UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPEIOR DO OESTE – CEO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA- PPGZOO

RODRIGO VILLANI

USO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMO FERRAMENTAS NUTRICIONAIS
PARA MINIMIZAR IMPACTOS GERADOS POR ONDAS DE CALOR EM
GALINHAS POEDEIRAS.

CHAPECÓ 2022

RODRIGO VILLANI

USO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMO FERRAMENTAS NUTRICIONAIS PARA MINIMIZAR IMPACTOS GERADOS POR ONDAS DE CALOR EM GALINHAS POEDEIRAS.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Orientador: Prof. Dr. Marcel Manente Boiago.

CHAPECÓ 2022

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CEO/UDESC, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Villani, Rodrigo

Uso de aditivos alimentares como ferramentas nutricionais para minimizar impactos gerados por ondas de calor em galinhas poedeiras / Rodrigo Villani. -- 2022. 56 p.

Orientador: Marcel Manente Boiago Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2022.

Alcalose respiratória.
 Intestino.
 Permeabilidade.
 Qualidade de ovos.
 Manente Boiago, Marcel.
 Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
 III. Título.

RODRIGO VILLANI

USO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMO FERRAMENTAS NUTRICIONAIS PARA MINIMIZAR IMPACTOS GERADOS POR ONDAS DE CALOR EM GALINHAS POEDEIRAS.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Orientador: Prof. Dr. Marcel Manente Boiago.

BANCA EXAMINADORA

Membros:

Marcel Manente Boiago, Dr UDESC Oeste

Tiago Goulart Petrolli, Dr UNOESC Xanxerê

Paulo Henrique Pelissari, Dr Seara Alimentos

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade em poder realizar a pósgraduação. Agradeço a toda a minha família, Mariluci, Valmir, Renan e Gabrieli, pelo apoio incondicional. Agradeço aos meus amigos que de forma direta e indireta me auxiliaram nesta caminhada. Agradeço a todos os alunos do grupo GEAVI, por me auxiliarem no experimento. Boa parte do meu trabalho devo a vocês.

Agradeço a empresa Vetanco do Brasil Ltda, por disponibilizar seus produtos para teste.

Por fim, agradeço imensamente ao meu professor orientador Marcel Boiago! Com toda a certeza posso afirmar, que sem você este trabalho não seria desenvolvido.

"É no balançar da carroça, que as abóboras se colocam." (autor desconhecido).

RESUMO

A busca por melhorias em ambiência é assunto recorrente dentro da produção animal. Os efeitos adversos que o ambiente pode causar nos animais, induz a perdas de produção e aumento de custos. O estresse térmico rotineiramente acomete milhares de animais em produção, e seus efeitos deletérios, além de prejudicarem a saúde, influenciam na qualidade do alimento produzido. O setor produtivo nacional, em sua maioria, ainda trabalha com sistemas de produção convencionais, sem uso de tecnologia, principalmente no controle das condições ambientais de criação, o que possibilita alterações bruscas de temperatura conforme o clima da região onde as aves são criadas. Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso de produtos compostos por probióticos, prebióticos, suas combinações e bicarbonato de sódio sobre o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, parâmetros bioquímicos sanguíneos e permeabilidade intestinal de galinhas poedeiras semipesadas desafiadas por ondas de calor de 37 graus Celsius por três dias consecutivos (oito horas ao dia). Foram utilizadas 120 aves semipesadas da linhagem Isa Brown com 30 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualisado (DIC) com cinco tratamentos e cinco repetições de quatro aves cada (gaiolas metálicas). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 X 2 + 1 (cinco tratamentos X 2 momentos – antes e após o período de estresse + tratamento controle). Os tratamentos consistiram em: Controle negativo - aves alimentadas com dieta basal livres de estresse termico; Controle positivo - aves alimentadas com dieta basal e estressadas termicamente; PROB – dieta basal mais a adição de probióticos (300g/ton); PREB - dieta basal com adição de prebióticos (1000g/ton); PROB+PREB –dieta basal com adição de probióticos (300g/ton) + prebióticos (1000g/ton); BIC dieta basal com adição de 0,5% de bicarbonato de sódio. Foram avaliados parâmetros produtivos de consumo de ração, porcentagem de produção, massa de ovos e conversão alimentar (kg/kg e kg/dz). Para qualidade dos ovos foram avaliados gravidade específica, resistência, cor e espessura da casca, pH da gema e albúmen, unidade Haugh, índice e cor de gema, e porcentagens de casca, gema e albúmen. Foram avaliados também parâmetros sanguíneos de proteína total, superóxido dismutase, glutationa peroxidase, glutationa-S-transferase e peroxidação lipídica, além da permeabilidade intestinal. As ondas de calor ocasionaram pioras nas variáveis de desempenho e nos índices qualitativos dos ovos, além de maior estresse

oxidativo nas aves, observado por meio da maior atividade da enzima superóxido dismutase. A utilização da associação de probióticos + prebióticos e bicarbonato de sódio minimizou os efeitos negativos causados pelas ondas de calor sobre a integridade intestinal, o que refletiu sobre a qualidade dos ovos. A combinação de prebióticos + probióticos melhorou a conversão alimentar das aves.

Palavras-chave: Alcalose respiratória; Intestino; Permeabilidade; Qualidade de ovos.

ABSTRACT

The search for improvements in ambience is a recurring subject within animal production. The adverse effects that the environment can cause on animals lead to production losses and increased costs. Heat stress routinely affects thousands of animals in production, and its deleterious effects, in addition to harming health, influence the quality of the food produced. The national productive sector, for the most part, still works with conventional production systems, without the use of technology, mainly in the control of environmental conditions of creation, which allows sudden changes in temperature according to the climate of the region where the birds are raised. Therefore, the objective of this research was to evaluate the use of products composed of probiotics, prebiotics, their combinations and sodium bicarbonate on zootechnical performance, egg quality, blood biochemical parameters and intestinal permeability of laying hens challenged by heat waves of 37 degrees Celsius for three consecutive days (eight hours a day). A total of 120 semi-heavy birds of the Isa Brown strain at 30 weeks of age were used, distributed in a completely randomized design (DIC) with five treatments and five replications of four birds each (metal cages). A completely randomized design was used in a 5 X 2 + 1 factorial scheme (five treatments X 2 moments - before and after the stress period + control treatment). The treatments consisted of: Negative control - birds fed a basal diet free from heat stress; Positive control - birds fed a basal diet and thermally stressed; PROB – basal diet plus the addition of probiotics (300g/ton); PREB - basal diet with addition of prebiotics (1000g/ton); PROB+PREB - basal diet with addition of probiotics (300g/ton) + prebiotics (1000g/ton); BIC - basal diet with the addition of 0.5% sodium bicarbonate. Production parameters of feed intake, production percentage, egg mass and feed conversion (kg/kg and kg/dz) were evaluated. For egg quality, specific gravity, strength, shell color and thickness, yolk and albumen pH, Haugh unit, yolk index and color, and shell, yolk and albumen percentages were evaluated. Blood parameters of total protein, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase and lipid peroxidation were also evaluated, in addition to intestinal permeability. Heat waves caused worsening of performance variables and qualitative indices of eggs, in addition to greater oxidative stress in birds, observed through increased activity of the enzyme superoxide dismutase. The use of the association of probiotics + prebiotics and sodium bicarbonate minimized the negative effects caused by hot flashes on

intestinal integrity, which reflected on the quality of the eggs. The combination of prebiotics + probiotics improved the feed conversion of the birds.

Keywords: Egg quality; Intestine; Permeability; Respiratory alkalosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura	1-	Efeitos	do	estresse	por	calor	em	características	comportamentais,
		fisiológi	cas,	neuroend	ócrina	as e de	prod	dução	20
Figura	2 - \	/alores o	btid	os para pe	rmea	bilidad	e Inte	estinal das aves	submetidas ou não
		ao estre	esse	pelo calo	e al	imenta	das d	com dietas com	diferentes aditivos.
									39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição (g/kg) e atendimento das exigências das dietas utilizadas33
Tabela 2 - Valores médios obtidos nos 3 ciclos de produção para consumo de ração
(g/ave/dia), porcentagem de produção, massa de ovos (g/ave/dia) e conversão
alimentar (kg/kg e kg/dz de galinhas poedeiras semipesadas submetidas ou não ao
estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos35
Tabela 3 - Valores médios obtidos durante os 3 dias de estresse para consumo de
ração (g/ave/dia), porcentagem de produção, massa de ovos (g/ave/dia) e conversão
alimentar (kg/kg e kg/dz de galinhas poedeiras semipesadas submetidas ou não ao
estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos, durante o
período de estresse pelo calor
Tabela 4 - Valores médios obtidos nos três ciclos produtivos para gravidade específica
(GE), espessura (EC, mm) e resistência da casca (RC, kgf) e porcentagens de casca
(PC), gema (PG) e albúmen (PA) dos ovos oriundos das aves submetidas ou não ao
estresse pelo calor e alimentadas com diferentes aditivos37
Tabela 5 - Valores médios obtidos para pH da gema (pH G), pH do albúmen (pH A),
unidade haugh (UH), índice de gema (IG) e leque colorimétrico, dos ovos oriundos
das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com
diferentes aditivos
Tabela 6 - Valores médios obtidos para luminosidade (L*), intensidade de vermelho
(a*) e intensidade de amarelo (b*) das gemas e das cascas dos ovos oriundos das
aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com
diferentes aditivos
Tabela 7 - Valores médios obtidos para proteína (PT, mg/mL), superóxido dismutase
(SOD, U/mL), glutationa peroxidase (GPx, U/mg proteína), glutationa-S-transferase
(GST, U/mg proteína) e peroxidação lipídica (LPO, nmol/mL) do soro das aves
submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes
aditivos40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 ESTRESSE TÉRMICO	17
2.1.1 Estresse térmico e produção de ovos	20
2.2 SUPLEMENTAÇÃO COM ELETRÓLITOS	21
2.3 PROBIÓTICOS	23
2.4 PREBIÓTICOS	25
3. ARTIGO 1. USO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMO	FERRAMENTAS
NUTRICIONAIS PARA MINIMIZAR IMPACTOS GERADOS F	ELO ESTRESSE
TÉRMICO EM GALINHAS POEDEIRAS	28
3.1 INTRODUÇÃO	28
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.2.1 Animais e Tratamentos	32
3.2.2 Período de avaliação e variáveis de desempenho	33
3.2.3 Variáveis físicas e química dos ovos	34
3.2.4 Variáveis sanguíneas e intestinais	34
3.2.5 Análise estatística	35
3.3 RESULTADOS	35
3.4 DISCUSSÃO	40
3.5 CONCLUSÃO	45
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO A - COMPROVANTE DO CELIA	55

1. INTRODUÇÃO

A avicultura de postura vem apresentando desenvolvimento significativo, adequando se as novas tecnologias de produção, passando de uma atividade de subsistência, para um setor que está em constante expansão com grande representatividade na produção de alimentos a nível nacional. Conforme dados da ABPA (2022), nos últimos 10 anos, a produção de ovos no território brasileiro saltou de 28 milhões para quase 55 milhões de unidades produzidas ao ano, alavancando o consumo per capita em mais de 50 %.

