% | EMA MS Kcal |
|------------------|------------|----------------|----------------|----------------|-------------|
| Padrão | Controle | 73,57 | 76,2 | 67,03 | 3227 |
| Padrão | Controle | 74,42 | 78,01 | 66,91 | 3304 |
| Padrão | Controle | 73,73 | 76,94 | 67,1 | 3258 |
| Padrão | Controle | 74,13 | 77,42 | 66,83 | 3279 |
| Padrão | Controle | 74,47 | 77,37 | 67,42 | 3276 |
| Padrão | Enzima | 74,73 | 77,48 | 68,34 | 3281 |
| Padrão | Enzima | 73,31 | 76,15 | 66,93 | 3225 |
| Padrão | Enzima | 73,57 | 77,09 | 66,18 | 3265 |
| Padrão | Enzima | 74,34 | 77,07 | 67,25 | 3264 |
| Padrão | Enzima | 74,24 | 77,51 | 67,07 | 3282 |
| Padrão | Probiótico | 74,72 | 77,55 | 67,61 | 3284 |
| Padrão | Probiótico | 72,99 | 76,32 | 66,47 | 3232 |
| Padrão | Probiótico | 74,43 | 77,6 | 67,45 | 3286 |
| Padrão | Probiótico | 73,87 | 76,74 | 67,73 | 3249 |
| Padrão | Probiótico | 74,01 | 77,26 | 67,05 | 3272 |
| Padrão | Enz+Prob | 73,82 | 76,7 | 66,54 | 3248 |
| Padrão | Enz+Prob | 73,56 | 76,52 | 66,54 | 3240 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,81 | 77,89 | 68,03 | 3299 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,34 | 77,77 | 67,43 | 3293 |
| Padrão | Enz+Prob | 73,57 | 76,2 | 67,03 | 3227 |
| Baixa | Controle | 69,29 | 72,01 | 64 | 3000 |
| Baixa | Controle | 70,35 | 72,91 | 64,23 | 3037 |
| Baixa | Controle | 69,25 | 72,48 | 64,32 | 3020 |
| Baixa | Controle | 70,22 | 73,26 | 65,16 | 3052 |
| Baixa | Controle | 69,81 | 72,37 | 64,85 | 3015 |
| Baixa | Enzima | 70,78 | 73,74 | 65,97 | 3071 |
| Baixa | Enzima | 72,31 | 75,63 | 67,47 | 3149 |
| Baixa | Enzima | 71,91 | 74,42 | 66,62 | 3099 |
| Baixa | Enzima | 70,53 | 73,5 | 64,86 | 3061 |
| Baixa | Enzima | 71,6 | 74,26 | 66,77 | 3093 |
| Baixa | Probiótico | 68,88 | 70,92 | 63,43 | 2955 |
| Baixa | Probiótico | 69,75 | 71,93 | 64,35 | 2996 |
| Baixa | Probiótico | 69,99 | 72,75 | 63,22 | 3030 |
| Baixa | Probiótico | 70,63 | 73,43 | 65,1 | 3058 |
| Baixa | Probiótico | 69,52 | 72,48 | 63,86 | 3019 |
| Baixa | Enz+Prob | 72,2 | 74,97 | 67,32 | 3122 |
| Baixa | Enz+Prob | 72,59 | 75,07 | 67,07 | 3126 |
| Baixa | Enz+Prob | 71,57 | 74,24 | 66,97 | 3092 |
| Baixa | Enz+Prob | 71,25 | 74,07 | 65,87 | 3085 |
| Baixa | Enz+Prob | 70,47 | 74,2 | 65,36 | 3091 |

2. Metabolizabilidade de parâmetros de dietas de frangos (32-35 dias)

| Nível de Energia | Aditivo | Metaboliz. MS% | Metaboliz. EB% | Metaboliz. PB% | EMA MS Kcal |
|------------------|------------|----------------|----------------|----------------|-------------|
| Padrão | Controle | 76,19 | 80,21 | 71,79 | 3541 |
| Padrão | Controle | 77,3 | 81,12 | 73,52 | 3583 |
| Padrão | Controle | 77,21 | 81,16 | 72,66 | 3585 |
| Padrão | Controle | 75,95 | 79,97 | 72,20 | 3530 |
| Padrão | Controle | 77,17 | 80,99 | 73,57 | 3577 |
| Padrão | Enzima | 77,31 | 80,65 | 72,15 | 3562 |
| Padrão | Enzima | 77,24 | 80,28 | 72,82 | 3546 |
| Padrão | Enzima | 77,19 | 80,3 | 73,20 | 3546 |
| Padrão | Enzima | 77,27 | 80,69 | 73,73 | 3563 |
| Padrão | Enzima | 76,14 | 79,4 | 71,60 | 3505 |
| Padrão | Probiótico | 77,52 | 81,02 | 74,44 | 3579 |
| Padrão | Probiótico | 76,07 | 79,78 | 68,92 | 3522 |
| Padrão | Probiótico | 77,36 | 80,24 | 73,05 | 3544 |
| Padrão | Probiótico | 76,99 | 80,31 | 72,94 | 3546 |
| Padrão | Probiótico | 76,05 | 79,71 | 73,16 | 3518 |
| Padrão | Enz+Prob | 77,04 | 80,81 | 73,86 | 3569 |
| Padrão | Enz+Prob | 76,24 | 79,35 | 71,73 | 3502 |
| Padrão | Enz+Prob | 76 | 79,61 | 70,33 | 3514 |
| Padrão | Enz+Prob | 77,32 | 81,06 | 72,97 | 3580 |
| Padrão | Enz+Prob | 77,36 | 80,27 | 72,87 | 3545 |
| Baixa | Controle | 72 | 75,45 | 67,66 | 3317 |
| Baixa | Controle | 73,18 | 76,56 | 68,99 | 3372 |
| Baixa | Controle | 72,35 | 75,69 | 68,43 | 3328 |
| Baixa | Controle | 72,94 | 75,33 | 68,81 | 3313 |
| Baixa | Controle | 74,19 | 77,39 | 70,61 | 3406 |
| Baixa | Enzima | 73,18 | 76,47 | 70,15 | 3369 |
| Baixa | Enzima | 72,35 | 75,6 | 68,23 | 3328 |
| Baixa | Enzima | 73,35 | 76,32 | 71,65 | 3362 |
| Baixa | Enzima | 73,74 | 77,13 | 71,87 | 3390 |
| Baixa | Enzima | 72,72 | 75,87 | 69,38 | 3337 |
| Baixa | Probiótico | 73,36 | 76,18 | 68,80 | 3351 |
| Baixa | Probiótico | 72,82 | 76,18 | 68,29 | 3346 |
| Baixa | Probiótico | 72,43 | 75,41 | 69,04 | 3316 |
| Baixa | Probiótico | 72,93 | 76,25 | 69,06 | 3354 |
| Baixa | Probiótico | 73,21 | 76,24 | 68,88 | 3354 |
| Baixa | Enz+Prob | 72,96 | 75,43 | 68,93 | 3322 |
| Baixa | Enz+Prob | 72,58 | 76,29 | 70,64 | 3355 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,16 | 76,26 | 70,33 | 3355 |
| Baixa | Enz+Prob | 72,84 | 76,1 | 70,64 | 3347 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,68 | 77,29 | 71,09 | 3411 |

