

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

**ALINE APARECIDA LEONARDO**

**EXTRATO DE ORÉGANO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

**CHAPECÓ**

**2022**

**ALINE APARECIDA LEONARDO**

**EXTRATO DE ORÉGANO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

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. Diovani Paiano  
Coorientador: Prof. Dr. Aleksandro S. da Silva

**CHAPECÓ**

**2022**

Leonardo, Aline Aparecida  
EXTRATO DE ORÉGANO NA ALIMENTAÇÃO DE  
FRANGOS DE CORTE / Aline Aparecida Leonardo. -- 2022.  
45 p.

Orientador: Diovani Paiano  
Coorientador: Aleksandro S. da Silva  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste,  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2022.

1. aditivo alternativo. 2. avicultura. 3. estresse oxidativo. I.  
Paiano, Diovani. II. Silva, Aleksandro S. da . III. Universidade  
do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior  
do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV.  
Titulo.

**ALINE APARECIDA LEONARDO**  
**EXTRATO DE ORÉGANO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

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. Diovani Paiano  
Coorientador: Prof. Dr. Aleksandro S. da Silva

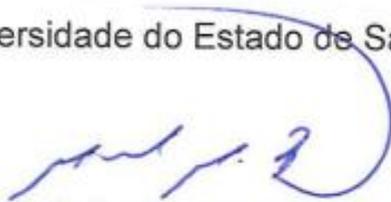
**BANCA EXAMINADORA**

Membros:



Prof. Dr. Diovani Paiano

Universidade do Estado de Santa Catarina



Prof. Dr. Marcel Manente Boiago

Universidade do Estado de Santa Catarina



Dra. Raquel Lunedo  
Master Agroindustrial

Chapecó, 29 de agosto de 2022

Ao meu pai Edegar Leonardo, que foi o  
melhor que eu poderia ter.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me dar a dádiva da vida, saúde, capacidade física e mental para realizar os meus sonhos.

A UDESC por me proporcionar a graduação e agora o mestrado, em que minha profissão se tornou um de meus bens mais valiosos.

Ao Departamento de engenharia de alimentos e engenharia química UDESC Oeste pela parceria na elaboração dos extratos.

Quero agradecer também ao meu orientador Dr. Diovani Paiano, por me orientar, e topou essa empreitada comigo, pela paciência, pela preocupação e esforço.

Agradeço ao meu Coorientador Aleksandro Schafer Da Silva, por sempre estar disponível e por toda a ajuda e orientações.

Aos mestrandos e graduandos que auxiliaram a execução do trabalho.

Agradeço a todo o corpo docente de UDESC-Oeste, ao PPGZOO por estarem disponíveis a qualquer momento que precisei.

“A vontade não é um atributo especial do espírito; é o pensamento chegando a um certo grau de energia; é o pensamento transformado em força motriz.” (Kardec, 1860)