Aliado a maior demanda dos ovos, a busca por melhorias em ambiência, sanidade e nutrição tornam se cada vez mais imprescindíveis para a otimização e desenvolvimento da cadeia avícola. Já é de conhecimento, que o ambiente de criação, além de ter influência direta na fisiologia dos animais, também reflete no desempenho produtivo.

O estresse térmico, é um dos desafios ambientais mais comuns para as aves, afetando negativamente a saúde, o bem-estar e a produtividade das aves (ROSTAGNO, 2020). Desta forma, os produtores devem ter atenção especial no controle da temperatura das instalações de acordo com as exigências das aves, principalmente em períodos mais quentes. Devido à grande produtividade das linhagens comercias utilizadas hoje, a taxa metabólica das aves se torna mais elevada, produzindo assim mais calor corporal (WASTI, 2020).

Nas regiões tropicais e subtropicais, não há dúvida de que os efeitos do aquecimento global são uma ameaça significativa para o desenvolvimento da indústria avícola. Estudos recentes mostraram que os lotes de aves expostos ao estresse térmico crônico (mais de 30°C), têm baixa eficiência de produção, bem como alta morbidade e mortalidade, levando a grandes perdas econômicas nas granjas avícolas (DOSOKY et al., 2021). Dentre as formas de mitigar o excesso de calor corporal, as aves utilizam o resfriamento evaporativo a partir da ofegação (HASSANI; DARAJI; HASSAN, 2001).

Além do distúrbio bioquímico, o estresse por calor induz a uma redução significativa no consumo de ração, para assim produzir menos calor metabólico. Como uma cascata de efeitos, a redução no consumo de ração, reduz a ingestão de cálcio e fósforo, induzindo ao decréscimo da produção de ovos em quantidade e principalmente em qualidade (LARA; ROSTAGNO, 2013).

Estudos recentes concentram se nas influências deletérias do estresse calórico no comportamento, bem-estar e reprodução das aves. As principais estratégias para mitigar o estresse térmico em granjas avícolas incluem suplementos alimentares e diversos manejos, porem os resultados ainda não são consistentes (SAEED et al., 2019).

Com base no exposto, torna se necessária a busca contínua por novas ferramentas nutricionais que visem minimizar os efeitos deletérios do estresse térmico em aves. Frente a isto, este estudo visa avaliar o uso de *Bacillus Subtilis*, lisado de parede de leveduras e bicarbonato de sódio, como aditivos nutricionais para aves estressadas termicamente por ondas de calor.

.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESTRESSE TÉRMICO

Aves submetidas ao estresse térmico, dependendo da magnitude e duração do estresse, podem ser induzidas a altos índices de mortalidade (HASSANI; DARAJI; HASSAN, 2001). O estresse térmico, além de aumentar a temperatura corporal da ave, eleva a frequência respiratória, e por consequência afeta o metabolismo, que deverá ser estimulado para aumentar a perda evaporativa de calor pela forma latente, ou seja, pela ofegação, e para manter o equilíbrio térmico corporal (MACARI, M.; FURLAN, R. L.; MAIORKA, 2004).

Emquanto a temperatura corporal e a frequência respiratória aumentam, diversos processos fisiológicos são ativados com o intuíto de aumentar a liberação de calor e diminuir a produção metábólica de calor para a mantença da homeotermia corporal (WINDISCH et al., 2008). O aumento da frequência respiratória desencadeia a redução da pressão parcial de dióxido de carbono e da concentração do íon hidrogênio (H+), produzindo uma alteração no equilíbrio ácido-base, levando a uma situação de alcalose respiratória.

O estresse se desenvolve quando os custos de energia de manutenção aumentam, a ofegação requer atividade muscular mais acelerada, resultando em produção excessiva de calor dentro do corpo. Aves em ofegação aumentam a taxa de respiração em até 10 vezes (BROWN-BRANDL et al., 1997), induzindo há perda de CO², resultando em um aumento no pH do plasma sanguíneo, além disso, o pH dentro das células aumenta, resultando em alcalose respiratória (SAEED et al., 2019)

Durante a respiração ofegante, a excreção de (CO²) ocorre em uma taxa maior do que a sua produção, o que altera o padrão do sistema tampão de bicarbonato no sangue (RICHARDS, 1970). A redução de (CO²) leva a uma diminuição na concentração de ácido carbônico (H²CO³) e íons de hidrogênio (H⁺). Em contraste, a concentração do bicarbonato, íons (HCO³) é aumentada, elevando o pH sanguíneo.

Para lidar com esta situação e manter o pH normal do sangue, as aves por sua vez aumentam a excreção de (HCO³) e retém o (H⁺) do rim. A elevação nas concentrações do íon (H⁺), altera o equilíbrio ácido-base levando à alcalose

respiratória e acidose metabólica, estando associada ao declínio nos desempenhos de produção de aves (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003)

O pH sanguíneo e das células tem influência direta para o perfeito funcionamento dos processos metabólicos. Este por sua vez, varia sob condições fisiológicas, na faixa de 7,2 a 7,3 (TEETER et al., 1985). Para a manutenção do equilíbrio ácido-base dentro dos limites normais, atuam numerosos mecanismos de regulação de grande importância e o alto poder tamponante do sangue, que requer a presença de vários sistemas-tampão. O ácido carbônico é a principal fonte de ácido no organismo. Sua função metabólica é fundamental, pois trata-se de um excelente tampão orgânico, onde se encontra na forma de ácido carbônico (H²CO³) ou na forma de bicarbonato (HCO³).

Outro importante sistema que pode ser afetado pelo estresse térmico, é o sistema gastrintestinal (SLAWINSKA et al., 2019). O perfeito funcionamento do trato intestinal das aves é de fundamental importância, estando associado a saúde e ao desempenho produtivo. Este sistema interage ativamente com outros complexos sistemas do corpo, como o neuroendócrino e imunológico (KADYKALO et al., 2018). Há evidencias claras, que o estresse por calor pode levar a distúrbios funcionais, bem como a inflamação e infecções intestinais, além de afetar negativamente a integridade da parede intestinal, aumentando assim sua permeabilidade. Também pode estar relacionado com o aumento da corticosterona e citocinas pró inflamatórias afetando a homeostasia intestinal (BREIT et al., 2018).

A integridade da barreira intestinal é de suma importância na produção avícola. A perda da integridade da barreira intestinal (ou disfunção da barreira intestinal) leva ao aumento da permeabilidade intestinal, que é definida como a difusão não mediada de moléculas grandes (ou seja, peso molecular > 150 g/mol), normalmente restritas do lúmen intestinal para o sistema circulatório. O aumento da permeabilidade intestinal geralmente resulta em reações inflamatórias locais prejudiciais e possivelmente sistêmicas (CHELAKKOT; GHIM; RYU, 2018).

A permeabilidade do intestino é uma característica funcional medida pela taxa de fluxo através da parede do intestino ou pelas características de seus constituintes. Como resultado, a passagem de moléculas pode ou não ser permitida, através de mecanismos de difusão não mediados, como gradientes de concentração ou pressão, com ou sem a ajuda de um sistema transportador bioquímico passivo ou ativo (BAREKATAIN et al., 2013)

O intestino das aves contém um complexo sistema de microrganismos altamente diversificado, os quais interagem com o hospedeiro e utiliza a dieta como substrato (KOGUT, 2019). A partir desta relação de simbiose, podemos entender que a microbiota pode ser altamente susceptível a efeitos de diversos fatores intrínsecos ao hospedeiro e ao ambiente, podendo o estresse por calor modular a estrutura da comunidade da microbiota intestinal (KARL et al., 2018).

Vários estudos demonstram efeitos significativos do estresse por calor na microbiota intestinal e estrutura. Algumas alterações específicas relatadas incluem níveis mais baixos de *Lactobacillus* e níveis mais elevados de *Clostridium* e coliformes totais (SHI et al., 2019; WANG et al., 2018; ZHU et al., 2019).

Alguns autores como Arif et al., (2020) relatam que aves em estresse térmico são induzidas há várias mudanças fisiológicas, como redução da atividade da tireoide, afetando o apetite e os mecanismos de desenvolvimento dos tecidos, levando há uma resposta imune anormal e desequilíbrio de moléculas inflamatórias em todo o corpo.

As variações hematológicas e bioquímicas no sangue estão intrinsecamente relacionadas a fatores climáticos e são indicadores essenciais de alterações fisiológicas em uma variedade de animais (DING et al., 2020)

Além disso, o estresse térmico promove a liberação de corticosterona e causa oxidação lipídica nas membranas celulares, levando a uma grande quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais livres (EL-SHALL et al., 2020).

A partir da análise da Figura 1, podemos perceber a gama de efeitos que as aves podem estar susceptíveis ao serem estressadas termicamente em seus ambientes de produção.

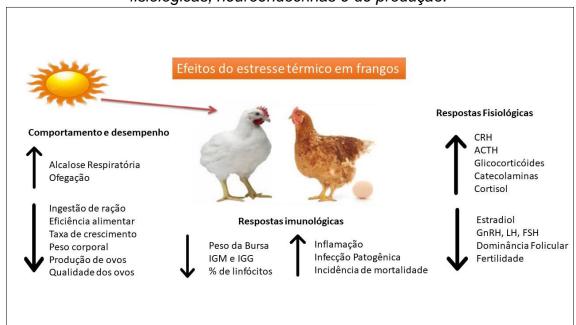


Figura 1- Efeitos do estresse por calor em características comportamentais, fisiológicas, neuroendócrinas e de produção.

FONTE: adaptado de (LU et al., 2021).

2.1.1 Estresse térmico e produção de ovos

Em quadros de estresse térmico, mudanças comportamentais, imunológicas e fisiológicas ocorrem no organismo do animal, impondo efeitos adversos na produtividade. O estresse por calor pode ser conceituado como a influência de diferentes fatores, como irradiação térmica, luz do dia, temperatura do ar, umidade relativa, condições de criação, características físicas do animal, taxa metabólica e capacidade termorreguladora (LARA; ROSTAGNO, 2013). A zona termo neutra para aves adultas, é de 18 -21 C°.

A necessidade de cofatores metabólicos, como vitaminas e minerais, é aumentando quando as aves são criadas sob condições estressantes. Durante períodos de estresse, a mobilização e consequente excreção de nutrientes essenciais, vitaminas e minerais dos tecidos é aumentada (BILAL et al., 2021).

O estresse térmico prejudica o desempenho do crescimento e diminui a eficiência da produção de ovos e carne. Além disso, também reduz a qualidade dos ovos e da carne, enquanto aumenta a mortalidade (ROSTAGNO, 2020).

O metabolismo das aves em estresse, induz há uma maior produção de catecolaminas, que por sua vez potencializam uma liberação mais acelerada de

glicose. Se o estresse persistir, induzindo a desestabilização do mecanismo homeostático, ave pode não resistir. Os sinais típicos de aves em estresse por calor podem ser percebidos por aumento na ingestão de água, redução no consumo de ração, perda de peso, aumento do canibalismo em aves confinadas, respiração ofegante e sinais de letargia. Além disso, o estresse térmico também afeta negativamente o ovo, como características de produção e qualidade interna e externa (BILAL et al., 2021).

Alguns estudos demonstram que aves de postura criadas sob influência do estresse térmico podem diminuir a ingestão de ração, produção de ovos, peso do ovo, espessura da casca do ovo, peso da casca do ovo, unidade Haugh, força da casca do ovo e concentrações séricas de K e Na e um aumento nas concentrações no soro de colesterol e glicose (SAHIN et al., 2018).