3. Digestibilidade de parâmetros de dietas de frangos aos 35 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Digestibilidade MS% | Digestibilidade PB% | EMA MS kcal |
|------------------|------------|---------------------|---------------------|-------------|
| Padrão | Controle | 73,77 | 3360 | 69,82 |
| Padrão | Controle | 74,33 | 3440 | 71,32 |
| Padrão | Controle | 74,54 | 3442 | 71,3 |
| Padrão | Controle | 74,86 | 3435 | 72,2 |
| Padrão | Enzima | 74,46 | 3472 | 71,59 |
| Padrão | Enzima | 73,91 | 3413 | 70,12 |
| Padrão | Enzima | 74,29 | 3478 | 71,59 |
| Padrão | Enzima | 74,71 | 3442 | 71,54 |
| Padrão | Enzima | 73,63 | 3404 | 70,99 |
| Padrão | Probiótico | 74,36 | 3427 | 72,16 |
| Padrão | Probiótico | 74,48 | 3431 | 70,71 |
| Padrão | Probiótico | 74,15 | 3394 | 71,95 |
| Padrão | Probiótico | 73,79 | 3468 | 70,59 |
| Padrão | Probiótico | 74,15 | 3440 | 70,43 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,68 | 3424 | 71,6 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,45 | 3434 | 71,7 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,74 | 3455 | 71,71 |
| Padrão | Enz+Prob | 73,81 | 3370 | 71,15 |
| Padrão | Enz+Prob | 74,44 | 3461 | 70,55 |
| Baixa | Controle | 74,52 | 3434 | 72,05 |
| Baixa | Controle | 73,37 | 3270 | 70,77 |
| Baixa | Controle | 73,67 | 3320 | 69,72 |
| Baixa | Controle | 73,52 | 3312 | 69,71 |
| Baixa | Controle | 74,47 | 3346 | 70,02 |
| Baixa | Enzima | 73,56 | 3312 | 70,65 |
| Baixa | Enzima | 73,55 | 3301 | 70,17 |
| Baixa | Enzima | 74,81 | 3335 | 70,63 |
| Baixa | Enzima | 73,12 | 3304 | 68,93 |
| Baixa | Enzima | 74,02 | 3354 | 71,31 |
| Baixa | Probiótico | 73,53 | 3298 | 69,08 |
| Baixa | Probiótico | 73,89 | 3357 | 70,84 |
| Baixa | Probiótico | 73,3 | 3299 | 69,89 |
| Baixa | Probiótico | 73,52 | 3296 | 69,33 |
| Baixa | Probiótico | 74,53 | 3332 | 70,92 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,93 | 3312 | 69,84 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,51 | 3300 | 69,49 |
| Baixa | Enz+Prob | 74,67 | 3329 | 71,46 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,27 | 3307 | 68,87 |
| Baixa | Enz+Prob | 73,57 | 3285 | 70,96 |

3. Produção de resíduos (g) de frango dos 11 aos 14 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Produção Dejeito MN | Produção dejeito MS | Excreção de H2O | Coefficiente Resíduo (g/g) | Excreção N2 |
|------------------|------------|---------------------|---------------------|-----------------|----------------------------|-------------|
| Padrão | Controle | 183,18 | 49,5 | 133,68 | 0,32 | 0,8318 |
| Padrão | Controle | 180,07 | 48,77 | 131,3 | 0,32 | 0,7845 |
| Padrão | Controle | 174,06 | 47,54 | 126,52 | 0,32 | 0,7880 |
| Padrão | Controle | 177,32 | 47,94 | 129,37 | 0,32 | 0,7838 |
| Padrão | Controle | 178,55 | 48,17 | 130,37 | 0,32 | 0,8000 |
| Padrão | Enzima | 171,73 | 46,3 | 125,44 | 0,3 | 0,7767 |
| Padrão | Enzima | 175,14 | 47,17 | 127,97 | 0,31 | 0,7617 |
| Padrão | Enzima | 181,44 | 49,45 | 131,99 | 0,33 | 0,7796 |
| Padrão | Enzima | 178,44 | 49,35 | 129,09 | 0,32 | 0,8015 |
| Padrão | Enzima | 172,47 | 47,03 | 125,45 | 0,31 | 0,7840 |
| Padrão | Probiótico | 178 | 48,08 | 129,92 | 0,31 | 0,7918 |
| Padrão | Probiótico | 172,14 | 47,03 | 125,11 | 0,31 | 0,7688 |
| Padrão | Probiótico | 182,85 | 49,43 | 133,43 | 0,32 | 0,8005 |
| Padrão | Probiótico | 175,42 | 47,42 | 128 | 0,31 | 0,7789 |
| Padrão | Probiótico | 178,9 | 48,43 | 130,46 | 0,33 | 0,7707 |
| Padrão | Enz+Prob | 177,38 | 48,01 | 129,36 | 0,32 | 0,7793 |
| Padrão | Enz+Prob | 179,83 | 48,55 | 131,28 | 0,33 | 0,7989 |
| Padrão | Enz+Prob | 180,01 | 49,31 | 130,7 | 0,33 | 0,7897 |
| Padrão | Enz+Prob | 171,62 | 46,23 | 125,39 | 0,3 | 0,7660 |
| Padrão | Enz+Prob | 175,97 | 47,64 | 128,33 | 0,32 | 0,7728 |
| Baixa | Controle | 225,13 | 57,25 | 167,88 | 0,38 | 0,8851 |
| Baixa | Controle | 222,03 | 56,64 | 165,39 | 0,38 | 0,9014 |
| Baixa | Controle | 226,67 | 58,16 | 168,51 | 0,39 | 0,8903 |
| Baixa | Controle | 220,43 | 56,86 | 163,57 | 0,37 | 0,8776 |
| Baixa | Controle | 227,03 | 57,69 | 169,34 | 0,39 | 0,8861 |
| Baixa | Enzima | 221,15 | 53,92 | 167,22 | 0,35 | 0,8095 |
| Baixa | Enzima | 216,21 | 52 | 164,21 | 0,35 | 0,7873 |
| Baixa | Enzima | 217,25 | 53 | 164,25 | 0,36 | 0,8115 |
| Baixa | Enzima | 214,89 | 54,83 | 160,05 | 0,37 | 0,8428 |
| Baixa | Enzima | 220,74 | 53,5 | 167,24 | 0,35 | 0,8069 |
| Baixa | Probiótico | 226,27 | 58,62 | 167,65 | 0,39 | 0,9104 |
| Baixa | Probiótico | 224,01 | 57,6 | 166,41 | 0,39 | 0,8971 |
| Baixa | Probiótico | 217,92 | 56,15 | 161,77 | 0,37 | 0,9095 |
| Baixa | Probiótico | 218,03 | 55,67 | 162,37 | 0,37 | 0,8740 |
| Baixa | Probiótico | 223,16 | 58,32 | 164,85 | 0,39 | 0,9138 |
| Baixa | Enz+Prob | 221,67 | 52,42 | 169,25 | 0,35 | 0,8026 |
| Baixa | Enz+Prob | 219,39 | 51,8 | 167,59 | 0,34 | 0,8106 |
| Baixa | Enz+Prob | 221,43 | 53,03 | 168,39 | 0,36 | 0,8023 |
| Baixa | Enz+Prob | 214,17 | 53,5 | 160,66 | 0,36 | 0,8271 |
| Baixa | Enz+Prob | 225,95 | 55,84 | 170,11 | 0,37 | 0,8533 |

5. Produção de resíduos (g) de frango dos 32 aos 35 dias

| Nível de Energia | Aditivo | Produção Dejeito MN | Produção dejeito MS | Excreção de H ₂ O | Coefic Resíduo (g/g) | Excreção N ₂ |
|------------------|------------|---------------------|---------------------|------------------------------|----------------------|-------------------------|
| Padrão | Controle | 414,63 | 104,91 | 309,71 | 0,42 | 1,434 |
| Padrão | Controle | 405,51 | 100,97 | 304,54 | 0,4 | 1,358 |
| Padrão | Controle | 406,3 | 101,35 | 304,95 | 0,41 | 1,403 |
| Padrão | Controle | 422,5 | 104,01 | 318,49 | 0,42 | 1,386 |
| Padrão | Controle | 401,75 | 102,81 | 309,42 | 0,4 | 1,338 |
| Padrão | Enzima | 406,25 | 99,43 | 306,82 | 0,39 | 1,376 |
| Padrão | Enzima | 407,5 | 100,8 | 306,7 | 0,41 | 1,355 |
| Padrão | Enzima | 413 | 100,24 | 312,76 | 0,4 | 1,326 |
| Padrão | Enzima | 411,31 | 99,97 | 311,34 | 0,4 | 1,299 |
| Padrão | Enzima | 405,99 | 100,65 | 309,41 | 0,42 | 1,411 |
| Padrão | Probiótico | 396,17 | 98,74 | 297,42 | 0,4 | 1,293 |
| Padrão | Probiótico | 414,9 | 105,67 | 309,23 | 0,42 | 1,589 |
| Padrão | Probiótico | 419,75 | 99,41 | 320,34 | 0,39 | 1,365 |
| Padrão | Probiótico | 414,75 | 101,42 | 313,33 | 0,4 | 1,376 |
| Padrão | Probiótico | 423,1 | 101,09 | 309,95 | 0,43 | 1,370 |
| Padrão | Enz+Prob | 406,75 | 101,39 | 305,36 | 0,4 | 1,336 |
| Padrão | Enz+Prob | 407,45 | 104,39 | 303,06 | 0,42 | 1,440 |
| Padrão | Enz+Prob | 408,1 | 105,51 | 302,59 | 0,42 | 1,514 |
| Padrão | Enz+Prob | 419,38 | 100,55 | 318,82 | 0,4 | 1,389 |
| Padrão | Enz+Prob | 405,46 | 99,82 | 305,64 | 0,4 | 1,388 |
| Baixa | Controle | 518,13 | 127,54 | 390,59 | 0,5 | 1,695 |
| Baixa | Controle | 520 | 121,73 | 398,27 | 0,48 | 1,626 |
| Baixa | Controle | 529,32 | 126,52 | 402,81 | 0,5 | 1,661 |
| Baixa | Controle | 512,5 | 124,06 | 388,44 | 0,49 | 1,646 |
| Baixa | Controle | 492,13 | 117,83 | 374,29 | 0,46 | 1,543 |
| Baixa | Enzima | 526,86 | 121,68 | 405,18 | 0,48 | 1,595 |
| Baixa | Enzima | 490,38 | 125,59 | 364,78 | 0,49 | 1,700 |
| Baixa | Enzima | 512,88 | 121,66 | 391,21 | 0,48 | 1,520 |
| Baixa | Enzima | 521,3 | 120,41 | 400,89 | 0,47 | 1,503 |
| Baixa | Enzima | 525,66 | 124,25 | 401,41 | 0,49 | 1,635 |
| Baixa | Probiótico | 514,31 | 121,52 | 392,79 | 0,48 | 1,639 |
| Baixa | Probiótico | 530,87 | 124,58 | 406,29 | 0,49 | 1,667 |
| Baixa | Probiótico | 515 | 125,28 | 389,72 | 0,49 | 1,618 |
| Baixa | Probiótico | 515,91 | 123,73 | 392,18 | 0,49 | 1,627 |
| Baixa | Probiótico | 520,62 | 122,1 | 398,52 | 0,48 | 1,634 |
| Baixa | Enz+Prob | 515,29 | 122,95 | 392,34 | 0,48 | 1,658 |
| Baixa | Enz+Prob | 511,25 | 124,81 | 386,44 | 0,5 | 1,558 |
| Baixa | Enz+Prob | 523 | 123,25 | 399,75 | 0,48 | 1,590 |
| Baixa | Enz+Prob | 523,94 | 123,43 | 400,5 | 0,49 | 1,556 |
| Baixa | Enz+Prob | 495,08 | 119,37 | 375,71 | 0,47 | 1,546 |