## RESUMO

Para maximizar a produção e desempenho animal é comum o uso de aditivos antimicrobianos melhoradores de desempenho, com vistas a modular o crescimento microbiano e promover melhor desempenho. No entanto, há demanda por produção sem o referido tipo de aditivo, com sua proibição já existente em diversos locais do mundo. A proibição pode ocasionar prejuízos ao desempenho zootécnico e consequente aumento dos preços ao consumidor final, o que leva a busca por novos tipos de aditivos. Neste sentido os extratos vegetais como o extrato de orégano (*Origanum vulgare*) por possuir propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes podem ser uma alternativa. Assim, nossa hipótese foi que o uso de extrato de orégano em rações na fase inicial de frangos de corte poderia amenizar os efeitos da retirada dos aditivos antimicrobianos promotores de crescimento. Desta forma, o objetivo com o presente trabalho foi avaliar uso de aditivo fitogênico (extrato de orégano), nas dietas de frangos de corte e seus efeitos sobre desempenho, bioquímica sérica, indicadores hepáticos de estresse oxidativo, rendimento de carcaça e morfologia intestinal. Foram utilizados 360 pintinhos, divididos em quatro tratamentos com seis repetições de 15 aves cada. Os tratamentos foram denominados de controle (com o uso de enramicina na ração – 10 ppm) e três níveis de extrato de orégano na ração (50, 100 ou 150 ppm). Os tratamentos descritos seguiram até os 21 dias de alojamento, dos 22 aos 42 dias, manteve-se o tratamento controle e os tratamentos com extrato de oréganos receberam a mesma dieta isenta de extrato de orégano e de aditivos promotores de crescimento, com vista a avaliar o efeito residual. A adição de 150 ppm de extrato de orégano na ração possibilitou ganho de peso, conversão alimentar e altura de vilo duodenal similar ao uso de rações com aditivo promotor de crescimento até o 21º dia e os níveis de tiois proteicos foram maiores no nível de 50 ppm de extrato de orégano. As características de carcaça não foram afetadas pelos níveis de extrato de orégano utilizados. Não houve efeitos residuais para o ganho de peso, mas houve efeitos residuais dos níveis de extrato na morfologia intestinal com comportamento quadrático para os níveis de extrato. Os resultados apontam os derivados do orégano como promissores substitutos ao uso de aditivos antimicrobianos como melhoradores de desempenho.

**Palavras-chave:** Aditivo alternativo; Avicultura; Estresse oxidativo; Promotor de crescimento.

## ABSTRACT

To maximize animal performance, the use of growth promoting additives is common, to modulate microbial growth and promote better performance. However, there is demand for production without the type of additive that can lead to losses, which leads to the search for new types of additives. In this sense, plant extracts such as oregano extract (*Origanum vulgare*) for their antimicrobial and antioxidant properties can be an alternative. Thus, the objective of the present work was to evaluate the use of phytogenic additive (oregano extract) in broiler diets. A total of 360 chicks were divided into 4 treatments with 6 replicates of (15 birds/repeat), called control (enramycin 10 ppm) and 50, 100 or 150 ppg of oregano extract in feed, respectively. The treatments described continued until 21 days of housing, from 22 to 42 days, the control treatment was maintained and the treatments with oregano extract received the same diet free of extract and growth-promoting additives, to evaluate the effect residual. Performance, serum biochemistry and liver indicators of antioxidant status, intestinal morphology and carcass characteristics were evaluated. The addition of 150 ppm of oregano extract in the feed allowed weight gain, feed conversion and duodenal villus height similar to the use of feeds with growth promoter additive until the 21st day and the levels of protein thiols were higher at the 50 ppm level of oregano extract. Carcass traits were not affected by the levels of oregano extract used. There were no residual effects for weight gain, but there were residual effects of extract levels on intestinal morphology with quadratic behavior for extract levels. The results point to oregano derivatives as promising substitutes for the use of antimicrobial additives as growth promoters.