A casca, pode ser considerada como uma das estruturas do ovo mais afetadas pelo estresse térmico. A redução de qualidade da casca dos ovos, pode ser devido à diminuição do Ca no sangue causada por uma alteração nos parâmetros bioquímicos sanguíneos ou por uma redução na absorção de cálcio no intestino delgado (BARRETT et al., 2019).

Em estudos recentes, foi relatado que o estresse térmico induziu o aumento do hormônio liberador de corticotrofina e corticosterona, desencadeando apoptose das células ovarianas, prejudicando a qualidade dos oócitos (LI et al., 2018). Desta forma pode se afirmar, que o estresse térmico prejudica o desenvolvimento folicular, diminuindo a produção em aves de postura.

2.2 SUPLEMENTAÇÃO COM ELETRÓLITOS

Conforme (SILVA, 2003), um eletrólito pode ser caracterizado como uma substância química, que se dissocia nos seus constituintes iônicos, tendo como função fisiológica principal a manutenção do equilíbrio ácido-base corporal. Dentre os principais íons que atuam na manutenção da pressão osmótica e equilíbrio ácido-base dos líquidos corporais, podemos citar o sódio (Na+), o potássio (K+) e o cloro (Cl-).

A utilização de eletrólitos fornecidos via dieta ou água, visa aliviar os efeitos adversos do desiquilíbrio ácido-base causado pelo estresse térmico (KAMBOH et al,.2015). A suplementação da dieta com sais como bicarbonato de potássio, cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de amônio aumenta o consumo de água, além de ser útil para manter o equilíbrio osmótico e ácido básico (KHATTAK et al., 2012).

Dentre os eletrólitos citados, analisando os efeitos do estresse por calor, com consequente aparecimento de quadros de alcalose respiratória, o bicarbonato de sódio pode ser considerado uma importante ferramenta nutricional, pois além de agir como tamponante no equilíbrio ácido-básico do organismo, é fonte de CO² (AHMAD, 2006).

Conforme Abbas et al. (2017), além do efeito tampão no equilíbrio ácido básico sanguíneo, a utilização de bicarbonato de sódio melhora a resposta imune contra algumas doenças e a digestibilidade dos nutrientes da dieta, refletindo assim na eficiência da produção de ovos, bem como melhoria na qualidade da casca dos ovos em aves criadas sob estresse térmico.

Para um crescimento ideal, o sangue deve ter o equilíbrio ácido-base correto. A manutenção do equilíbrio eletrolítico da dieta é mais difícil em climas amenos do que em climas mais quentes. Os eletrólitos são importantes na manutenção da homeostase ácido-base, que está ligada ao aumento do crescimento das aves sob circunstâncias estressantes. O equilíbrio ácido-base é influenciado por uma variedade de fatores, incluindo dieta e temperatura ambiente. Para compensar a perda no consumo de ração, ajustes na dieta, como aumento do teor de vitaminas, suplementos minerais, energia e proteína, estão sendo empregados para mitigar os efeitos negativos do estresse térmico (AHMAD; MORENG; MULLER, 1967).

Aves estressadas pelo calor apresentaram maior crescimento quando suplementadas com cloreto de potássio (KCI), cloreto de amônio (NH4CI) ou bicarbonato de sódio (NaHCO3). Em casos de estresse, é muito importante manter o pH sanguíneo normal e os níveis de dióxido de carbono (CO2) em frangos de corte estressados pelo calor (AHMAD et al., 2005).

2.3 PROBIÓTICOS

O conceito de probióticos foi utilizado pela primeira vez para descrever substâncias produzidas por protozoários, que estimulavam o crescimento de outros microorganismos, sendo posteriormente definidos como suplementos compostos de microorganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro por meio da microbiota intestinal (AFRC, 1989).

Os probioticos podem ser definidos como especies colonizadoras, como o *Lactobacillus e Enterococcus spp.* ou não colonizadoras, de transito intestinal livre, como o *Bacillus spp.* e o *Saccharomyces cerevisiae* (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011).

Diversos processos estão associados aos efeitos do uso de probióticos, como melhoria da microflora intestinal e modulação do sitema imunológico, apartir da produção de substâncias antimicrobianas e da competição por sítios de ligação (LILLEHOJ et al., 2011).

A forma descrita mais aceita para a ação dos probióticos, se da pela producao de alguns metabolitos que irão atuar como inibidores do crescimento de outras bacterias, especialmente as patogênicas. Os metabolitos produzidos podem ser ácidos, basicamente o lático e o acético, dióxido de carbono, peróxido de hidrogenio, bacteriocinas e peptidios antimicrobianos. Outro efeito benéfico, está associado a adesão na mucosa do hospedeiro, impedindo á instalação e desenvolvimento de bactérias patogênicas (KURITZA, 2014).

Os probióticos do genero *Bacillus*. *Spp*, por agirem no lúmen intestinal induzem há beneficios que podem ser evidenciados quando são avaliados parâmetros morfológicos da mucosa intestinal, principalmente nas alturas de vilosidades e profundidade de cripta (MACHADO et al., 2019). O aumento da altura das vilosidades e da razão vilosidade/profundidade da cripta em decorrência da suplementação com probiótico é potencialmente responsável pelo ganho de peso e eficiência através do aumento da digestão e absorção de alimentos (MANAFI; HEDAYATI; MIRZAIE, 2018).

Algumas pesquisas revelaram que a alimentação com *Bacillus subtilis* pode melhorar a saúde através da regulação do metabolismo lipídico e seus genes de trasncrição (SHI et al., 2020). Conforme (ZOU et al., 2022), foi relatado que o

uso de *Bacillus* melhora a eficiência alimentar durante a fase inicial de postura, devido a alterações no metabolismo nutricional.

Os efeitos benéficos do uso de probióticos a base de *Bacillus Subtilis* podem estar relacionados a maior formação de ácidos orgânicos de cadeia curta, aumentando a acidez no intestino que reduz o crescimento de bactérias patogênicas, reduzindo a colonização intestinal e os processos infecciosos, além de mitigar processos inflamatórios na mucosa intestinal (MACHADO et al., 2019).

A suplementação dietética com probióticos, tem demonstrado resultados promissores contra vários patógenos entéricos devido à sua capacidade única de competir em locais de adesão, para inibi-los ou para estimular, modular e regular a resposta imune do hospedeiro, iniciando a ativação de genes específicos dentro e fora do trato intestinal (GEORGE KERRY et al., 2018).

Alguns trabalhos já demonstraram que o uso de probióticos a base de *Bacillus Subtilis*, em dietas de aves postura, podem melhorar o peso dos ovos e qualidade da casca. Estes efeitos benéficos, podem estar associados com a produção de ácido lático e potencialização enzimática, atuando assim por exclusão competitiva de patógenos, com melhorias na integridade da barreira epitelial do intestino tendo por consequência uma maior retenção de nutrientes (ABDELQADER; IRSHAID; AL-FATAFTAH, 2013; MIKULSKI et al., 2020).

Efeitos na melhora da qualidade de casca dos ovos de aves suplementadas com probióticos, podem estar relacionados ao aprimoramento da absorção e retenção de Ca, elevando assim níves séricos deste nutriente (PANDA, 2008). O uso de probióticos aumentam a nível intestinal a taxa de fermentação e a produção de ácidos graxos de cadeia curta, reduzindo assim o pH luminal. Está redução de pH, aumenta a solubilidade do cálcio, e portanto sua absorção (VAN DEN HEUVEL et al., 1999).

O uso de *Bacillus Subtilis* na alimentação de aves pode propiciar uma estabilização do ecossistema da microflora intestinal e recuperação da saúde intestinal e integridade da mucosa. Desta forma, a disponibilidade e absorção de nutrientes, incluindo Ca, são maiores, melhorando o peso, espessura e densidade da casca dos ovos (ZOU et al., 2022).

Dietas contendo probióticos reduzem significativamente o hormônio corticosterona. Probióticos podem modular a microbiota intestinal por exclusão

e modificar o metabolismo mantendo a função enzimática e promovendo um comportamento alimentar e digestão funcionais durante o estresse (BILAL et al., 2021).

O uso de probióticos da família dos *Bacillus*, torna se cada vez mais usual, devido à sua capacidade inerente de formar esporos que podem suportar o estresse ambiental severo durante a fabricação de rações e a transição durante o armazenamento e manuseio (UPADHAYA; RUDEAUX; KIM, 2019).

2.4 PREBIÓTICOS

Os prebióticos podem ser caracterizados como um grupo de produtos que irão potencializar o crescimento de microrganismos benéficos na microbiota intestinal. As principais fontes provêm de açucares, fibras, peptídeos, proteínas, álcoois de açucares e os oligossacarídeos. Alguns outros compostos também podem ser classificados como prebióticos, como os dissacarídeos transgalactosilatados, dentre os quais se incluem os frutoligossacarídeos, glucoligossacarídeos e mananoligossacarídeos (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003).

Como regra básica, os prebióticos não devem ser hidrolisados ou absorvidos na parte superior do trato gastrintestinal, devem servir como uma fonte seletiva de nutrientes que suporta o crescimento e/ou atividade metabólica de membros da comunidade microbiana que pode ser consideradas benéfica, e devem induzir respostas fisiológicas luminais ou outras respostas fisiológicas sistêmicas que beneficiam o hospedeiro de alguma forma (RICKE et al., 2020).

Além de melhorar o TGI e os benefícios para a saúde do hospedeiro, os prebióticos oferecem um meio dietético para selecionar bactérias do TGI que podem servir como barreira para a colonização por patógenos de origem alimentar (RICKE, 2021).

Os prebióticos são seletivamente digeridos por bactérias benéficas, tendo efeito positivo sobre o hospedeiro, estimulando o crescimento e atividade de uma ou mais bactérias benéficas do cólon, melhorando assim a saúde intestinal (REIS; VIEITES, 2019). Eles auxiliam no crescimento das populações

microbianas benéficas, pela melhora nas condições do lúmen intestinal, nas características anatômicas do trato gastrintestinal e no sistema imunológico (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Os oligossacarídeos mais estudados que possuem ação probiótica são os mananoligossacarídeos (MOS), que são derivados da parede celular de leveduras como o *Saccharomyces cerevisiae*. A parede celular é separada do conteúdo intracelular e o líquido contendo MOS é evaporado a baixas temperaturas (spray dry) para evitar a destruição da porção funcional da molécula de MOS. A parede celular de Levedura é composta principalmente por glucanos e mananos, podendo conter proteínas (ALBINO et al., 2006). A estrutura da parede do celular do Levedura resiste à degradação das enzimas e bactérias encontradas no aparelho digestivo.

Conforme o suo de (MOS) na dieta de aves podem induzir a modificações da flora intestinal reduzindo o a taxa de renovação da mucosa intestinal e a estimulação do sitema imune. As glicomananas, em condições de pH do aparelho digestivo, são capazes de se ligar seletivamente e atuar como agentes imunomoduladores intestinais (TENG; KIM, 2018)

Além de melhorias no desempenho produtivo, o principal benefício do uso de prebióticos do grupo MOS pode estar associado a redução da ação de batctérias patogênicas. Estas, colonizam o trato gastrintestinal prendendo-se à superfície das células epiteliais e os MOS previnem esta colonização, bloqueando a aderência ao ocupar os receptores das células epiteliais intestinais. O uso destes compostos altera potencialmente a comunidade microbiana, estimulando o crescimento de organismos benéficos, semelhantes as culturas probióticas (RICKE, 2021).