APÊNDICE D – Protocolos experimentais – Capítulo V

Protocolos de extração do DNA

Kit Quiagen

1. Pesar 200 mg de amostra e adicionar o tampão de lise (1,4 mL) e fazer vórtex por 1' para homogeneizar
2. Incubar a amostra por 95 °C
3. Fazer vórtex por 15'' e centrifugar por 2'
4. Pipetar 1,2 mL do sobrenadante e descartar o pelete
5. Adicionar a pastilha inibidora à amostra e fazer vórtex por 1'. Incubar a suspensão por 1' a temperatura ambiente
6. Centrifugar a amostra por 3'
7. Pipete o sobrenadante em um novo eppendorf de 1,5 mL e descartar o pelete. Centrifugar por mais 3'
8. Pipetar 15 µL de proteinase k dentro de um novo eppendorf de 1,5 mL
9. Pipetar 200 µL do sobrenadante do passo 7 e colocar dentro do eppendorf com proteinase k
10. Adicionar 200 µL do tampão AL e proceder ao vórtex por 15''
11. Incubar a 95 °C por 10'
12. Adicionar 200 µL de etanol (96-100%) e homogeneizar por vórtex
13. Transferir o conteúdo do item 12 dentro da coluna Spin QIAamp e centrifugar por 2'
14. Adicionar 500 µL do tampão AW1 e centrifugar por 2'
15. Transferir a coluna para um novo eppendorf e descartar o filtrado
16. Adicionar 500 µL do tampão AW2, centrifugar por 3' e descartar o filtrado
17. Transferir a coluna para um novo eppendorf e centrifugar por 2'
18. Transferir a coluna para um novo eppendorf e adicionar 200 µL do tampão AE dentro da coluna. Incubar por 1' a temperatura ambiente e centrifugar por 2' para eluir o DNA

APÊNDICE D – Análises Estatística – Capítulo I

1. Escore de lesão – Análise não paramétrica

| Rank | | | |
|-------------------------|----------------|----|--------------------|
| Dieta | | N | Mean Rank |
| 21dias <i>E. maxima</i> | Controle | 5 | 13,50 ¹ |
| | Probiótico | 5 | 14,75 |
| | Óleo essencial | 5 | 15,75 |
| | Antibiótico | 5 | 12,25 |
| Total | | 25 | |

| Test statistics ^{b,c} | | | |
|--------------------------------|-------------|-------|--|
| <i>E. Maxima 21 dias</i> | | | |
| Chi-square | | 5,278 | |
| df | | 3 | |
| Asymp. Sig. | | .153 | |
| Monte Carlo Sig. | | .149 | |
| Sig. 99% Confidence Interval | Lower Bound | .140 | |
| | Upper Bound | .158 | |

a)Basead on 10000 sampled tables b) Kruskal Wallis Test, c) Grouping Variable: Dieta

| Rank | | | |
|-------------------------|----------------|----|-----------|
| Dieta | | N | Mean Rank |
| 28dias <i>E. maxima</i> | Controle | 5 | 9,0 |
| | Probiótico | 5 | 9,0 |
| | Óleo essencial | 5 | 11,5 |
| | Antibiótico | 5 | 7,75 |
| Total | | 25 | |

| Test statistics ^{b,c} | | | |
|--------------------------------|-------------|-------------------|--|
| <i>E. Maxima 28 dias</i> | | | |
| Chi-square | | 9.704 | |
| df | | 3 | |
| Asymp. Sig. | | .046 | |
| Monte Carlo Sig. | | .036 ^a | |
| Sig. 99% Confidence Interval | Lower Bound | .031 | |
| | Upper Bound | .040 | |

a)Basead on 10000 sampled tables b) Kruskal Wallis Test, c) Grouping Variable: Dieta

| Rank | | | |
|----------------------------|----------------|----|-----------|
| Dieta | | N | Mean Rank |
| 21dias <i>E.acervulina</i> | Controle | 5 | 11,25 |
| | Probiótico | 5 | 11,25 |
| | Óleo essencial | 5 | 11,0 |
| | Antibiótico | 5 | 10,25 |
| Total | | 25 | |

| Test statistics ^{b,c} | | | |
|--------------------------------|-------------|-------|--|
| <i>E.acervulina 21 dias</i> | | | |
| Chi-square | | 2.787 | |
| df | | 3 | |
| Asymp. Sig. | | .426 | |
| Monte Carlo Sig. | | .672 | |
| Sig. 99% Confidence Interval | Lower Bound | .660 | |
| | Upper Bound | .684 | |

a)Basead on 10000 sampled tables b) Kruskal Wallis Test, c) Grouping Variable: Dieta

| Rank | | | |
|-----------------------------|----------------|----|-----------|
| Dieta | | N | Mean Rank |
| 28dias <i>E. acervulina</i> | Controle | 5 | 9,0 |
| | Probiótico | 5 | 9,0 |
| | Óleo essencial | 5 | 8,0 |
| | Antibiótico | 5 | 8,0 |
| Total | | 25 | |

| Test statistics ^{b,c} | | | |
|--------------------------------|-------------|--------------------|--|
| <i>E.acervulina</i> 28dias | | | |
| Chi-square | | 2.111 | |
| DF | | 3 | |
| Asymp. Sig. | | .550 | |
| Monte Carlo Sig. | | 1.000 ^a | |
| Sig. 99% Confidence Interval | Lower Bound | 1.000 | |
| | Upper Bound | 1.000 | |

a)Basead on 10000 sampled tables b) Kruskal Wallis Test, c) Grouping Variable: Dieta

2. Morfometria Intestinal do Íleo aos 21 e 28 dias para o Comprimento de vilo (CV), largura de vilo (LV), Altura de cripta (AC), número de vilo (NV) e relação vilo:cripta