**Keywords:** Alternative additive; Poultry farming; Oxidative stress; Growth promoter

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das rações basais utilizadas no experimento. ....	26
Tabela 2 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com extrato de orégano (1-21 dias) e efeitos residuais até o abate aos 42 dias. ....	29
Tabela 3 – Rendimento de cortes e carcaça em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias de idade e seu efeito residual dos 21 dias até o abate aos 42 dias. ....	30
Tabela 4 - Indicadores do status antioxidante hepático das aves suplementadas com extrato de orégano dos 1 aos 21 dias e efeito residual a partir dos 21 dias até 42 dias. ....	31
Tabela 5 - Concentrações séricas em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias e seus efeitos residuais a partir dos 21 dias até o abate aos 42 dias. ....	32
Tabela 6 – Altura de vilosidades (VILO), profundidade de cripta (CRIP) e relação: altura de vilosidade:profundidade de cripta (VILO:CRIP) em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias e seu efeito residual dos 21 dias até o abate aos 42 dias. ....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACUR	Ácido Úrico
ALB	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CA	Conversão alimentar
CEO	Centro de Educação Superior do Oeste
COLES	Colesterol
CON	Controle
CONSEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CR	Consumo de ração
DZO	Departamento de Zootecnia
EO	Extrato de orégano
EROS	Espécies reativas de oxigênio
GGT	Gama glutamil transferase
GP	Ganho de peso
GSH	Glutationa
GSH - Rd	Glutationa redutase
GSSG	Glutationa oxidada
GST	Glutationa S-transferase
PB	Proteína bruta
PCORP	Peso corporal
PI	Peso Inicial
PT	Proteína
REND.CAR	Rendimento de carcaça
REND.DOR	Rendimento de dorso
REND.GOR	Rendimento de gordura
REND.PEI	Rendimento de peito
REND.PER	Rendimento de pernas
RPM	Rotação por minuto
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TRIGL	Triglicerídeos
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
1.1	ORÉGANO ( <i>ORIGANUM VULGARE</i> ) .....	15
1.2	ESTRESSE OXIDATIVO .....	17
<b>1.2.2</b>	<b>O QUE É UM RADICAL LIVRE? .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2.3</b>	<b>MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES.....</b>	<b>19</b>
1.2.3.1	<i>GSH (Glutathiona Reduzida).....</i>	<i>20</i>
1.2.3.2	<i>Glutathiona Redutase (GSH – Rd).....</i>	<i>20</i>
1.2.3.3	<i>Superóxido Dismutase (SOD) .....</i>	<i>20</i>
1.3	EFEITOS DOS COMPONENTES DO ORÉGANO SOB AS AVES .....	21
<b>2</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>40</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
	<b>ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA .....</b>	<b>45</b>

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 ORÉGANO (*Origanum vulgare*)

O orégano foi classificado em 1754 pelo botânico Lineu como planta do gênero *Origanum*, por causa da sua morfologia labiada com flores quase que em picos, brácteas conspícuas por diversas vezes coloridas e cálices com cinco dentes iguais (KINTZIOS, 2002).

Botanicamente o orégano é caracterizado como caméfito sublenhoso, de caule até 90 cm, hirsutos ou aveludados, eretos e às vezes avermelhado (CUNHA; RIBEIRO, 2009a). É uma planta de folhas ovadas inteiras glabras ou pilosas, pontuado-glandulosas e pecioladas (CUNHA; RIBEIRO, 2009b). Sua floração ocorre no cimo dos ramos, numerosas e em cores brancas, púrpura ou malva alocadas em espigas curtas, agrupadas em panículas (LIENTAGHI, 2002).

Esta planta perene tem sua propagação concebida por meio de sementes, estacas ou divisões de raiz, cresce com facilidade em solos calcários, drenados, em que o pH ideal para seu desenvolvimento é de 6,8 e boa incidência luminosa, é amplamente utilizada com planta de colheita ou ornamental (KINTZIOS, 2002).

A espécie *Origanum vulgare* é oriunda do oriente médio, é uma planta popularmente utilizada, principalmente como condimento culinário porém, existe certa dificuldade em identificar sua fonte botânica, já que o gênero possui 39 espécies. O orégano se distribui por toda a Europa, ao leste e centro da Ásia, até Taiwan. É encontrada na América do Norte, onde foi introduzida como planta condimental (PIRES, 2013a).

Os principais compostos do orégano, estão, em sua grande maioria concentrados, nas folhas e nas flores, de onde são extraídos os extratos e óleos essenciais. Os óleos essenciais possuem cor amarelada, com variações de coloração, na medida que seus componentes variam. A presença dos fenóis variam de 50 até 90% (timol e carvacrol), compostos sesquiterpênicos ( $\beta$ -bisaboleno e  $\beta$ -cariofileno) e compostos terpênicos ( $\alpha$ -terpineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno, acetato de linalilo, linalol, borneol,  $p$ -cimeno), constitui-se também de flavonoides, derivados do apigenol, luteolol, campferol, diosmetol e os ácidos

polifenólicos e seus ésteres (ácidos cafeico, clorogénico, rosmarínico) (CUNHA; RIBEIRO, 2009b). Existem também, em quantidade reduzida e de menor importância os taninos, a goma, constituintes amargos e os triterpenos, que são derivados dos ácidos ursólico e oleanólico (KINTZIOS, 2002).