A ação prebiótica afeta potencialmente a degradação de compostos dietéticos indigeríveis, a síntese de componentes de nitrogênio e vitaminas, e simplifica a remoção de elementos indesejáveis na dieta. Os prebióticos também podem induzir modificações desejáveis no microbioma intestinal e afetar o metabolismo do hospedeiro e sua saúde imunológica. Vale ressaltar que as bactérias intestinais metabolizam os compostos prebióticos em compostos orgânicos, que o hospedeiro pode usar subsequentemente (YAQOOB et al., 2021).

O uso de prebióticos em dietas de aves de postura com efeitos profiláticos, pode melhorar o desempenho de postura, conversão alimentar, qualidade dos ovos, resistência da casca do ovo e a saúde intestinal (XIANG et al., 2019).

Os prebióticos são metabolizados através de micro-organismos comensais, levando a benefícios para a saúde do hospedeiro. A maior parte do impacto prebiótico ocorre na parte inferior do trato gastrintestinal, principalmente o ceco das aves, com alguma hidrólise microbiana que pode ocorrer nas seções superiores, como o papo (GIBSON et al., 2017). Os prebióticos fornecem energia e uma fonte de carbono para microrganismos, que geralmente vivem no cólon, onde processos de fermentação bacteriana ocorrem para alguns nutrientes.

A ação probiótica também influencia na redução do crescimento de microorganismos prejudiciais, removem substâncias tóxicas como metabólitos e enzimas, exibem efeito hipocolestérmico, reduzem a pressão arterial e previnem processos de carcinogênese. Além disso, os prebióticos afetam a síntese de vitaminas como ácido fólico, ácido nicotínico, B1, B2, B6 e B12 (YAQOOB et al., 2021). O uso de prebioticos pode potencializar a proliferação de células intestinais benéficas, aumento da altura das vilosidades, e fortalecimento da barreira epitelial do intestino (SWAGGERTY et al., 2019).

Os benefícios nutricionais dos prebióticos, tem relação direta com a fermentação a nível intestinal e consequente produção de ácidos graxos de cadeia curta. Estes ácidos melhoram a disponibilidade de proteínas e minerais por reduzirem o pH intestinal, promovendo maior solubilidade dos nutrientes (YAQOOB et al., 2021).

Durante períodos de estresse térmico, os prebióticos estimulam o crescimento de microrganismos presentes no trato intestinal, o que aumenta a apetite da ave, melhora a digestão intestinal e a área de absorção, e consequentemente induz a um melhor desempenho e saúde da ave (HASAN et al., 2014).

3. ARTIGO 1. USO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMO FERRAMENTAS NUTRICIONAIS PARA MINIMIZAR IMPACTOS GERADOS PELO ESTRESSE TÉRMICO EM GALINHAS POEDEIRAS.

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo a ser submetido com a seções de acordo com as orientações da Revista Brasileira de Ciência Avícola.

3.1 INTRODUÇÃO

O estresse térmico, é um dos desafios ambientais mais comuns para as aves, pois afeta negativamente a saúde, o bem-estar e a produtividade (ROSTAGNO, 2020). Devido à grande produtividade das linhagens comercias utilizadas hoje, a taxa metabólica das aves se torna mais elevada, produzindo assim mais calor corporal (WASTI, 2020). Desta forma, os produtores devem ter atenção especial no controle da temperatura das instalações de acordo com as exigências das aves, principalmente em períodos mais quentes.

Estudos recentes mostraram que os lotes de aves expostos ao estresse por calor crônico (mais de 30°C), têm baixa eficiência de produção, bem como alta morbidade e mortalidade, levando a grandes perdas econômicas nas granjas avícolas (DOSOKY et al., 2021). Dentre as formas de minimizar o excesso de calor corporal, as aves utilizam o resfriamento evaporativo a partir da ofegação (HASSANI; DARAJI; HASSAN, 2001).

Além do distúrbio bioquímico, o estresse por calor induz a uma redução significativa no consumo de ração, para assim produzir menos calor metabólico. Como uma cascata de efeitos, a redução no consumo de ração, reduz a ingestão de cálcio e fósforo, induzindo ao decréscimo da produção de ovos em quantidade e principalmente em qualidade (LARA; ROSTAGNO, 2013).

Estudos recentes concentram se nas influências deletérias do estresse calórico no comportamento, bem-estar e reprodução das aves. As principais estratégias para mitigar o estresse térmico em granjas avícolas incluem suplementos alimentares e diversos manejos, porém, os resultados ainda não são consistentes (SAEED et al., 2019).

A utilização de eletrólitos fornecidos via dieta ou água, visa aliviar os efeitos adversos do desiquilíbrio ácido-base causado pelo estresse térmico (KAMBOH et al,.2015). A suplementação da dieta com sais como bicarbonato de potássio, cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de amônio aumenta o consumo de água, além de ser útil para manter o equilíbrio osmótico e ácido básico (KHATTAK et al., 2012).

Dentre os eletrólitos citados, analisando os efeitos do estresse por calor, com consequente aparecimento de quadros de alcalose respiratória, o bicarbonato de sódio pode ser considerado uma importante ferramenta nutricional, pois além de agir como tamponante no equilíbrio ácido-básico do organismo, é fonte de CO² (AHMAD, 2006).

Conforme Abbas et al. (2017), além do efeito tampão no equilíbrio ácido básico sanguíneo, a utilização de bicarbonato de sódio melhora a resposta imune contra algumas doenças e a digestibilidade dos nutrientes da dieta, refletindo assim na eficiência da produção de ovos, bem como melhoria na qualidade da casca dos ovos em aves criadas sob estresse térmico.

O conceito de probióticos foi utilizado pela primeira vez para descrever substâncias produzidas por protozoários, que estimulavam o crescimento de outros microorganismos, sendo posteriormente definidos como suplementos compostos de microorganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro por meio da microbiota intestinal (AFRC, 1989).

Os probioticos podem ser definidos como especies colonizadoras, como o *Lactobacillus e Enterococcus spp.* ou não colonizadoras, de transito intestinal livre, como o *Bacillus spp.* e o *Saccharomyces cerevisiae* (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011).

Os probióticos do genero *Bacillus*. *Spp*, por agirem no lúmen intestinal induzem há beneficios que podem ser evidenciados quando são avaliados parâmetros morfológicos da mucosa intestinal, principalmente nas alturas de vilosidades e profundidade de cripta (MACHADO et al., 2019). O aumento da altura das vilosidades e da razão vilosidade/profundidade da cripta em decorrência da suplementação com probiótico é potencialmente responsável pelo ganho de peso e eficiência através do aumento da digestão e absorção de alimentos (MANAFI; HEDAYATI; MIRZAIE, 2018).

Algumas pesquisas revelaram que a alimentação com *Bacillus subtilis* pode melhorar a saúde através da regulação do metabolismo lipídico e seus genes de trasncrição (SHI et al., 2020). Conforme (ZOU et al., 2022), foi relatado que o uso de *Bacillus* melhora a eficiência alimentar durante a fase inicial de postura, devido a alterações no metabolismo nutricional.

Os efeitos benéficos do uso de probióticos a base de *Bacillus Subtilis* podem estar relacionados a maior formação de ácidos orgânicos de cadeia curta, aumentando a acidez no intestino que reduz o crescimento de bactérias patogênicas, reduzindo a colonização intestinal e os processos infecciosos, além de mitigar processos inflamatórios na mucosa intestinal (MACHADO et al., 2019).

Os prebióticos podem ser caracterizados como um grupo de produtos que irão potencializar o crescimento de microrganismos benéficos na microbiota intestinal. As principais fontes provêm de açucares, fibras, peptídeos, proteínas, álcoois de açucares e os oligossacarídeos. Alguns outros compostos também podem ser classificados como prebióticos, como os dissacarídeos transgalactosilatados, dentre os quais se incluem os frutoligossacarídeos, glucoligossacarídeos e mananoligossacarídeos (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003).

Como regra básica, os prebióticos não devem ser hidrolisados ou absorvidos na parte superior do trato gastrintestinal, devem servir como uma fonte seletiva de nutrientes que suporta o crescimento e/ou atividade metabólica de membros da comunidade microbiana que pode ser consideradas benéfica, e devem induzir respostas fisiológicas luminais ou outras respostas fisiológicas sistêmicas que beneficiam o hospedeiro de alguma forma (RICKE et al., 2020).

Os oligossacarídeos mais estudados que possuem ação probiótica são os mananoligossacarídeos (MOS), que são derivados da parede celular de leveduras como o *Saccharomyces cerevisiae*. A parede celular é separada do conteúdo intracelular e o líquido contendo MOS é evaporado a baixas temperaturas (spray dry) para evitar a destruição da porção funcional da molécula de MOS. A parede celular de Levedura é composta principalmente por glucanos e mananos, podendo conter proteínas (ALBINO et al., 2006). A estrutura da parede do celular do Levedura resiste à degradação das enzimas e bactérias encontradas no aparelho digestivo.

O uso de MOS na dieta de aves podem induzir a modificações da flora intestinal reduzindo o a taxa de renovação da mucosa intestinal e a estimulação do sistema imune. As glicomananas, em condições de pH do aparelho digestivo, são capazes de se ligar seletivamente e atuar como agentes imunomoduladores intestinais (TENG; KIM, 2018).

Além de melhorias no desempenho produtivo, o principal benefício do uso de prebióticos do grupo MOS pode estar associado a redução da ação de batctérias patogênicas. Estas, colonizam o trato gastrintestinal prendendo-se à superfície das células epiteliais e os MOS previnem esta colonização, bloqueando a aderência ao ocupar os receptores das células epiteliais intestinais. O uso destes compostos altera potencialmente a comunidade microbiana, estimulando o crescimento de organismos benéficos, semelhantes as culturas probióticas (RICKE, 2021).

A ação prebiótica também influencia na redução do crescimento de microrganismos prejudiciais, removem substâncias tóxicas como metabólitos e enzimas, exibem efeito hipocolestermico, reduzem a pressão arterial e previnem processos de carcinogênese. Além disso, os prebióticos afetam a síntese de vitaminas como ácido fólico, ácido nicotínico, B1, B2, B6 e B12 (YAQOOB et al., 2021). O uso de prebioticos pode potencializar a proliferação de células intestinais benéficas, aumento da altura das vilosidades, e fortalecimento da barreira epitelial do intestino (SWAGGERTY et al., 2019).

Os efeitos benéficos da suplementação com prebióticos em aves estressadas, podem estar associados a concentração circulante melhorada de hormônio tireoidiano, ativação da mitose celular e melhora na vascularização das vilosidades intestinais. Durante o estresse, há um aumento na contagem de células caliciformes, o que pode diminuir a secreção de muco a nível intestinal levando a alta atividade bacteriana (BILAL et al., 2021).