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|----------------|------------------|-----|-----|------|
| CV_ íleo21dias | 1,118 | 3 | 16 | ,371 |
| LV_ íleo21dias | ,294 | 3 | 16 | ,829 |
| AC_ íleo21dias | 1,905 | 3 | 16 | ,169 |
| NV_ íleo21dias | ,106 | 3 | 16 | ,955 |
| VC_ íleo21dias | ,514 | 3 | 16 | ,678 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| CV_ íleo 21dias | Between Groups | 26084,371 | 3 | 8694,790 | 1,005 | ,416 |
| | Within Groups | 138487,456 | 16 | 8655,466 | | |
| | Total | 164571,827 | 19 | | | |
| LV_ íleo 21dias | Between Groups | 4095,368 | 3 | 1365,123 | ,774 | ,526 |
| | Within Groups | 28235,762 | 16 | 1764,735 | | |
| | Total | 32331,130 | 19 | | | |
| AC_ íleo 21dias | Between Groups | 2254,996 | 3 | 751,665 | 3,587 | ,037 |
| | Within Groups | 3352,683 | 16 | 209,543 | | |
| | Total | 5607,679 | 19 | | | |
| NV_ íleo 21dias | Between Groups | 22,871 | 3 | 7,624 | 1,638 | ,220 |
| | Within Groups | 74,448 | 16 | 4,653 | | |
| | Total | 97,319 | 19 | | | |
| VC_ íleo 21dias | Between Groups | 5,557 | 3 | 1,852 | 8,667 | ,001 |
| | Within Groups | 3,419 | 16 | ,214 | | |
| | Total | 8,976 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-----------------|------------------|-----|-----|------|
| CV_ íleo 28dias | ,231 | 3 | 16 | ,873 |
| LV_ íleo 28dias | 1,566 | 3 | 16 | ,237 |
| AC_ íleo 28dias | 1,971 | 3 | 16 | ,159 |
| NV_ íleo 28dias | 1,379 | 3 | 16 | ,285 |
| VC_ íleo 28dias | 1,453 | 3 | 16 | ,265 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| CV_ íleo 28dias | Between Groups | 316,184 | 3 | 105,395 | ,013 | ,998 |
| | Within Groups | 129167,032 | 16 | 8072,940 | | |
| | Total | 129483,216 | 19 | | | |
| LV_ íleo 28dias | Between Groups | 1360,260 | 3 | 453,420 | ,526 | ,671 |
| | Within Groups | 13804,367 | 16 | 862,773 | | |
| | Total | 15164,627 | 19 | | | |
| AC_ íleo 28dias | Between Groups | 5505,233 | 3 | 1835,078 | 6,491 | ,004 |
| | Within Groups | 4523,437 | 16 | 282,715 | | |
| | Total | 10028,670 | 19 | | | |
| NV_ íleo 28dias | Between Groups | 1,070 | 3 | ,357 | ,317 | ,813 |
| | Within Groups | 18,021 | 16 | 1,126 | | |
| | Total | 19,091 | 19 | | | |
| VC_ íleo 28dias | Between Groups | 1,287 | 3 | ,429 | 4,433 | ,019 |
| | Within Groups | 1,548 | 16 | ,097 | | |
| | Total | 2,835 | 19 | | | |

3. Desempenho Zootécnico**Test of Homogeneity of Variances-Ganho de Peso (GP)14-21 dias**

GP14_21dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,960 | 3 | 16 | ,161 |

ANOVA- Ganho de Peso 14-21 dias

GP14_21dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 7686,655 | 3 | 2562,218 | 11,135 | ,000 |
| Within Groups | 3681,541 | 16 | 230,096 | | |
| Total | 11368,195 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances- Consumo de ração (CR) 14-21 dias

CR14_21dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,690 | 3 | 16 | ,081 |

ANOVA- Consumo de ração (CR) 14-21 dias

CR14_21dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 8827,843 | 3 | 2942,614 | 8,153 | ,002 |
| Within Groups | 5774,942 | 16 | 360,934 | | |
| Total | 14602,784 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances- Conversão alimentar (CA) 14-21dias

CA14_21dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,114 | 3 | 16 | ,372 |

ANOVA - Conversão alimentar 14-21dias

CA14_21dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | ,010 | 3 | ,003 | 75,074 | ,000 |
| Within Groups | ,001 | 16 | ,000 | | |
| Total | ,011 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances – Ganho de Peso (GP) 21-28 dias

GP21_28dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,987 | 3 | 16 | ,157 |

ANOVA - Ganho de Peso 21-28 dias

GP21_28dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 455,493 | 3 | 151,831 | 1,010 | ,414 |
| Within Groups | 2404,231 | 16 | 150,264 | | |
| Total | 2859,724 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances – Consumo de ração (CR) 21-28 dias

CR21_28dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,644 | 3 | 16 | ,219 |

ANOVA- Consumo de ração 21-28 dias

CR21_28dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 974,997 | 3 | 324,999 | 1,101 | ,377 |
| Within Groups | 4721,426 | 16 | 295,089 | | |
| Total | 5696,423 | 19 | | | |

Test of Homogeneity of Variances- Conversão alimentar (CA) 21-28 dias

CA21_28dias

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,468 | 3 | 16 | ,261 |

ANOVA- Conversão alimentar 21-28 dias

CA21_28dias

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | ,009 | 3 | ,003 | 4,799 | ,014 |
| Within Groups | ,010 | 16 | ,001 | | |
| Total | ,019 | 19 | | | |

APÊNDICE E – Análises Estatística – Capítulo II

1. Desempenho Zootécnico de 1 a 21 e de 22 a 35 dias para as variáveis ganho de peso (GP), Consumo de ração (CR) e Conversão alimentar (CA)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: GP_1a21dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,581 | 7 | 32 | ,177 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.
a. Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: GP_1a21dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|--------------|-----------|------|
| Corrected Model | 4401,733(a) | 7 | 628,819 | ,713 | ,662 |
| Intercept | 34538271,103 | 1 | 34538271,103 | 39153,801 | ,000 |
| Energia | 4060,830 | 1 | 4060,830 | 4,603 | ,040 |
| Aditivo | 191,749 | 3 | 63,916 | ,072 | ,974 |
| Energia * Aditivo | 149,154 | 3 | 49,718 | ,056 | ,982 |
| Error | 28227,775 | 32 | 882,118 | | |
| Total | 34570900,610 | 40 | | | |
| Corrected Total | 32629,507 | 39 | | | |

a. R Squared = ,135 (Adjusted R Squared = -,054)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: CR_1a21dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,265 | 7 | 32 | ,963 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CR_1a21dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|--------------|-----------|------|
| Corrected Model | 5503,434(a) | 7 | 786,205 | ,719 | ,657 |
| Intercept | 60203762,397 | 1 | 60203762,397 | 55026,291 | ,000 |
| Energia | 4725,189 | 1 | 4725,189 | 4,319 | ,046 |
| Aditivo | 129,338 | 3 | 43,113 | ,039 | ,989 |
| Energia * Aditivo | 648,907 | 3 | 216,302 | ,198 | ,897 |
| Error | 35010,908 | 32 | 1094,091 | | |
| Total | 60244276,739 | 40 | | | |
| Corrected Total | 40514,342 | 39 | | | |

a R Squared = ,136 (Adjusted R Squared = -,053)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: CA_1a21dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,770 | 7 | 32 | ,616 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CA_1a21dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,026(a) | 7 | ,004 | 1,111 | ,380 |
| Intercept | 70,066 | 1 | 70,066 | 21192,012 | ,000 |
| Energia | ,024 | 1 | ,024 | 7,262 | ,011 |
| Aditivo | ,000 | 3 | ,000 | ,045 | ,987 |
| Energia * Aditivo | ,001 | 3 | ,000 | ,126 | ,944 |
| Error | ,106 | 32 | ,003 | | |
| Total | 70,198 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,132 | 39 | | | |

a R Squared = ,195 (Adjusted R Squared = ,020)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: GP_21a35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 2,065 | 7 | 32 | ,077 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: GP_21a35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|--------------|-----------|-------|
| Corrected Model | 137,897(a) | 7 | 19,700 | ,018 | 1,000 |
| Intercept | 51527774,207 | 1 | 51527774,207 | 48101,562 | ,000 |
| Energia | 49,107 | 1 | 49,107 | ,046 | ,832 |
| Aditivo | 24,041 | 3 | 8,014 | ,007 | ,999 |
| Energia * Aditivo | 64,750 | 3 | 21,583 | ,020 | ,996 |
| Error | 34279,319 | 32 | 1071,229 | | |
| Total | 51562191,423 | 40 | | | |
| Corrected Total | 34417,216 | 39 | | | |

a R Squared = ,004 (Adjusted R Squared = -,214)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: CR_21a35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,946 | 7 | 32 | ,094 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CR_21a35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|---------------|-----------|------|
| Corrected Model | 26216,507(a) | 7 | 3745,215 | 1,234 | ,314 |
| Intercept | 179867468,432 | 1 | 179867468,432 | 59248,703 | ,000 |
| Energia | 23965,431 | 1 | 23965,431 | 7,894 | ,008 |
| Aditivo | 1494,750 | 3 | 498,250 | ,164 | ,920 |
| Energia * Aditivo | 756,326 | 3 | 252,109 | ,083 | ,969 |
| Error | 97145,738 | 32 | 3035,804 | | |
| Total | 179990830,677 | 40 | | | |
| Corrected Total | 123362,245 | 39 | | | |

a R Squared = ,213 (Adjusted R Squared = ,040)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: CA_21a35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,270 | 7 | 32 | ,296 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CA_21a35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,023(a) | 7 | ,003 | 4,033 | ,003 |
| Intercept | 139,689 | 1 | 139,689 | 172989,551 | ,000 |
| Energia | ,022 | 1 | ,022 | 26,777 | ,000 |
| Aditivo | ,001 | 3 | ,000 | ,399 | ,754 |
| Energia * Aditivo | ,000 | 3 | 6,92E-005 | ,086 | ,967 |
| Error | ,026 | 32 | ,001 | | |
| Total | 139,738 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,049 | 39 | | | |

a R Squared = ,469 (Adjusted R Squared = ,353)