O orégano também apresenta atividades antimicrobianas já testadas em vários segmentos, desde a conservação de alimentos, até como aditivo na nutrição humana e animal (RADÜNZ et al., 2021; ZOU et al., 2016). A predominância dos fenóis pode estar correlacionada com o efeito antimicrobiano, que está diretamente ligado com a estrutura destes, em que este efeito é atribuído à presença de um núcleo aromático e de um grupo OH fenólico que é reativo, o que leva a formação de pontes de hidrogênio com os sítios ativos de enzimas microbianas alvo (PIRES, 2013b).

Na experimentação de cinco marcas de óleos essenciais de orégano no controle de *Salmonella enteritidis* não foram encontradas diferenças no efeito inibitório entre os produtos, mesmo com as variações nos teores de carvacrol (constituente de maior prevalência) e timol. Marcas de óleos que possuíam em sua composição além do carvacrol e timol p-cimeno e Y-terpineno apresentaram valores ligeiramente maiores no halo de inibição para *S. enteritidis*, somados a outros estudos esses resultados demonstram que a presença de outros componentes além do carvacrol e timol influenciam no efeito antimicrobiano por propiciar interações sinérgicas aditivas ou antagônicas (SILVA et al., 2010a).

Ainda é possível verificar que a variedade e local de cultivo do orégano, são capazes de interferir na composição qualitativa do óleo essencial extraído (SILVA et al., 2010b). Na comparação da utilização de extrato de orégano e extrato de alecrim adicionados ao queijo tipo ricota, obteve-se como resultado a superioridade do extrato de alecrim com maior atividade antioxidante (SANTOS et al., 2014). Ao observar tais resultados, é possível afirmar que ainda são necessários estudos acerca das dosagens e variabilidade de composição do extrato de orégano.

Figura 1 - *Origanum vulgare* (Orégano)



(PIRES, 2013)

## 1.2 ESTRESSE OXIDATIVO

Na vida aeróbia a oxidação ocorre como processo natural nos organismos com contínua formação à medida que os processos fisiológicos ocorrem. No decorrer dos processos metabólicos, os radicais atuam como mediadores para que ocorra a transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas. Sua produção em escala moderada ocasiona em produção de energia para a célula (ATP), através da cadeia transportadora de elétrons, além, das mais variadas funções fisiológicas no organismo: estão envolvidos na, síntese de substâncias biológicas, regulação do crescimento celular, fagocitose, sinalizações intercelulares importantes (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A produção contínua de radicais livres deu origem a mecanismos de defesa antioxidante cujo objetivo é limitar os níveis das espécies reativas no meio e controlar danos em recorrência da presença destes (BARBOSA et al., 2010).

Quando há um processo de instalação de um processo oxidativo ocorre desequilíbrio entre a produção de oxidantes e antioxidantes, em favor da presença excessiva de radicais livres, ou da velocidade de neutralização destas. Esse processo leva à oxidação das biomoléculas, havendo perda de suas

funções biológicas e até desequilíbrio homeostático, em manifestação ocorre o dano oxidativo potencial contra a célula (BARBOSA et al., 2010).

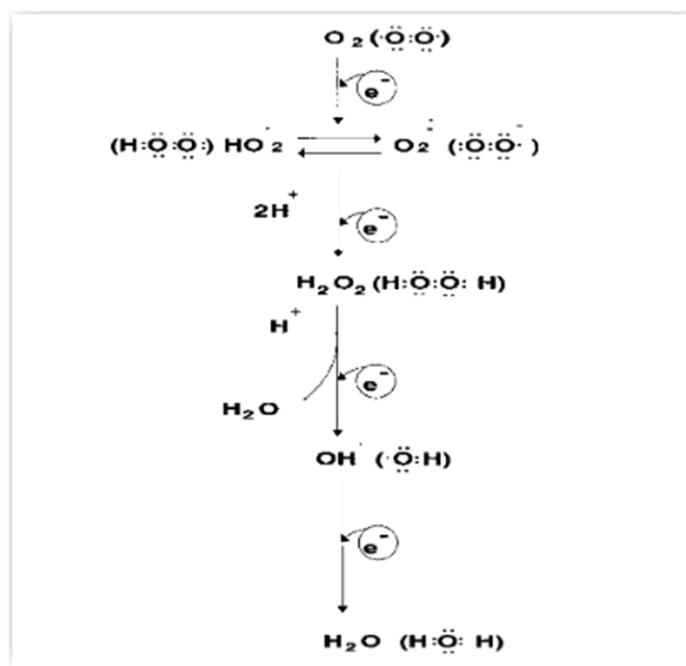
“Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo” (HALLIWELL et al., 1998).