Frente a isto, este estudo objetivou avaliar o uso de produtos compostos por probióticos, prebióticos, suas combinações e bicarbonato de sódio sobre o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, parâmetros bioquímicos sanguíneos e permeabilidade intestinal de galinhas poedeiras semipesadas desafiadas por ondas de calor de 35 graus Celsius por três dias consecutivos e oito horas ao dia.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário experimental para galinhas poedeiras do setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da UDESC Oeste e aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da UDESC sob número CEUA nº 3297210721.

3.2.1 Animais e Tratamentos

Foram utilizadas 120 aves semipesadas da linhagem Isa Brown com 30 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 5 X 2 + 1 (cinco tratamentos X 2 momentos – antes e após o período de estresse + tratamento controle) com cinco tratamentos e cinco repetições de quatro aves cada (gaiolas metálicas equipadas com comedouro tipo calha e bebedouros tipo nipple).

Os tratamentos utilizados foram os seguintes: Os tratamentos consistiram em: Controle negativo - aves alimentadas com dieta basal e sem receber o estresse térmico; Controle positivo - aves alimentadas com dieta basal e estressadas termicamente; PRO – Aves estressadas alimentadas com dieta basal com adição do produto comercial composto por probióticos (300g/ton); PRE - Aves estressadas alimentadas com dieta basal com adição do produto comercial composto por prebióticos (1000g/ton); PRO+PRE – Aves estressadas alimentadas com dieta basal com adição de produtos comerciais compostos por probióticos (300g/ton) + prebióticos (1000g/ton); BIC - Aves estressadas alimentadas com dieta basal com adição de 0,5% de bicarbonato de sódio.

Os produtos comerciais utilizados foram adicionados em substituição ao inerte e possuem as seguintes composições: Produto probiótico (Bacillus subtilis, 5 x 10⁹ ufc/g), produto prebiótico (lisado de parede de leveduras, 50 g/kg). As exigências nutricionais e as composições dos alimentos foram baseadas nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017), conforme tabela 1, sendo preparadas em um misturador horizontal com capacidade de 150 kg.

Tabela 1 - Composição (g/kg) e atendimento das exigências das dietas utilizadas.

Ingredientes (g/kg)	Basal	Bicarbonato		
3				
Milho	652,13	650,94		
Farelo de Soja, 45 %	213,33	213,55		
Calcário calcítico	93,35	93,35		
Fosfato bicálcico	12,64	12,65		
Óleo de soja	16,72	17,12		
DL- Metionina 98%	2,75	2,75		
L-lisina 78%	0,49	0,48		
L-treonina 99%	0,43	0,43		
NaCl (Sal Comum)	5,10	1,68		
Bic. Sódio		5,00		
Premix*	2,00	2,00		
Inerte	1,00	1,00		
TOTAL	1000	1000		
Valores calculados				
Em. Met (Kcal/Kg)	2.850	2.850		
Proteína Bruta (%)	15,14	15,14		
Cálcio (%)	3,90	3,90		
Fósforo Disponível (%)	0,32	0,32		
Lisina Digestível (%)	0,71	0,71		
Metionina Digestível	0,48	0,48		
(%)				
Met. + Cist. Dig. (%)	0,70	0,70		
Treonina Dig. (%)	0,55	0,55		
Triptofano Dig. (%)	0,16	0,16		
Sódio	0,22	0,22		
Cloro	0,35	0,15		
Potássio	0,58	0,58		

^{*} Níveis mínimos de vitaminas e minerais por kg de produto: vitamina A (5.000.000 UI); vitamina D3 (1.000.000 UI); vitamina E (15.000 UI); vitamina K3 (1,500 mg); vitamina B1 (1,500 mg); vitamina B2 (3.000 mg); vitamina B6 (2.000 mg); vitamina B12 (7.000 mcg); ácido fólico (500 mg); ácido nicotínico (15 g); ácido pantoténico (7000 mcg); colina (80 g); biotina (100 mg); Cobre (10 g); ferro (50 g); iodo (1.000 mg); manganês (80 g); selênio (300 mg); zinco (70 g); umidade mínima (20 g); matéria mineral máxima (980 g).

3.2.2 Período de avaliação e variáveis de desempenho

Foram realizados três ciclos de produção de 28 dias, sendo que nos dias 15, 16 e 17 de cada ciclo as aves foram submetidas a um período de 8 horas diários (10:00 às 18:00) de temperaturas médias de 35 ± 3 °C. A simulação do estresse térmico foi realizada por meio do fechamento das cortinas do aviário experimental e aquecimento através de aquecedores elétricos e a gás. As

temperaturas máxima e mínima observadas durante os demais dias dos três ciclos experimentais foram de 21 e 8 °C, respectivamente.

No início e final de cada ciclo de produção as rações foram pesadas e a produção de ovos anotada diariamente para cálculos dos parâmetros de produção de ovos (%), consumo de ração (g/ave/dia), conversão alimentar (kg de ração/kg de ovos e kg de ração/dúzia), peso médio dos ovos (g) e massa ovos (g/ave/dia). Para a obtenção da massa de ovos, nos últimos 3 dias de cada ciclo experimental foram pesados todos os ovos de cada parcela, sendo a média multiplicada pelo percentual de produção da respectiva parcela.

3.2.3 Variáveis físicas e química dos ovos

A qualidade física dos ovos foi avaliada no último dia de cada ciclo experimental e também do dia anterior e posterior ao estresse térmico. Foram coletados dois ovos por parcela experimental para realização das análises de gravidade específica (FREITAS, et al., 2004), resistência da casca (kgf) com o auxílio do Texturômetro (TA.XT Plus®) acoplada à probe P75, unidade Haugh (HAUGH, 1937), índice gema, cor da gema (leque colorimétrico DSM® e luminosidade L, intensidade de vermelho a* e intensidade de amarelo b*, utilizando um colorímetro Minolta CR-400®), percentual de gema, albúmen e casca, espessura da casca, pH de gema e albúmen (pHmetro digital Testo 205®). Para a obtenção do percentual de casca e espessura da casca os ovos depois de quebrados foram lavados para retirar o excesso de albúmen e secos ao ar forçado por 24 horas a uma temperatura de 55°C. Depois de secas, as cascas foram pesadas e mediu se a espessura nas porções basais e equatoriais utilizando paquímetro digital para posterior obtenção da média das duas mensurações.

3.2.4 Variáveis sanguíneas e intestinais

Antes de cada período de estresse foi realizada coleta de sangue através da veia ulnar para posterior separação do soro e realização das análises de espécies reativas ao oxigênio (ROS), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), tióis protéicos (TP) e NADP Oxidase (NOX), conforme metodologias

descritas por Halliwell and Gutteridge (2007), Ohkawa (1978), Ellman (1959) e Miranda et al. (2001), respectivamente.

Para avaliação da permeabilidade intestinal, utilizou se o método proposto por (LIU et al., 2021). Foi administrado em uma ave por repetição, isotiocianato dextrano de fluorescína (FITC-d; 100 mg, MW 4,000; Sigma-Aldric). A administração nas aves foi feita pelo método de gavagem com 1 ml de FITC em solução (2,2mg/ml). Após 2 horas da inoculação realizou-se a coleta de sangue via veia branquial. O sangue foi mantido em um recipiente escuro em temperatura ambiente por 2 h até sua coagulação e depois centrifugado por 15 minutos para a separação do soro. Uma solução padrão foi feita diluindo FITC com um pool de soro sanguíneo. Os níveis de FITC-d nas amostras de soro e solução padrão foram medidos em uma excitação com comprimento de onda de 485 nm e um comprimento de onda de emissão de 528 nm usando um leitor de (Spectramax M5, Molecular Devices, microplacas San Jose, CA). respectivamente.

3.2.5 Análise estatística

Após análise de normalidade de distribuição dos dados os mesmos foram submetidos à análise de variância e em casos significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

3.3 RESULTADOS

Não houve efeito significativo (>0,05) dos fatores estresse causado pelo calor e dos tratamentos para os valores médios das variáveis consumo de ração (CR), porcentagem de produção (PP), massa de ovos (MO) e conversão alimentar (CA) avaliadas durante os 3 ciclos de 28 dias de produção (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios obtidos nos 3 ciclos de produção para consumo de ração (g/ave/dia), porcentagem de produção, massa de ovos (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg/kg e kg/dz de galinhas poedeiras semipesadas submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos.

	CR		PP MO		CA kg/Dz		
	Estre		Estresse				
Com	114,74	96,73	59,50	1,92	1,43		
Sem	116,49	96,74	59,91	1,94	1,44		

Р	0,52	0,989 0,721		0,568	0,562
			3		
CP	113,71	97,88	59,94	1,90	1,38
PRO	112,41	95,58	59,13	1,89	1,40
PRE	114,98	97,20	61,26	1,86	1,42
PRO+PRE	113,55	95,97	58,46	1,94	1,43
BS	118,65	97,73	61,26	1,92	1,44
Р	0,659	0,071	0,098	0,056	0,165
ExT	0,895	0,345	0,641	0,892	0,345
CV (%)	4,44	1,91	3,54	3,42	3,88

CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. CV=Coeficiente de Variação.

Pode-se perceber que todas as variáveis sofreram efeito significativo (P<0,05) do estresse. Em relação aos tratamentos, o grupo que recebeu PRO+PRE apresentou a menor conversão alimentar em g/g, e Kg/dz (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios obtidos durante os 3 dias de estresse para consumo de ração (g/ave/dia), porcentagem de produção, massa de ovos (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg/kg e kg/dz de galinhas poedeiras semipesadas submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos, durante o período de estresse pelo calor.

unc	ancientes danivos, darante o periodo de estresse pero edior.						
_	CR	PP	MO	CA g/g	CA kg/Dz		
				Estresse			
Com	87,56	78,21	49,00	1,79	1,34		
Sem	125,31	92,17 63,84		1,96	1,63		
Р	<0,0001 <0		<0,001	<0,001	<0,0001		
				Tratamentos			
CP	87,73	74,18	47,84	1,83 A	1,42 A		
PRO	87,51	80,05	48,97	1,79 A	1,31 AB		
PRE	88,95	78,47	48,37	1,84 A	1,36 AB		
PRO+PRE	84,70	81,25	52,13	1,62 B	1,25 B		
BS	88,93	77,08	47,68	1,86 A	1,38 AB		
Р	0,567	0,124	0,236	0,013	0,016		
ExT	0,892	0,836	0,976	0,687	0,874		
CV (%)	4,16	9,13	11,30	11,89	10,56		

CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. CV=Coeficiente de Variação.

As aves submetidas ao estresse térmico apresentaram valores significativamente inferiores (P<0,05) às que não passaram pelo desafio nas variáveis gravidade específica e percentual de gema e de albúmen (Tabela 4).

Em relação ao momento do estresse, pode-se verificar que após os três dias de desafio a qualidade dos ovos caiu de forma significativa (P<0,05).

As aves alimentadas com probiótico + prebiótico via ração e bicarbonato de sódio produziram ovos com valores superiores (P<0,05) de gravidade especifica. A espessura da casca foi maior para o grupo PRO+PRE quando comparada às dos grupos PRO e PRE. O percentual de casca foi superior (P<0,05) nos ovos dos grupos PRO+PRE e BS quando comparadas às dos ovos dos grupos CP e PRE.