2.Morfometria intestinal – Peso Relativo (g) aos 14e 35 dias**Levene's Test of Equality of Error Variances(a)**

Dependent Variable: Peso_Moela_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,547 | 7 | 32 | ,793 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_Moela_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 14,484(a) | 7 | 2,069 | 5,562 | ,000 |
| Intercept | 10572,903 | 1 | 10572,903 | 28419,489 | ,000 |
| Energia | 13,995 | 1 | 13,995 | 37,618 | ,000 |
| Aditivo | ,455 | 3 | ,152 | ,407 | ,749 |
| Energia * Aditivo | ,035 | 3 | ,012 | ,031 | ,992 |
| Error | 11,905 | 32 | ,372 | | |
| Total | 10599,292 | 40 | | | |
| Corrected Total | 26,389 | 39 | | | |

a R Squared = ,549 (Adjusted R Squared = ,450)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_Intestino Anterior_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,398 | 7 | 32 | ,240 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_ Intestino Anterior_ 14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|-------|
| Corrected Model | ,482(a) | 7 | ,069 | ,046 | 1,000 |
| Intercept | 35214,136 | 1 | 35214,136 | 23445,846 | ,000 |
| Energia | ,001 | 1 | ,001 | ,001 | ,977 |
| Aditivo | ,107 | 3 | ,036 | ,024 | ,995 |
| Energia * Aditivo | ,374 | 3 | ,125 | ,083 | ,969 |
| Error | 48,062 | 32 | 1,502 | | |
| Total | 35262,680 | 40 | | | |
| Corrected Total | 48,544 | 39 | | | |

a R Squared = ,010 (Adjusted R Squared = -,207)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_ Íleo_ 14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,571 | 7 | 32 | ,774 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_ Íleo_ 14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|-------|
| Corrected Model | ,141(a) | 7 | ,020 | ,054 | 1,000 |
| Intercept | 6773,267 | 1 | 6773,267 | 18039,915 | ,000 |
| Energia | ,001 | 1 | ,001 | ,001 | ,969 |
| Aditivo | ,075 | 3 | ,025 | ,067 | ,977 |
| Energia * Aditivo | ,065 | 3 | ,022 | ,058 | ,981 |
| Error | 12,015 | 32 | ,375 | | |
| Total | 6785,422 | 40 | | | |
| Corrected Total | 12,156 | 39 | | | |

a R Squared = ,012 (Adjusted R Squared = -,205)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_ ceco esq_ 14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,931 | 7 | 32 | ,56 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_ceco esq_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 2,204(a) | 7 | ,315 | 4,247 | ,002 |
| Intercept | 192,809 | 1 | 192,809 | 2600,692 | ,000 |
| Energia | ,734 | 1 | ,734 | 9,906 | ,004 |
| Aditivo | ,746 | 3 | ,249 | 3,353 | ,031 |
| Energia * Aditivo | ,724 | 3 | ,241 | 3,254 | ,034 |
| Error | 2,372 | 32 | ,074 | | |
| Total | 197,385 | 40 | | | |
| Corrected Total | 4,576 | 39 | | | |

a. R Squared = ,544 (Adjusted R Squared = ,444)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_Moela_35_dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,615 | 7 | 32 | ,167 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_Moela_35_dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,165(a) | 7 | ,024 | ,644 | ,716 |
| Intercept | 1774,224 | 1 | 1774,224 | 48549,022 | ,000 |
| Energia | ,072 | 1 | ,072 | 1,977 | ,169 |
| Aditivo | ,027 | 3 | ,009 | ,244 | ,865 |
| Energia * Aditivo | ,066 | 3 | ,022 | ,600 | ,620 |
| Error | 1,169 | 32 | ,037 | | |
| Total | 1775,558 | 40 | | | |
| Corrected Total | 1,334 | 39 | | | |

a. R Squared = ,123 (Adjusted R Squared = -,068)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_IntestinoAnterior_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,148 | 7 | 32 | ,993 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_IntestinoAnterior_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,382(a) | 7 | ,055 | ,262 | ,964 |
| Intercept | 5071,279 | 1 | 5071,279 | 24361,823 | ,000 |
| Energia | ,016 | 1 | ,016 | ,079 | ,781 |
| Aditivo | ,101 | 3 | ,034 | ,162 | ,921 |
| Energia * Aditivo | ,265 | 3 | ,088 | ,424 | ,737 |
| Error | 6,661 | 32 | ,208 | | |
| Total | 5078,322 | 40 | | | |
| Corrected Total | 7,043 | 39 | | | |

a R Squared = ,054 (Adjusted R Squared = -,153)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_ileo_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,381 | 7 | 32 | ,907 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_ileo_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|----------|-------|
| Corrected Model | ,043(a) | 7 | ,006 | ,039 | 1,000 |
| Intercept | 1555,134 | 1 | 1555,134 | 9783,407 | ,000 |
| Energia | ,001 | 1 | ,001 | ,008 | ,928 |
| Aditivo | ,008 | 3 | ,003 | ,017 | ,997 |
| Energia * Aditivo | ,034 | 3 | ,011 | ,070 | ,975 |
| Error | 5,087 | 32 | ,159 | | |
| Total | 1560,264 | 40 | | | |
| Corrected Total | 5,130 | 39 | | | |

a R Squared = ,008 (Adjusted R Squared = -,208)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Peso_cecoEsq_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 2,130 | 7 | 32 | ,069 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Peso_cecoEsg_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,046(a) | 7 | ,007 | 2,261 | ,055 |
| Intercept | 72,496 | 1 | 72,496 | 25063,289 | ,000 |
| Energia | ,040 | 1 | ,040 | 13,940 | ,001 |
| Aditivo | ,000 | 3 | 6,92E-005 | ,024 | ,995 |
| Energia * Aditivo | ,005 | 3 | ,002 | ,605 | ,617 |
| Error | ,093 | 32 | ,003 | | |
| Total | 72,634 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,138 | 39 | | | |

a R Squared = ,331 (Adjusted R Squared = ,185)

3. Morfometria intestinal – Comprimento Relativo (cm) aos 14e 35 dias

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_IntestinoAnterior_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,096 | 7 | 32 | ,389 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_IntestinoAnterior_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 25,642(a) | 7 | 3,663 | ,142 | ,994 |
| Intercept | 980782,675 | 1 | 980782,675 | 37961,770 | ,000 |
| Energia | 1,525 | 1 | 1,525 | ,059 | ,810 |
| Aditivo | 22,186 | 3 | 7,395 | ,286 | ,835 |
| Energia * Aditivo | 1,931 | 3 | ,644 | ,025 | ,995 |
| Error | 826,754 | 32 | 25,836 | | |
| Total | 981635,071 | 40 | | | |
| Corrected Total | 852,396 | 39 | | | |

a R Squared = ,030 (Adjusted R Squared = -,182)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_Íleo_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,773 | 7 | 32 | ,614 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_Íleo_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|-------|
| Corrected Model | 12,595(a) | 7 | 1,799 | ,059 | 1,000 |
| Intercept | 482876,453 | 1 | 482876,453 | 15904,206 | ,000 |
| Energia | 1,455 | 1 | 1,455 | ,048 | ,828 |
| Aditivo | 8,114 | 3 | 2,705 | ,089 | ,966 |
| Energia * Aditivo | 3,026 | 3 | 1,009 | ,033 | ,992 |
| Error | 971,570 | 32 | 30,362 | | |
| Total | 483860,618 | 40 | | | |
| Corrected Total | 984,165 | 39 | | | |