### 1.2.2 O QUE É UM RADICAL LIVRE?

O principal local de produção de radicais livres é na mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons (WOLPE SIMAS; GRANZOTI; PORSCH, 2019).. Mas ocorre também nas membranas e no citoplasma.

Nas mitocôndrias o  $O_2$  passa por redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, o que leva a formação de água (Figura 1). A enzima responsável por essa reação é a citocromo oxidase. Ao final da cadeia transportadora de elétrons, esta enzima oxida quatro moléculas de citocromo C e remove um elétron de cada uma delas. Tais elétrons são adicionados ao  $O_2$  para formação de água. Ao agir, a citocromo oxidase controla a formação de radicais livres, e impede sua formação excessiva na mitocôndria, porém, 2 a 5% do oxigênio metabolizados nas mitocôndrias são desviados para outra rota metabólica e reduzidos de forma univalente e originam os radicais livres (LOURDES PIRES BIANCHI; MARIA GREGGI ANTUNES, 1999).

Figura 2 - Redução tetravalente do oxigênio molecular ( $O_2$ ) na mitocôndria até a formação de água ( $H_2O$ ). Várias espécies reativas de  $O_2$  são formadas no processo.



(FERREIRA, MATSUBARA, 1997)

De forma simplificada as camadas eletrônicas de um componente são denominadas K, L, M e N, e seus subníveis de s, p, d, f. Assim, o termo radical livre se refere a molécula ou átomo altamente reativo, que contém um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. É este não emparelhamento de elétrons na última camada que confere esta alta reatividade a essas moléculas ou átomos (BARBOSA et al., 2010).

### 1.2.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES

É fundamental que ocorra um equilíbrio entre os agentes óxido redutores e o sistema de defesa antioxidante. A proteção da célula se dá por meio de um sistema de defesa que atua em duas linhas. A primeira linha como detoxificadora do agente, antes que ele cause uma lesão: GSH, SOD (superóxido – dismutase), catalase e GSH – Px e vitamina E. A segunda linha, é constituída pelo ácido ascórbico, pela glutathiona redutase (GSH- Rd) e pela GSH – Px atuam no

mecanismo de defesa quando há uma lesão já ocorrida, e um radical livre ocasiona lesão em uma célula (BARBOSA et al., 2010).

#### 1.2.3.1 GSH (*Glutathiona Reduzida*)

O GSH (L- $\gamma$ -glutamil-cis-teinil-glicina) está presente na maioria das células e é o tiol (-SH) mais abundante no meio intracelular. A capacidade redutora é determinada pelo grupamento -SH, presente na cisteína. Ela é capaz de proteger a célula de lesão pela exposição a agentes como os íons de ferro, oxigênio hiperbárico, radiação e luz ultravioleta. Pode se considerar o GSH um dos mais importantes agentes de defesa da célula contra o estresse oxidativo. O GSH também age como transportadora e reservatório de cisteína e participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos da lipoperoxidação. Pode ainda participar da formação de DNA, proteínas e algumas prostaglandinas (FERREIRA; MATSUDA, 1997).