Tabela 4 - Valores médios obtidos nos três ciclos produtivos para gravidade específica (GE), espessura (EC, mm) e resistência da casca (RC, kgf) e porcentagens de casca (PC), gema (PG) e albúmen (PA) dos ovos oriundos das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com diferentes aditivos

	anoronico admiroc					
	GE	EC	RC	% Casca	%	% Alb
					Gema	
				Estresse		
Com	1,082	0,378	4,481	9,28	25,68	65,06
Sem	1,088	0,383	4,718	9,67	26,87	63,45
Р	<0,01	0,555	0,492	0,064	0,045	0,016
				Momento		
Antes	1,082	0,383	4,692	9,42	27,98	62,63
Depois	1,079	0,353	4,269	9,18	26,92	63,90
Р	0,014	<0,0001	0,021	0,021	0,001	<0,001
				Tratamentos		
CP	1,080 B	0,381 AB	4,821	8,83 B	24,98	66,17
PRO	1,081 B	0,367 B	4,878	9,31 AB	22,22	64,46
PRE	1,078 B	0,358 B	4,182	8,97 B	25,95	65,31
PRO+PRE	1,087 A	0,410 A	4,278	9,80 A	26,19	64,00
BS	1,086 A	0,383 AB	4,269	9,66 A	26,87	63,45
Р	0,003	0,0401	0,062	<0,01	0,285	0,211
ExT	0,204	0,330	0,165	0,278	0,123	0,146
CV (%)	0,680	8,61	16,46	8,26	8,48	3,78

A,B – Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (5%). CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. CV=Coeficiente de Variação.

Para as variáveis referentes a qualidade interna dos ovos (Tabela 5), as aves submetidas ao estresse térmico comparadas as não submetidas, apresentaram valores inferiores significativos (P<0,05) de pH do albúmen e unidade Haugh. Já para o fator momento do estresse, além do pH do albúmen e unidade Haugh, o índice de gema também foi inferior e significativo (P<0,05)

após o estresse. Em relação ao fator tratamento, não houve efeito significativo (P>0,05) em nenhuma das varáveis avaliadas.

Tabela 5 - Valores médios obtidos para pH da gema (pH G), pH do albúmen (pH A), unidade haugh (UH), índice de gema (IG) e leque colorimétrico, dos ovos oriundos das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos.

_	pH G	рН А	UH	IG	Leque	
_			Estresse			
Com	5,83	7,91	84,20	0,463	6,47	
Sem	5,88	8,09	90,53	0,464	6,45	
Р	0,144	0,033	<0,001	0,886	0,940	
	Momento					
Antes	5,83	7,77	89,81	0,457	6,56	
Depois	5,82	8,04	79,54	0,444	6,37	
Р	0,771	<0,001	<0,001	0,012	0,22	
_	Tratamentos					
CP	5,85	7,78	89,81	0,447	6,75	
PRO	5,82	7,86	89,92	0,463	6,50	
PRE	5,83	7,78	90,97	0,461	6,37	
PRO+PRE	5,80	7,90	88,11	0,452	6,75	
BS	5,84	8,01	87,46	0,461	6,83	
Р	0,465	0,210	0,735	0,428	0,782	
ExT	0,392	0,412	0,370	0,595	0,723	
CV (%)	1,27	2,49	5,39	4,46	10,07	

CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. CV=Coeficiente de Variação.

AS aves que não foram desafiadas pelo calor produziram ovos com gemas mais vermelhas (P<0,05), cascas mais claras e menos amarelas (Tabela 6). Após o estresse, a intensidade de vermelho e amarelo das cascas foram superiores (P<0,05). Os tratamentos não influenciaram (P>0,05) as varáveis analisadas.

Tabela 6 - Valores médios obtidos para luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*) e intensidade de amarelo (b*) das gemas e das cascas dos ovos oriundos das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos.

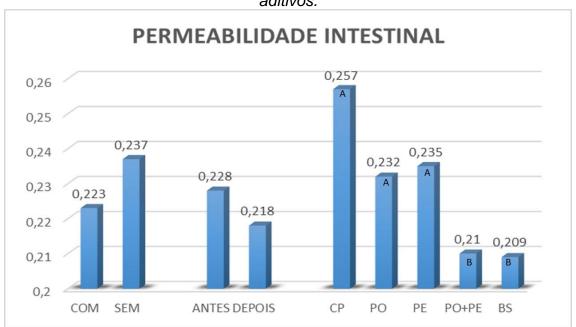
		Gema			Cascas		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	
		Estresse					
Com	60,95	-9,00	45,66	59,43	12,18	32,86	
Sem	60,76	-8,16	45,83	62,01	12,36	31,37	
Р	0,764	<0,001	0,849	<0,01	0,766	<0,01	

	Momento					
Antes	60,53	-8,91	45,63	60,24	11,43	31,64
Depois	61,37	-8,85	45,70	59,90	12,93	33,58
Р	0,061	0,587	0,906	0,655	<0,001	<0,001
_	Tratamento					
CP	58,32	-7,03	46,79	58,19	11,38	33,31
PRO	59,31	-7,12	44,53	59,74	12,94	32,94
PRE	59,66	-7,33	44,48	61,85	12,02	33,52
PRO+PRE	58,59	-6,52	48,48	59,95	12,07	32,96
BS	58,46	-7,11	44,24	60,05	11,71	33,49
Р	0,196	0,548	0,361	0,310	0,078	0,954
ExT	0,188	0,944	0,433	0,602	0,769	0,456
CV (%)	5,67	18,57	6,49	6,18	18,57	5,97

CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. CV=Coeficiente de Variação.

A permeabilidade intestinal das aves (Figura 2) não foi influenciada (P>0,05) pela presença ou momento do estresse pelo calor. O grupo das aves que receberam os tratamentos PRO+PRE e BS tiveram menor concentração do contraste no sangue em comparação às aves dos demais grupos (P<0,05), o que mostra melhor integridade intestinal nos animais desses grupos.

Figura 2 - Valores obtidos para permeabilidade Intestinal das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos.



CP=Controle positivo; PRO= Probiótico via ração; PRE= Prebiótico via ração; PRO+PRE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio. Valor p: com/sem= 0,434; antes/depois=0,489; Trat= 0,0027.

As variáveis bioquímicas analisadas foram similares nas aves estressadas e não estressadas (P>0,05). Porém, após o estresse verificou-se valores significativamente maiores para as variáveis proteína total e da enzima superóxido dismutase (P<0,05). Os tratamentos não causaram alteração nas variáveis bioquímicas estudadas.

Tabela 7 - Valores médios obtidos para proteína (PT, mg/mL), superóxido dismutase (SOD, U/mL), glutationa peroxidase (GPx, U/mg proteína), glutationa-S-transferase (GST, U/mg proteína) e peroxidação lipídica (LPO, nmol/mL) do soro das aves submetidas ou não ao estresse pelo calor e alimentadas com dietas com diferentes aditivos.

ammoniadad dom andiad dom andiandon							
	PT	SOD	GPx	GST	LPO		
		Estresse					
Com	7,61	5,23	2,36	19,62	3214		
Sem	7,97	4,38	2,32	19,81	1145		
Р	0,55	0,118	0,950	0,934	0,113		
			Momento				
Antes	7,21	4,41	2,69	19,16	3772		
Depois	8,02	5,52	3,68	20,08	2656		
Р	0,012	<0,001	0,111	0,442	0,099		
		Tratamentos					
CP	7,34	5,01	2,55	18,06	5140		
PO	6,88	6,00	2,22	23,40	3221		
PE	7,21	4,82	2,78	20,03	4234		
PO+PE	7,78	4,60	2,11	17,19	2768		
BS	7,12	5,36	2,08	20,16	1613		
Р	0,728	0,052	0,915	0,135	0,135		
ExT	0,261	0,108	0,110	0,205	0,563		
CV (%)	14,46	24,80	57,83	26,20	85,54		

CP=Controle positivo; PO R= Probiótico via ração; PE R= Prebiótico via ração; PO+PE= Probiótico e prebiótico via ração; BS= Bicarbonato de sódio.

3.4 DISCUSSÃO

Os efeitos deletérios do estresse térmico no metabolismo e por consequência na produção de aves de postura é um entrave na cadeia produtiva. Portanto, é necessário encontrar novas estratégias para amenizar os efeitos adversos induzidos pelo estresse térmico.

A não influência do uso de probiótico, prebiótico, probiótico + prebióticos ou bicarbonato de sódio nos índices zootécnicos de produção, pode estar relacionado ao período de estresse ter ocorrido de forma cíclica e não continua, dessa forma, os efeitos negativos causados durante o estresse se diluíram nos

28 dias dos ciclos. Isso demonstra a capacidade de recuperação do metabolismo após pequenos períodos de estresse.

O menor consumo de ração durante o estresse térmico, evidencia uma das formas em que a ave encontra de reduzir a produção de calor endógeno, e como consequência os demais índices produtivos também são prejudicados.

A conversão alimentar foi menor nas aves do grupo que passou pelo estresse, o que se deve ao fato da queda do consumo de ração ter sido mais significativo que a queda da produção de ovos, o que ocasionou menor conversão alimentar tanto em kg/kg como kg/dúzia de ovos.

A combinação de probióticos e prebióticos reduziu significativamente a conversão alimentar das aves. Este efeito pode estar associado na melhoria do ambiente intestinal, com consequente maior aproveitamento dos nutrientes da dieta. Como já descrito anteriormente, a associação de prebióticos com probióticos podem estabilizar e controlar a multiplicação da microflora patogênica no intestino, por intermédio da exclusão competitiva. Quando os probióticos são combinados com prebióticos na alimentação, eles podem beneficiar o hospedeiro, aumentando a sobrevivência de microrganismos benéficos que auxiliam no processo de digestão e absorção (GIBSON et al., 2017).

Durante períodos de estresse térmico, os prebióticos estimulam o crescimento de microrganismos benéficos presentes no trato intestinal, o que aumenta a apetite da ave, melhora a digestão intestinal e a área de absorção, e consequentemente induz a um melhor desempenho e saúde da ave (HASAN et al., 2014)

A gravidade específica dos ovos foi menor nas aves que sofreram estresse, essa variável tem correlação direta com espessura e percentual de casca. Apesar do percentual de casca não ter sofrido diferença significativa, houve uma tendência de queda em seus valores no grupo de aves que sofreram estresse (P=0,064). Este efeito pode ser explicado pelo fato do estresse térmico suprimir a absorção de nutrientes ou transporte para o oviduto deslocando o fluxo sanguíneo do intestino ou do útero para a pele (ROSTAGNO, 2020)

O percentual de gema, que reduziu no grupo estressado termicamente, pode ter relação com alterações fisiológicas a nível intestinal e metabólico, que refletem diretamente na absorção e sintetização nutrientes da dieta (CASTRO et al., 2019). Além disso, os glicocorticóides produzidos durante o estresse reduzem a síntese hepática de precursores da gema, alterando o incremento em energia da reprodução para a sobrevivência (WANG et al., 2017).

O percentual de albúmen, ao contrário do esperado, aumentou no grupo de aves que foram estressadas. Este fato pode estar associado a uma maior liberação de hormônios esteroides desencadeados a partir do estresse, estimulando assim maior secreção de glicoprotéinas (KIM et al., 2022). Em contrapartida, o aumento percentual do albúmen, pode estar relacionado a redução do percentual de gema e casca.