a R Squared = ,013 (Adjusted R Squared = -,203)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_ceco_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,295 | 7 | 32 | ,951 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_ceco_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 29,278(a) | 7 | 4,183 | 5,366 | ,000 |
| Intercept | 15283,799 | 1 | 15283,799 | 19609,447 | ,000 |
| Energia | 10,889 | 1 | 10,889 | 13,971 | ,001 |
| Aditivo | 9,717 | 3 | 3,239 | 4,156 | ,014 |
| Energia * Aditivo | 8,672 | 3 | 2,891 | 3,709 | ,021 |
| Error | 24,941 | 32 | ,779 | | |
| Total | 15338,019 | 40 | | | |
| Corrected Total | 54,219 | 39 | | | |

a R Squared = ,540 (Adjusted R Squared = ,439)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_InterioAnterior_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,339 | 7 | 32 | ,265 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_InteriorAnterior_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 13,722(a) | 7 | 1,960 | 1,093 | ,391 |
| Intercept | 63989,600 | 1 | 63989,600 | 35686,751 | ,000 |
| Energia | 3,187 | 1 | 3,187 | 1,777 | ,192 |
| Aditivo | 10,110 | 3 | 3,370 | 1,880 | ,153 |
| Energia * Aditivo | ,425 | 3 | ,142 | ,079 | ,971 |
| Error | 57,379 | 32 | 1,793 | | |
| Total | 64060,701 | 40 | | | |
| Corrected Total | 71,101 | 39 | | | |

a R Squared = ,193 (Adjusted R Squared = ,016)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_Íleo_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 2,028 | 7 | 32 | ,082 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_Íleo_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 1,583(a) | 7 | ,226 | ,296 | ,951 |
| Intercept | 46495,352 | 1 | 46495,352 | 60819,678 | ,000 |
| Energia | ,005 | 1 | ,005 | ,006 | ,939 |
| Aditivo | ,437 | 3 | ,146 | ,190 | ,902 |
| Energia * Aditivo | 1,142 | 3 | ,381 | ,498 | ,686 |
| Error | 24,463 | 32 | ,764 | | |
| Total | 46521,398 | 40 | | | |
| Corrected Total | 26,046 | 39 | | | |

a R Squared = ,061 (Adjusted R Squared = -,145)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Comp_cecoEsq_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,909 | 7 | 32 | ,101 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Comp_cecoEsg_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,717(a) | 7 | ,102 | 1,842 | ,113 |
| Intercept | 1379,098 | 1 | 1379,098 | 24795,000 | ,000 |
| Energia | ,513 | 1 | ,513 | 9,224 | ,005 |
| Aditivo | ,162 | 3 | ,054 | ,968 | ,420 |
| Energia * Aditivo | ,043 | 3 | ,014 | ,255 | ,857 |
| Error | 1,780 | 32 | ,056 | | |
| Total | 1381,595 | 40 | | | |
| Corrected Total | 2,497 | 39 | | | |

a R Squared = ,287 (Adjusted R Squared = ,131)

4.pH do conteúdo do trato gastrointestinal aos 14 e 35 dias

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Moela_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,744 | 7 | 32 | ,637 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Moela_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 2,128(a) | 7 | ,304 | 91,813 | ,000 |
| Intercept | 493,717 | 1 | 493,717 | 149102,914 | ,000 |
| Energia | 2,121 | 1 | 2,121 | 640,424 | ,000 |
| Aditivo | ,002 | 3 | ,001 | ,242 | ,866 |
| Energia * Aditivo | ,005 | 3 | ,002 | ,514 | ,675 |
| Error | ,106 | 32 | ,003 | | |
| Total | 495,951 | 40 | | | |
| Corrected Total | 2,234 | 39 | | | |

a R Squared = ,953 (Adjusted R Squared = ,942)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Ileo_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,560 | 7 | 32 | ,782 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Íleo_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,009(a) | 7 | ,001 | ,547 | ,792 |
| Intercept | 1853,002 | 1 | 1853,002 | 763730,680 | ,000 |
| Energia | ,000 | 1 | ,000 | ,174 | ,679 |
| Aditivo | ,006 | 3 | ,002 | ,878 | ,463 |
| Energia * Aditivo | ,002 | 3 | ,001 | ,342 | ,795 |
| Error | ,078 | 32 | ,002 | | |
| Total | 1853,088 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,087 | 39 | | | |

a R Squared = ,107 (Adjusted R Squared = -,088)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Ceco_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,860 | 7 | 32 | ,548 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Ceco_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,465(a) | 7 | ,066 | 7,884 | ,000 |
| Intercept | 1432,211 | 1 | 1432,211 | 169995,319 | ,000 |
| Energia | ,443 | 1 | ,443 | 52,594 | ,000 |
| Aditivo | ,010 | 3 | ,003 | ,386 | ,763 |
| Energia * Aditivo | ,012 | 3 | ,004 | ,477 | ,700 |
| Error | ,270 | 32 | ,008 | | |
| Total | 1432,945 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,735 | 39 | | | |

a R Squared = ,633 (Adjusted R Squared = ,553)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Moela_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,508 | 7 | 32 | ,821 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Moela_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,018(a) | 7 | ,003 | ,922 | ,503 |
| Intercept | 578,284 | 1 | 578,284 | 207642,443 | ,000 |
| Energia | ,000 | 1 | ,000 | ,152 | ,699 |
| Aditivo | ,017 | 3 | ,006 | 1,995 | ,135 |
| Energia * Aditivo | ,001 | 3 | ,000 | ,106 | ,956 |
| Error | ,089 | 32 | ,003 | | |
| Total | 578,391 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,107 | 39 | | | |

a R Squared = ,168 (Adjusted R Squared = -,014)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Íleo_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,300 | 7 | 32 | ,282 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Íleo_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,013(a) | 7 | ,002 | ,378 | ,908 |
| Intercept | 1975,852 | 1 | 1975,852 | 415968,826 | ,000 |
| Energia | 6,25E-005 | 1 | 6,25E-005 | ,013 | ,909 |
| Aditivo | ,009 | 3 | ,003 | ,624 | ,605 |
| Energia * Aditivo | ,004 | 3 | ,001 | ,255 | ,858 |
| Error | ,152 | 32 | ,005 | | |
| Total | 1976,017 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,165 | 39 | | | |

a R Squared = ,076 (Adjusted R Squared = -,126)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: pH_Ceco_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,352 | 7 | 32 | ,923 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH_Ceco_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | ,030(a) | 7 | ,004 | ,547 | ,792 |
| Intercept | 1558,378 | 1 | 1558,378 | 198709,305 | ,000 |
| Energia | ,002 | 1 | ,002 | ,232 | ,633 |
| Aditivo | ,026 | 3 | ,009 | 1,111 | ,359 |
| Energia * Aditivo | ,002 | 3 | ,001 | ,088 | ,966 |
| Error | ,251 | 32 | ,008 | | |
| Total | 1558,659 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,281 | 39 | | | |

a R Squared = ,107 (Adjusted R Squared = -,089)

APÊNDICE F – Análises Estatística– Capítulo IV**1. Metabolizabilidade de parâmetros de dietas de frango aos 14 dias****Levene's Test of Equality of Error Variances(a) – Metaboliz. Matéria seca (CMA_MS)**

Dependent Variable: CMA_MS_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,740 | 7 | 32 | ,640 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CMA_MS_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 132,031(a) | 7 | 18,862 | 48,783 | ,000 |
| Intercept | 209392,476 | 1 | 209392,476 | 541564,363 | ,000 |
| Energia | 116,554 | 1 | 116,554 | 301,451 | ,000 |
| Aditivo | 8,394 | 3 | 2,798 | 7,236 | ,001 |
| Energia * Aditivo | 7,083 | 3 | 2,361 | 6,106 | ,002 |
| Error | 12,373 | 32 | ,387 | | |
| Total | 209536,879 | 40 | | | |
| Corrected Total | 144,403 | 39 | | | |

a R Squared = ,914 (Adjusted R Squared = ,896)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)- Metaboliz. Da Energia (CMA_EB)

Dependent Variable: CMA_EB_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,505 | 7 | 32 | ,824 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CMA_EB_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 156,384(a) | 7 | 22,341 | 51,601 | ,000 |
| Intercept | 226692,170 | 1 | 226692,170 | 523595,936 | ,000 |
| Energia | 136,826 | 1 | 136,826 | 316,030 | ,000 |
| Aditivo | 9,839 | 3 | 3,280 | 7,575 | ,001 |
| Energia * Aditivo | 9,719 | 3 | 3,240 | 7,483 | ,001 |
| Error | 13,854 | 32 | ,433 | | |
| Total | 226862,408 | 40 | | | |
| Corrected Total | 170,239 | 39 | | | |

a R Squared = ,919 (Adjusted R Squared = ,901)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a) – Metaboliz. da Protina bruta (CMA_PB)