#### 1.2.3.2 *Glutathiona Redutase (GSH – Rd)*

Após contato da GSH ao agente oxidante, ocorre sua oxidação a GSSG<sup>21</sup>. A recuperação da GSH é feita pela enzima GSH-Rd, é etapa fundamental para manter a integridade do sistema de proteção celular. Normalmente, a reserva intracelular de GSH-Rd é alta e apenas uma grave deficiência desta enzima resultará em sinais clínicos. A GSH-Rd é uma flavoproteína e depende da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida (NADPH) e, portanto, também dependente da integridade da via das pentoses. Sob condições de diminuição do fornecimento de NADPH, como no jejum e na deficiência de glicose6-fosfato desidrogenase (G6PD), há prejuízo da função da GSH-Rd<sup>15</sup> (FERREIRA; MATSUDA, 1997).

#### 1.2.3.3 *Superóxido Dismutase (SOD)*

A SOD está inserida em uma família de enzimas com diferentes grupos prostéticos em sua composição. Nos sistemas eucariontes existem duas formas de SOD. A forma SOD-cobre-zinco está presente principalmente no citosol,

enquanto SOD-manganês está localizada primariamente na mitocôndria. Esta enzima também tem papel antioxidante, já que catalisa a dismutação do radical superóxido em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, na presença do próton H<sup>+</sup>. Durante o processo hemolítico decorrente de agressão térmica, os glóbulos vermelhos humanos e bovinos exibem queda da atividade SOD. A adição desta enzima também protege o DNA de lesões provocadas pela sobrecarga de Fe<sup>+++</sup> (BARBOSA et al., 2010)

Além dos principais antioxidantes citados acima, ainda existem, diversos deles como a vitamina E, os demais tiois, os beta-carotenos entre outros. E seu papel é de extrema importância para a preservação das funções biológicas nos organismos.

### 1.3 EFEITOS DOS COMPONENTES DO ORÉGANO SOB AS AVES

Os compostos do orégano têm sido testados nos mais diversos âmbitos e aspectos dentro da produção animal. Na criação de frangos de corte existem alguns resultados que podem ser tomados como base para novos experimentos e testagem de dosagens. Ao avaliar diferentes dosagens de extrato de orégano (EO), em comparação com um grupo controle, com inclusão de antimicrobianos sobre o desempenho, sistema imune (peso e tamanho da burca de Fabricius, baço e timo), as características fisiológicas do trato gastrointestinal, microbiologia do ceco e pH do ceco e do duodeno, Fukayama et al. (2005a) não obtiveram diferença entre os tratamentos, apenas observaram ligeira diminuição de bactérias ao passo que os níveis de inclusão de EO eram aumentados.

Resultados satisfatórios foram encontrados (PENG et al., 2016a) ao comparar inclusão de óleo essencial de orégano (OEO) com avilamicina em frangos de corte, em que o grupo que consumiu ração com adição de óleo de orégano teve maior ganho médio diário (GMD), melhor consumo de ração e conversão alimentar (CA) e menor taxa de deposição de gordura abdominal em relação ao grupo que recebeu ração com aditivo promotor de crescimento. Os autores do estudo previamente descrito também observaram nesta pesquisa que no jejuno a relação altura de vilosidade e profundidade de cripta foi melhor no grupo de animais que recebeu OEO. Também obtiveram resultados semelhantes

(ZHANG et al., 2021a) ao testar antibióticos associados com OEO provenientes de duas fontes: uma sintética e a outra natural, além disso avaliaram o status oxidativo sérico e intestinal aos 21 e 42 dias. As aves que receberam o tratamento com OEO tiveram aumento de atividade da glutathione peroxidase, superóxido dismutase e glutathione redutase no dia 21 e a capacidade da atividade antioxidante total aumentada aos 42 dias tanto para níveis séricos quanto para níveis intestinais, obtiveram também aumento de IgA e aumento de atividade das enzimas quimiotripsina, lipase e amilase no duodeno e população reduzida de *Escherichia coli*.