A redução dos valores de EC, RC e percentual da casca após o estresse térmico, evidenciam que no curto prazo os efeitos deletérios do estresse térmico podem ser notados. A qualidade da casca dos ovos é de fundamental importância para manutenção de sua qualidade. Conforme (KIM et al., 2022) a espessura, resistência e por consequência percentual da casca, reduzem a partir da supressão na absorção de nutrientes e seu transporte para o oviduto em aves estressadas termicamente. Algumas mudanças induzidas pelo estresse térmico, como alteração no estado ácido-base do sangue, redução no concentração de hormônios reprodutivos (hormônio luteinizante, progesterona), e cálcio ionizado, também foram relatadas por (EBEID; SUZUKI; SUGIYAMA, 2012).

Para os tratamentos, o uso da associação de PRO+PRE melhoraram a qualidade de casca, expressos em GE, EC e percentual de casca. Esta melhora pode estar atribuída, conforme descrevem (WANG et al., 2021), à ação do probiótico, que melhora a microflora intestinal, potencializando assim a digestão e absorção dos nutriente. Pode se atribuir a ação simbiótica dos produtos com o aumento da disponibilidade intestinal de Ca, influenciando na melhora de características de qualidade de casca (MANAFI; HEDAYATI; MIRZAIE, 2018). Se tratando de atividade enzimática, o uso de *Bacillus Subtilis*, melhora a atividade enzimática a nível intestinal (ZOKAEIFAR et al., 2012). Além disso, a associação de um prebiótico, altera potencialmente a comunidade microbiana, estimulando o crescimento de organismos benéficos, semelhantes as culturas probióticas (RICKE, 2021). A pesar do estresse induzido as aves, a melhora nas

condições de digestão e absorção, potencializam a mobilização de nutrientes ao oviduto.

O uso de bicarbonato de sódio também melhorou a qualidade da casca, conforme observado nos parâmetros GE, EC e percentual de casca. A respiração hipertérmica excessiva, em aves em estresse por calor pode causar alcalose respiratória, e durante o estresse térmico a razão sódio: cloreto no plasma sanguíneo diminui, resultando em alcalose sanguínea. Uma fonte de sódio dietética não contendo cloreto, como bicarbonato de sódio (NaHCO₃) alivia os efeitos adversos de estresse por calor (HASSANI; DARAJI; HASSAN, 2001).

Em relação à qualidade química dos ovos, o pH do albúmen foi menor no grupo de aves que foram estressadas, contrariando o fato de que temperaturas maiores de criação e armazenamento dos ovos tem influência na dissociação do ácido carbônico (H2CO3), um dos componentes do sistema tampão do albúmen, formando água e gás carbônico, elevando assim o pH do albúmen. Há uma correlação entre pH e qualidade interna dos ovos, sendo que conforme o pH do albúmen aumenta, a qualidade do ovo diminui (KIRUNDA; SCHEIDELER; MCKEE, 2001). A razão do pH do albúmen ter sido menor no grupo estressado é desconhecida. Estudos adicionais são necessários para esclarecer. Porém, se avaliarmos o pH do albúmen logo após o estresse, seu comportamento condiz com o esperado.

A unidade Haugh dos ovos, um dos principais parâmetros que quantifica a qualidade dos ovos, teve seus valores reduzidos no grupo de aves que foram estressadas e logo após o estresse. Este comportamento pode ser explicado pelo afinamento e liquefação do albúmen, a partir da degradação da ovomucina. Conforme (AHMAD; MORENG; MULLER, 1967), a unidade Haugh cai em aves expostas ao calor pela redução da síntese proteica, e movimentação da água do albúmen até a gema. Altas temperaturas de criação, deterioram a qualidade interna dos ovos (KIM et al., 2022). A redução da unidade Haugh também está atribuída a redução do percentual de albúmen, conforme observado anteriormente, da mesma forma que a redução do valor de índice de gema logo após ao estresse está associado a menor percentual de gema nos ovos.

A coloração da gema e da casca dos ovos é um atributo primordial para os consumidores e a indústria. Os valores médios obtidos para intensidade de

vermelho da gema foram maiores no grupo de aves não estressadas. A intensidade de cor da gema tem relação direta com a deposição de xantofilas (grupo de pigmentos carotenoides), na gema dos ovos (ORTIZ et al., 2021). Durante o estresse ocorre translocação de água do albúmen para a gema, o que torna a gema mais clara (WANG et al., 2017)

A luminosidade da casca foi inferior no grupo de aves não estressadas. Este fato pode estar associado a um menor nível de deposição de protoporfirinas e a uma menor síntese de pigmentos na região glandular do útero (LU et al., 2021). A indução de estresse oxidativo a nível celular, que é atribuível a produção de radicais livres ou proteção antioxidante inadequada, podem causar um desiquilíbrio no metabolismo. A síntese de pigmentos na glândula da casca do ovo durante a formação da casca é conhecida por ser suscetível a danos por estresse (EBEID; SUZUKI; SUGIYAMA, 2012).

O sistema digestivo e o cérebro se comunicam constantemente por algumas vias complexas envolvendo todo o sistema nervoso. Este complexo caminho pode ser denominado de eixo cérebro-intestino (ROSTAGNO, 2020). Os sinais do cérebro podem modificar as funções motoras, sensoriais, secretoras e imunológicas do trato intestinal e, inversamente, as mensagens viscerais do trato intestinal podem influenciar as funções cerebrais em uma relação de cima para baixo e de baixo para cima (CRYAN et al., 2019).

A permeabilidade intestinal, que a partir do uso da combinação de PO+PE e BS, demonstrou ser inferior aos demais tratamentos. A barreira Intestinal modula a permeabilidade a antígenos e patógenos presentes no intestino, o qual influência o sistema de defesa do animal. Este processo regula a partição de energia entre aquela que irá ser direcionada ao crescimento e desempenho animal e a que vai manter a homeostase do sistema imunológico. Portanto, qualquer fator que afeta a integridade desta barreira intestinal, terá influência direta no desempenho (MACAMBIRA et al., 2021)

Sabe que em situações de estresse térmico ocorre uma redução da disponibilidade de oxigênio e nutrientes devido à diminuição do suprimento sanguíneo e redução da ingestão alimentar, levando a alterações morfológicas e danos na mucosa, resultantes do estresse oxidativo e inflamação (BILAL et al., 2021). Recentemente, descobriu-se que o estresse calórico em frangos de corte

altera a expressão de proteínas nas junções oclusivas do epitélio. O estudo descobriu que os frangos expostos a altas temperaturas apresentaram níveis mais baixos de ocludina e proteínas da zôna ocludente, resultando em redução da resistência elétrica transepitelial (SONG et al., 2014). Este efeito positivo do uso de PO+PE pode estar relacionado há uma melhoria nas condições da barreira intestinal.

O nível sérico de proteína no sangue aumentou logo após o estresse. Este resultado corrobora com o esperado, pois, comumente, em aves em estresse, o consumo de alimento é reduzido, fazendo com que o corpo acelere o catabolismo de reservas para garantir o fornecimento de energia, reduzindo assim os níveis de proteínas e lipídios no sangue (LUO et al., 2018).

A enzima SOD aumentou após o estresse. Animais sob efeito do estresse térmico aumentam a produção de oxigênio reativo (ROS), induzindo a um quadro de estresse oxidativo e reações inflamatórias em tecidos a nível celular (HU et al., 2022). A SOD é um importante antioxidante, atua catalisando a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. O aumento dos níveis de SOD a nível sanguíneo, demonstram como a primeira linha de defesa antioxidante atua na manutenção da estabilidade oxidativa do organismo (CALIK et al., 2022).

3.5 CONCLUSÃO

As ondas de calor ocasionaram pioras nas variáveis de desempenho e nos índices qualitativos dos ovos, além de maior estresse oxidativo nas aves, observado por meio da maior atividade da enzima superóxido dismutase.

A utilização da associação de probióticos + prebióticos e bicarbonato de sódio minimizou os efeitos negativos causados pelas ondas de calor sobre a integridade intestinal, o que refletiu sobre a qualidade dos ovos.

A combinação de prebióticos + probióticos melhorou a conversão alimentar das aves.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme avaliado neste trabalho, o uso individualizado de probióticos e prebióticos não levou a resultados desejados. Porém, com a associação de probióticos e prebióticos, os benefícios na manutenção da qualidade física de ovos em situações de estresse, e na integridade intestinal das aves foram evidenciados, além de uma melhora significativa na conversão alimentar. Isto demonstra a sinergia entre estes aditivos, que diretamente atuam na melhoria da qualidade intestinal, potencializando a microflora intestinal nas tarefas de digestão e absorção.

Existem poucos trabalhos que fazem a associação do uso de prebióticos e probióticos com o intuito de sanar efeitos do estresse térmico em organismos animais, porém está claro que cada aditivo possui particularidades inerentes a manutenção da microbiota intestinal.

Conforme já esperado, o uso de bicarbonato de sódio influenciou de forma positiva a qualidade física dos ovos em situações de estresse térmico. Seu efeito de controle eletrolítico induz uma redução nos efeitos da alcalose respiratória.

Demais estudos são necessários para otimizar o entendimento da ação destes aditivos. A busca constante por novas soluções, e melhores elucidações de processos metabólicos, torna se cada mais importante na produção animal.

REFERÊNCIAS

ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2022.** Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf. Acesso em 02 de abril de 2022.

ABDELQADER, A.; IRSHAID, R.; AL-FATAFTAH, A. R. Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 4, p. 1017–1024, 2013.

AFRC, R. F. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365–378, 1989.

AHMAD, M. M.; MORENG, R. E.; MULLER, H. D. Breed Responses in Body Temperature to Elevated Environmental Temperature and Ascorbic Acid, ... **Poultry Science**, v. 46, n. 1, p. 6–15, 1967.

AHMAD, T. et al. Effect of Potassium Chloride Supplementation in Drinking Water on Broiler Performance Under Heat Stress Conditions. **Poultry Science**, v. 87, n. 7, p. 1276–1280, 2005.

ALBINO, L. F. T. et al. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 742–749, 2006.

ARIF, M. et al. The biodegradation role of Saccharomyces cerevisiae against harmful effects of mycotoxin contaminated diets on broiler performance, immunity status, and carcass characteristics. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 1–11, 2020.

ARUN K PANDA,* SAVARAM S RAMA RAO, M. V. R. AND S. S. S. Effect of probiotic (Lactobacillus sporogenes) feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of White Leghorn layer breeders.

Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 88, p. 43–47, 2008.

BAREKATAIN, M. R. et al. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal Feed Science and Technology**, v. 182, n. 1–4, p. 71–81, 12 jun. 2013.

BARRETT, N. W. et al. Effects of acute and chronic heat stress on the

performance, egg quality, body temperature, and blood gas parameters of laying hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 12, p. 6684–6692, 2019.

BILAL, R. M. et al. Thermal stress and high stocking densities in poultry farms: Potential effects and mitigation strategies. **Journal of Thermal Biology**, v. 99, n. April, p. 102944, 2021.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. DA. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975–981, 2003.

BREIT, S. et al. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, n. MAR, 2018.

BROWN-BRANDL, T. M. et al. Physiological responses of tom turkeys to temperature and humidity change with age. **Journal of Thermal Biology**, v. 22, n. 1, p. 43–52, 1 fev. 1997.