Dependent Variable: CMA_PB_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,312 | 7 | 32 | ,277 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CMA_PB_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 56,433(a) | 7 | 8,062 | 16,741 | ,000 |
| Intercept | 175440,621 | 1 | 175440,621 | 364317,263 | ,000 |
| Energia | 31,471 | 1 | 31,471 | 65,352 | ,000 |
| Aditivo | 13,130 | 3 | 4,377 | 9,089 | ,000 |
| Energia * Aditivo | 11,832 | 3 | 3,944 | 8,190 | ,000 |
| Error | 15,410 | 32 | ,482 | | |
| Total | 175512,464 | 40 | | | |
| Corrected Total | 71,842 | 39 | | | |

a R Squared = ,786 (Adjusted R Squared = ,739)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)- Energia metabolizável aparente (EMA)

Dependent Variable: EMA_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,545 | 7 | 32 | ,794 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: EMA_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|---------------|------------|------|
| Corrected Model | 460479,975(a) | 7 | 65782,854 | 85,369 | ,000 |
| Intercept | 399898140,625 | 1 | 399898140,625 | 518960,699 | ,000 |
| Energia | 427042,225 | 1 | 427042,225 | 554,186 | ,000 |
| Aditivo | 17617,875 | 3 | 5872,625 | 7,621 | ,001 |
| Energia * Aditivo | 15819,875 | 3 | 5273,292 | 6,843 | ,001 |
| Error | 24658,400 | 32 | 770,575 | | |
| Total | 400383279,000 | 40 | | | |
| Corrected Total | 485138,375 | 39 | | | |

a R Squared = ,949 (Adjusted R Squared = ,938)

2.Comparação entre Metabolizabilidade (coleta total de excreta) e Digestibilidade (coleta ileal da digesta) de parâmetros das dietas de frangos aos 35 dias

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Matéria Seca

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,137 | 15 | 64 | ,344 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Método_Coleta +Método_Coleta * Nível_Energia+Método_Coleta * Aditivos+Nível_Energia * Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Matéria Seca

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--|-------------------------|----|-------------|-------------|------|
| Corrected Model | 166,531(a) | 15 | 11,102 | 39,544 | ,000 |
| Intercept | 443896,339 | 1 | 443896,339 | 1581101,914 | ,000 |
| Método_Coleta | 14,973 | 1 | 14,973 | 53,332 | ,000 |
| Método_Coleta * Nível_Energia | 54,170 | 1 | 54,170 | 192,946 | ,000 |
| Método_Coleta * Aditivos | ,133 | 3 | ,044 | ,158 | ,924 |
| Nível_Energia * Aditivos | ,052 | 3 | ,017 | ,061 | ,980 |
| Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos | ,136 | 3 | ,045 | ,162 | ,922 |
| Error | 17,968 | 64 | ,281 | | |
| Total | 444080,838 | 80 | | | |
| Corrected Total | 184,499 | 79 | | | |

a R Squared = ,903 (Adjusted R Squared = ,880)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: Proteína bruta

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,635 | 15 | 64 | ,089 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Método_Coleta+Nível_Energia+Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia+Método_Coleta * Aditivos+Nível_Energia * Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Proteína bruta

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 118,231(a) | 15 | 7,882 | 7,654 | ,000 |
| Intercept | 402163,234 | 1 | 402163,234 | 390534,105 | ,000 |
| Método_Coleta | 2,398 | 1 | 2,398 | 2,328 | ,132 |
| Nível_Energia | 88,937 | 1 | 88,937 | 86,365 | ,000 |
| Aditivos | 2,402 | 3 | ,801 | ,777 | ,511 |
| Método_Coleta * Nível_Energia | 15,940 | 1 | 15,940 | 15,479 | ,000 |
| Método_Coleta * Aditivos | 2,303 | 3 | ,768 | ,745 | ,529 |
| Nível_Energia * Aditivos | 2,385 | 3 | ,795 | ,772 | ,514 |
| Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos | 3,867 | 3 | 1,289 | 1,252 | ,298 |
| Error | 65,906 | 64 | 1,030 | | |
| Total | 402347,371 | 80 | | | |
| Corrected Total | 184,137 | 79 | | | |

a R Squared = ,642 (Adjusted R Squared = ,558)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)

Dependent Variable: CDA_EB

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,585 | 15 | 64 | ,876 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Método_Coleta+Nível_Energia+Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia+Método_Coleta * Aditivos+Nível_Energia * Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CDA_EB

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--|-------------------------|----|-------------|-------------|------|
| Corrected Model | 230,802(a) | 15 | 15,387 | 38,312 | ,000 |
| Intercept | 474762,083 | 1 | 474762,083 | 1182108,433 | ,000 |
| Método_Coleta | 18,499 | 1 | 18,499 | 46,061 | ,000 |
| Nível_Energia | 162,137 | 1 | 162,137 | 403,703 | ,000 |
| Aditivos | ,222 | 3 | ,074 | ,185 | ,907 |
| Método_Coleta * Nível_Energia | 48,813 | 1 | 48,813 | 121,538 | ,000 |
| Método_Coleta * Aditivos | ,183 | 3 | ,061 | ,152 | ,928 |
| Nível_Energia * Aditivos | ,748 | 3 | ,249 | ,621 | ,604 |
| Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos | ,200 | 3 | ,067 | ,166 | ,919 |
| Error | 25,704 | 64 | ,402 | | |
| Total | 475018,589 | 80 | | | |
| Corrected Total | 256,506 | 79 | | | |

a R Squared = ,900 (Adjusted R Squared = ,876)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a) –Energia metabolizável aparente (EMA)

Dependent Variable: EMA

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,597 | 15 | 64 | ,866 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Método_Coleta+ Método_Coleta * Nível_Energia+Método_Coleta * Aditivos+Nível_Energia * Aditivos+Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos

Tests of Between-Subjects Effects-Energia metabolizável aparente (EMA)

Dependent Variable: EMA

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--|-------------------------|----|---------------|-------------|------|
| Corrected Model | 638179,800(a) | 15 | 42545,320 | 53,908 | ,000 |
| Intercept | 931803609,800 | 1 | 931803609,800 | 1180656,479 | ,000 |
| Método_Coleta | 108928,800 | 1 | 108928,800 | 138,020 | ,000 |
| Método_Coleta * Nível_Energia | 29799,200 | 1 | 29799,200 | 37,758 | ,000 |
| Método_Coleta * Aditivos | 353,600 | 3 | 117,867 | ,149 | ,930 |
| Nível_Energia * Aditivos | 1478,800 | 3 | 492,933 | ,625 | ,602 |
| Método_Coleta * Nível_Energia * Aditivos | 412,400 | 3 | 137,467 | ,174 | ,913 |
| Error | 50510,400 | 64 | 789,225 | | |
| Total | 932492300,000 | 80 | | | |
| Corrected Total | 688690,200 | 79 | | | |

a R Squared = ,927 (Adjusted R Squared = ,909)

3. Produção de resíduos de frangos de corte (11-14 e 32-35 dias)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Produção de dejetos na material natural (PD_MN)

Dependent Variable: PD_MN_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,205 | 7 | 32 | ,982 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PD_MN_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 19437,600(a) | 7 | 2776,800 | 212,956 | ,000 |
| Intercept | 1587245,520 | 1 | 1587245,520 | 121727,607 | ,000 |
| Energia | 19316,465 | 1 | 19316,465 | 1481,401 | ,000 |
| Aditivo | 105,602 | 3 | 35,201 | 2,700 | ,062 |
| Energia * Aditivo | 15,533 | 3 | 5,178 | ,397 | ,756 |
| Error | 417,258 | 32 | 13,039 | | |
| Total | 1607100,378 | 40 | | | |
| Corrected Total | 19854,858 | 39 | | | |

a R Squared = ,979 (Adjusted R Squared = ,974)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)- Produção de dejetos na material seca (PD_MS)

Dependent Variable: PD_MS_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,020 | 7 | 32 | ,436 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PD_MS_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 606,249(a) | 7 | 86,607 | 66,243 | ,000 |
| Intercept | 106931,111 | 1 | 106931,111 | 81788,662 | ,000 |
| Energia | 528,893 | 1 | 528,893 | 404,535 | ,000 |
| Aditivo | 45,082 | 3 | 15,027 | 11,494 | ,000 |
| Energia * Aditivo | 32,274 | 3 | 10,758 | 8,229 | ,000 |
| Error | 41,837 | 32 | 1,307 | | |
| Total | 107579,196 | 40 | | | |
| Corrected Total | 648,086 | 39 | | | |

a R Squared = ,935 (Adjusted R Squared = ,921)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Excreção de água (EXC_H2O)

Dependent Variable: Exc_H2O_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,144 | 7 | 32 | ,994 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Exc_H2O_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------|
| Corrected Model | 13496,140(a) | 7 | 1928,020 | 239,374 | ,000 |
| Intercept | 870211,650 | 1 | 870211,650 | 108041,621 | ,000 |
| Energia | 13452,390 | 1 | 13452,390 | 1670,189 | ,000 |
| Aditivo | 32,765 | 3 | 10,922 | 1,356 | ,274 |
| Energia * Aditivo | 10,984 | 3 | 3,661 | ,455 | ,716 |
| Error | 257,741 | 32 | 8,054 | | |
| Total | 883965,531 | 40 | | | |
| Corrected Total | 13753,881 | 39 | | | |

a R Squared = ,981 (Adjusted R Squared = ,977)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Coeficiente de residuo (CR)

Dependent Variable: CR_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,302 | 7 | 32 | ,281 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CR_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,030(a) | 7 | ,004 | 60,501 | ,000 |
| Intercept | 4,725 | 1 | 4,725 | 67402,020 | ,000 |
| Energia | ,027 | 1 | ,027 | 379,533 | ,000 |
| Aditivo | ,002 | 3 | ,001 | 8,255 | ,000 |
| Energia * Aditivo | ,001 | 3 | ,000 | 6,403 | ,002 |
| Error | ,002 | 32 | 7,01E-005 | | |
| Total | 4,757 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,032 | 39 | | | |

a R Squared = ,930 (Adjusted R Squared = ,914)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Excreção de nitrogênio (Exc_N)

Dependent Variable: Exc_N_14dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| ,575 | 7 | 32 | ,771 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Exc_N_14dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,081(a) | 7 | ,012 | 42,578 | ,000 |
| Intercept | 26,909 | 1 | 26,909 | 98793,870 | ,000 |
| Energia | ,048 | 1 | ,048 | 177,386 | ,000 |
| Aditivo | ,019 | 3 | ,006 | 23,806 | ,000 |
| Energia * Aditivo | ,013 | 3 | ,004 | 16,414 | ,000 |
| Error | ,009 | 32 | ,000 | | |
| Total | 26,999 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,090 | 39 | | | |

a R Squared = ,903 (Adjusted R Squared = ,882)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Produção de dejetto na material seca (PD_MN)

Dependent Variable: PD_MN_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,139 | 7 | 32 | ,364 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PD_MN_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 110825,456(a) | 7 | 15832,208 | 153,980 | ,000 |
| Intercept | 8579372,100 | 1 | 8579372,100 | 83440,950 | ,000 |
| Energia | 110657,776 | 1 | 110657,776 | 1076,231 | ,000 |
| Aditivo | 158,098 | 3 | 52,699 | ,513 | ,677 |
| Energia * Aditivo | 9,581 | 3 | 3,194 | ,031 | ,992 |
| Error | 3290,230 | 32 | 102,820 | | |
| Total | 8693487,785 | 40 | | | |
| Corrected Total | 114115,685 | 39 | | | |

a R Squared = ,971 (Adjusted R Squared = ,965)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Produção de dejetos na material seca (PD_MS)

Dependent Variable: PD_MS_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,950 | 7 | 32 | ,094 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PD_MS_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 4627,333(a) | 7 | 661,048 | 122,715 | ,000 |
| Intercept | 505220,024 | 1 | 505220,024 | 93787,306 | ,000 |
| Energia | 4604,458 | 1 | 4604,458 | 854,756 | ,000 |
| Aditivo | 14,890 | 3 | 4,963 | ,921 | ,442 |
| Energia * Aditivo | 7,985 | 3 | 2,662 | ,494 | ,689 |
| Error | 172,380 | 32 | 5,387 | | |
| Total | 510019,737 | 40 | | | |
| Corrected Total | 4799,713 | 39 | | | |

a R Squared = ,964 (Adjusted R Squared = ,956)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)- Excreção de água (Exc_H2O)

Dependent Variable: Exc_H2O_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,456 | 7 | 32 | ,218 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Exc_H2O_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 70017,193(a) | 7 | 10002,456 | 115,573 | ,000 |
| Intercept | 4922418,584 | 1 | 4922418,584 | 56875,833 | ,000 |
| Energia | 69908,829 | 1 | 69908,829 | 807,758 | ,000 |
| Aditivo | 83,879 | 3 | 27,960 | ,323 | ,809 |
| Energia * Aditivo | 24,485 | 3 | 8,162 | ,094 | ,963 |
| Error | 2769,496 | 32 | 86,547 | | |
| Total | 4995205,273 | 40 | | | |
| Corrected Total | 72786,689 | 39 | | | |

a R Squared = ,962 (Adjusted R Squared = ,954)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Coeficiente de residuo (CR)

Dependent Variable: CR_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,852 | 7 | 32 | ,111 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CR_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,060(a) | 7 | ,009 | 75,547 | ,000 |
| Intercept | 7,916 | 1 | 7,916 | 69595,876 | ,000 |
| Energia | ,060 | 1 | ,060 | 528,080 | ,000 |
| Aditivo | 6,69E-005 | 3 | 2,23E-005 | ,196 | ,898 |
| Energia * Aditivo | 1,81E-005 | 3 | 6,03E-006 | ,053 | ,984 |
| Error | ,004 | 32 | ,000 | | |
| Total | 7,979 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,064 | 39 | | | |

a R Squared = ,943 (Adjusted R Squared = ,930)

Levene's Test of Equality of Error Variances(a)-Excreção de Nitrogênio (Exc_N)

Dependent Variable: Exc_N_35dias

| F | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1,481 | 7 | 32 | ,209 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a Design: Intercept+Energia+Aditivo+Energia * Aditivo

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Exc_N_35dias

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | ,522(a) | 7 | ,075 | 18,297 | ,000 |
| Intercept | 89,889 | 1 | 89,889 | 22052,638 | ,000 |
| Energia | ,500 | 1 | ,500 | 122,604 | ,000 |
| Aditivo | ,012 | 3 | ,004 | ,969 | ,419 |
| Energia * Aditivo | ,010 | 3 | ,003 | ,857 | ,473 |
| Error | ,130 | 32 | ,004 | | |
| Total | 90,542 | 40 | | | |
| Corrected Total | ,653 | 39 | | | |

a R Squared = ,800 (Adjusted R Squared = ,756)

APÊNCIDE G- Composição do probiótico

SIPE 2000 - Rótulo do produto

Page 1 of 2



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA
SUPERINTENDÊNCIA FEDERAL DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Croquis de Rótulo

CRINA POULTRY

Aditivo aromatizante

Indicação do produto:

Aditivo aromatizante destinado a auxiliar na melhora do desempenho de aves de corte. Uso exclusivo para fabricante de produtos destinados à alimentação animal.

Composição básica do produto:

ACIDO TÂNICO, CELULOSE EM PO, CARBONATO DE CALCIO, HIDROXIDO DE TOLUENO BUTILADO (B.H.T.), SEMOLA DE TRIGO, PROTEINA CONCENTRADA DE SORO DE LEITE, DIOXIDO DE SILICIO, OLEO ESSENCIAL DE CRAVO, OLEO ESSENCIAL DE TOMILHO

Eventuais substitutivos:

Níveis de garantia do produto:

| | |
|-----------------|---------------|
| OLEO DE TOMILHO | 150,0000 g/kg |
| Oleo de Cravo | 70,0000 g/kg |

Modo de usar:

Ração inicial: de 100 a 150 mg/kg. Ração Crescimento e ração acabamento: de 50 a 100 mg/kg.

Data de fabricação:

Prazo de validade: 12 meses após a fabricação

Modo de conservação:

Conservar em local seco e fresco, até 25 graus C.

Empresa Importadora:

CNPJ: 004.578.257/0001-86

Inscrição Estadual: 116197209116

Razão Social: DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda.

Endereço: AVENIDA ENGENHEIRO BILLINGS, 1729 - PREDIO 9

5.VITA

Ione Iolanda dos Santos, filha de Alcides Bento dos Santos e Iolanda Cândida dos Santos, nasceu na cidade de Florianópolis, SC, em março de 1969.

Cursou o Ensino Fundamental na Escola Básica Prof. Acácio Garibaldi São Tiago e o Ensino Médio no Instituto Estadual de Educação em Florianópolis, SC.

Ingressou na Universidade Federal de Santa Catarina, SC, em março de 1989, graduando-se em Engenheira Agrônoma.

Em março de 2000 iniciou seus estudos de Mestrado na Universidade Federal de Santa Catarina, SC e em abril de 2002 recebeu o título de Mestre em agroecossistemas.

Em agosto de 2006 ingressou no curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)