CALIK, A. et al. Influence of dietary vitamin E and selenium supplementation on broilers subjected to heat stress, Part II: oxidative stress, immune response, gut integrity, and intestinal microbiota. **Poultry Science**, v. 101, n. 6, p. 101858, 2022.

CASTRO, F. L. S. et al. The effect of total sulfur amino acid levels on growth performance, egg quality, and bone metabolism in laying hens subjected to high environmental temperature. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4982–4993, 2019.

CHELAKKOT, C.; GHIM, J.; RYU, S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 50, n. 8, 2018.

CRYAN, J. F. et al. The microbiota-gut-brain axis. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 4, p. 1877–2013, 2019.

DING, J. et al. Effects of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance, blood hematological and biochemical profile of broiler chickens exposed to chronic heat stress. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v. 22, n. 1, p. 1–8, 2020.

DOSOKY, W. M. et al. The influences of Tylosine and licorice dietary

supplementation in terms of the productive performance, serum parameters, egg yolk lipid profile, antioxidant and immunity status of laying Japanese quail under heat stress condition. **Journal of Thermal Biology**, v. 99, p. 1–7, 2021.

EBEID, T. A.; SUZUKI, T.; SUGIYAMA, T. High ambient temperature influences eggshell quality and calbindin-D28k localization of eggshell gland and all intestinal segments of laying hens. **Poultry Science**, v. 91, n. 9, p. 2282–2287, 2012a.

EL-SHALL, N. A. et al. The simultaneous administration of a probiotic or prebiotic with live Salmonella vaccine improves growth performance and reduces fecal shedding of the bacterium in Salmonella-challenged broilers. **Animals**, v. 10, n. 1, 2020.

GEORGE KERRY, R. et al. Benefaction of probiotics for human health: A review. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 3, p. 927–939, 2018.

GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

HASAN, S. et al. Influences of Prebiotic on Growth Performance and Hemato-Biochemical Parameters in Broiler During Heat Stress. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v. 12, 22 dez. 2014.

HASSANI, D. H. AL; DARAJI, H. J. AL; HASSAN, I. A. A. Effects of dietary sodium bicarbonate on some physiological parameters in Hisex Brown layers reared under high environmental temperature. v. 13, p. 2001, 2001.

HU, J. Y. et al. Effect of a synbiotic supplement as an antibiotic alternative on broiler skeletal, physiological, and oxidative parameters under heat stress. **Poultry Science**, v. 101, n. 4, 2022.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. VAN. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182–188, 2011.

KADYKALO, S. et al. The value of anticoccidials for sustainable global poultry production. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 51, n. 3, p. 304–

310, 2018.

KAMBOH; AA, ARAIN; MA, MUGHAL; MJ, ZAMAN; A, ARAINL ZM, S. A. Flavonoids: Health promoting phytochemicals for animal production-a Review. **Journal of Animal Health and Production**, v. 3, n. 1, p. 6–13, 2015.

KARL, P. J. et al. Effects of psychological, environmental and physical stressors on the gut microbiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. SEP, p. 1–32, 2018.

KHATTAK, F. M. et al. Stress in Broilers. **Zoological Society of Pakistan**, n. January 2015, 2012.

KIM, D. H. et al. Impact of relative humidity on the laying performance, egg quality, and physiological stress responses of laying hens exposed to high ambient temperature. **Journal of Thermal Biology**, v. 103, 1 jan. 2022.

KIRUNDA, D. F. K.; SCHEIDELER, S. E.; MCKEE, S. R. The efficacy of vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. **Poultry Science**, v. 80, n. 9, p. 1378–1383, 2001.

KOGUT, M. H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, n. October 2018, p. 32–40, 2019.

LARA, L. J.; ROSTAGNO, M. H. Impact of heat stress on poultry production. **Animals**, v. 3, n. 2, p. 356–369, 2013.

LEANDRO NAGAE KURITZA, P. W. AND E. S. Probiotics_on_poultry_producti.PDF. **Ciência Rural**, v. vol 44, n. 8, p. vol. 44, n° 8 p. 1457+, 2014.

LI, C. Y. et al. Restraint-induced corticotrophin-releasing hormone elevation triggers apoptosis of ovarian cells and impairs oocyte competence via activation of the Fas/FasL system. **Biology of Reproduction**, v. 99, n. 4, p. 828–837, 2018.

LILLEHOJ, H. S. et al. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chickens. BMC Proceedings. Anais...BioMed Central, dez. 2011

LIU, J. et al. Assay considerations for fluorescein isothiocyanate-dextran (FITC-

d): an indicator of intestinal permeability in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 100, n. 7, p. 101202, 2021.

LU, M. Y. et al. Mechanisms associated with the depigmentation of brown eggshells: a review. **Poultry Science**, v. 100, n. 8, 2021.

LUO, J. et al. Effect of epigallocatechin gallate on growth performance and serum biochemical metabolites in heat-stressed broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 2, p. 599–606, 2018.

MACAMBIRA, G. M. et al. Carboidrases exógenas e a saúde intestinal de aves Exogenous carbohydrases and gut health in birds Las carbohidrasas exógenas y la salud intestinal de los animales no rumiantes. v. 2021, p. 1–16, 2021.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; MAIORKA, A. Aspectos fisiológicos e de manejo para manutenção da homeostase térmica e controle de síndromes metabólicas. Produção de frangos de corte. [s.l: s.n.].

MACHADO, N. J. B. et al. New perspectives about the use of probiotics in diets to broilers. **Rev. Cient. Avic. Suin.,** v. 5, n. 2, p. 13, 2019.

MANAFI, M.; HEDAYATI, M.; MIRZAIE, S. Probiotic Bacillus species and Saccharomyces boulardii improve performance, gut histology and immunity in broiler chickens. **South African Journal of Animal Sciences**, v. 48, n. 2, p. 379–389, 2018.

MIKULSKI, D. et al. Effects of dietary probiotic (Pediococcus acidilactici) supplementation on productive performance, egg quality, and body composition in laying hens fed diets varying in energy density. **Poultry Science**, v. 99, n. 4, p. 2275–2285, 2020.

ORTIZ, D. et al. Biofortified orange corn increases xanthophyll density and yolk pigmentation in egg yolks from laying hens. **Poultry Science**, v. 100, n. 7, p. 101117, 2021.

REIS, T. L.; VIEITES, F. M. Antibiótico, Prebiótico, Probiótico E Simbiótico Em Rações De Frangos De Corte E Galinhas Poedeiras. **Ciência Animal**, v. 29, n. 3, p. 133–147, 2019.

RICHARDS, S. PHYSIOLOGY OF THERMAL PANTING IN BIRDS To cite this

version: HAL ld: hal-00896587. **Annales de biologie animale, biochimie, biophysique**, v. 10, p. 151–168, 1970.

RICKE, S. C. et al. Prebiotics and the poultry gastrointestinal tract microbiome. **Poultry Science**, v. 99, n. 2, p. 670–677, 2020.

RICKE, S. C. Prebiotics and Alternative Poultry Production. **Poultry Science**, p. 101174, 2021.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabela Brasileira de Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 2. ed. Viçosa: Biblioteca UFV, 2017. v. 1

ROSTAGNO, M. H. Effects of heat stress on the gut health of poultry. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 4, p. 1–9, 2020.

SAEED, M. et al. Heat stress management in poultry farms: A comprehensive overview. **Journal of Thermal Biology**, v. 84, n. February, p. 414–425, 2019.

SAHIN, N. et al. Effects of the supplemental chromium form on performance and metabolic profile in laying hens exposed to heat stress. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1298–1305, 2018.

SHI, D. et al. Impact of gut microbiota structure in heat-stressed broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 6, p. 2405–2413, 2019.

SHI, F. et al. Bacillus subtilis H2 modulates immune response, fat metabolism and bacterial flora in the gut of grass carp (Ctenopharyngodon idellus). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 106, p. 8–20, 1 nov. 2020.

SILVA, L. P. DA; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983–990, 2003.

SLAWINSKA, A. et al. Avian model to mitigate gut-derived immune response and oxidative stress during heat. **BioSystems**, v. 178, n. January, p. 10–15, 2019.

SONG, J. et al. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 581–588, 1 mar. 2014.

SWAGGERTY, C. L. et al. Modulation of the immune response to improve health and reduce foodborne pathogens in poultry. **Microorganisms**, v. 7, n. 3, p. 1–

10, 2019.

TEETER, R. G. et al. Chronic heat stress and respiratory alkalosis: occurrence and treatment in broiler chicks. **Poultry science**, v. 64, n. 6, p. 1060–1064, 1985.

TENG, P. Y.; KIM, W. K. Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. OCT, p. 1–18, 2018.

UPADHAYA, S. D.; RUDEAUX, F.; KIM, I. H. Efficacy of dietary Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis supplementation continuously in pullet and lay period on egg production, excreta microflora, and egg quality of Hyline-Brown birds. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4722–4728, 2019.

VAN DEN HEUVEL, E. G. H. M. et al. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 544–548, 1999.

WANG, J. et al. Effects of dietary Bacillus subtilis supplementation and calcium levels on performance and eggshell quality of laying hens in the late phase of production. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 1–10, 2021.

WANG, X. J. et al. Stress impairs the reproduction of laying hens: an involvement of energy. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 4, p. 845–856, 1 dez. 2017.

WANG, X. J. et al. Effects of high ambient temperature on the community structure and composition of ileal microbiome of broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 6, p. 2153–2158, 2018.

WINDISCH, W. et al. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry1. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E140–E148, abr. 2008.

XIANG, Q. et al. Effects of different probiotics on laying performance, egg quality, oxidative status, and gut health in laying hens. **Animals**, v. 9, n. 12, 2019.

YAQOOB, M. U. et al. The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology. **Poultry Science**, p. 101143, 2021.

ZHU, L. et al. Heat stress mediates changes in fecal microbiome and functional pathways of laying hens. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 1, p. 461–472, 2019.

ZOKAEIFAR, H. et al. Effects of Bacillus subtilis on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, Litopenaeus vannamei. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 33, n. 4, p. 683–689, 2012.

ZOU, X. Y. et al. Bacillus subtilis inhibits intestinal inflammation and oxidative stress by regulating gut flora and related metabolites in laying hens. **Animal**, v. 16, n. 3, 2022.

ANEXO A - COMPROVANTE DO CEUA



Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Uso de aditivos alimentares como ferramentas nutricionais para minimizar impactos gerados pelo do estresse térmico em galinhas poedeiras.", protocolada sob o CEUA nº 3297210721 (io 001602), sob a responsabilidade de Marcel Manente Bolago - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animai (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 23/07/2021.

We certify that the proposal "Use of feed additives as nutritional tools to minimize impacts generated by heat stress in laying hens. , utilizing 140 Birds (140 females), protocol number CEUA 3297210721 (io 001402), under the responsibility of Marcel Manente Bolago - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was approved by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 07/23/2021.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Académica)

Vigência da Proposta: de 08/2021 a 11/2021 Area: Zootecnia

Origem: Animais provenientes de outros projetos

Espécie: Aves sexo: Fémeas idade: 30 a 50 semanas N: 140

Linhagem: Isa Brown Peso: 1800 a 2200 g

Local do experimento: O experimento será realizado no aviário experimental para galinhas poedeiras do setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da UDESC Oeste.

Lages, 10 de julho de 2022

José Cristani

José Oustani

Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais Universidade do Estado de Santa Catarina