A variável da população de *Lactobacillus* aumentada no intestino das aves deve ser enfatizada sobre essa pesquisa, sabe-se da importância e proteção que essa população traz contra bactérias patogênicas. Já, em testes de inclusão de ácidos orgânicos associados ao extrato de orégano para controle de *Salmonella enteritidis* (JUNIOR et al., 2014), os autores concluíram que essa associação é capaz de reduzir consideravelmente e até eliminar a *S. enteritidis* no trato digestório das aves. Este efeito antimicrobiano atribuído está relacionado a capacidade dos fenóis de difundir sua forma dissociada através da membrana semipermeável para o interior da célula. Internamente o pH celular encontra-se próximo a 7,00, ocorre dissociação e supressão de enzimas celulares bacterianas e sistemas de transporte de nutrientes como resultado ocasionam a morte da célula bacteriana.

Ao comparar a inclusão eficaz da inclusão de virginamicina e orégano em pó (RI et al., 2017a) obteve resultados semelhantes aos de outros estudos (ZHANG et al., 2021b), (PENG et al., 2016b), no qual o tratamento que recebeu orégano em pó obteve maior ganho médio diário e maior consumo de ração. Os órgãos imunológicos não se diferenciaram em função dos tratamentos, ainda, os frangos alimentados com orégano em pó apresentaram maior atividade antioxidante total aos 21 e 42 dias. Os estudos prévios, já realizados demonstram o potencial dos componentes do orégano.

## 2 INTRODUÇÃO

Visto pressões de mercado consumidor, o uso de antibióticos como promotores de crescimento foi extinto em diversas regiões do mundo como por exemplo a União europeia (ARTHUR, 2018).

Essa extinção ocasionou desafios ainda maiores para atingir o desempenho desejável e um bom controle sanitário ao longo da cadeia de produção animal, que levou à necessidade de novos aditivos como substitutos à retirada dos aditivos antimicrobianos. Neste novo contexto, os extratos vegetais são uma boa opção visto suas características antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Entre as plantas que podem ser utilizadas na produção animal, está o orégano, que possui propriedades de controle e eliminação de microrganismos indesejáveis (patogênicos); assim como potente ação antioxidante, que pode ser uma característica desejável ao diminuir o estresse oxidativo e com isso promover melhor status de saúde. Adicionalmente, possui propriedades antioxidantes que podem ser benéficas na redução do estresse oxidativo dos animais e com isso melhorar o metabolismo de nutrientes e o sistema imunológico (ZAOUI et al., 2022).

Os constituintes mais abundantes no orégano são carvacrol (constituente de maior prevalência) e timol (CUNHA; RIBEIRO, 2009b). A predominância destes fenóis está correlacionada com o efeito antimicrobiano pela sua estrutura, que possui um núcleo aromático e de um grupo OH fenólico que é reativo e leva a formação de pontes de hidrogênio com os sítios ativos de enzimas microbianas alvo (PIRES, 2013b). Para o extrato aquoso de orégano os estudos são escassos, mas seu óleo essencial já foi estudado nas mais diversas espécies como, bezerras (KATSOULOS et al., 2017, HEISLER et al., 2020), suínos (NEILL et al., 2006, TAN et al., 2015), peixes (MAGOUZ et al., 2022) e aves (RI et al., 2017b). Desta forma, neste estudo temos como hipótese que o extrato aquoso de oréganos afetará positivamente as aves. Com isso, nosso objetivo será avaliar os efeitos da inclusão de extrato de orégano na dieta de frangos de corte, como possível substituto aos promotores de crescimento.

### 3 METODOLOGIA

Todos os procedimentos utilizados no presente projeto foram previamente aprovados pelo comitê de ética do uso de animais na pesquisa (CEUA) da UDESC, assim como as regras vigentes estabelecidas CONCEA.

Foram utilizados frangos de corte machos de linhagem comercial. Após a chegada, foram pesados, de forma que o desvio padrão do peso entre um box e outro não fosse superior a 10% alojados em 24 boxes experimentais com capacidade de 15 aves/box (com peso médio dos boxes de  $40,4 \pm 1,1$ g), em um total de 360 aves.

A pesquisa foi realizada no setor de avicultura do DZO/UDESC, na Fazenda Experimental do Centro de Educação Superior do Oeste FECEO, no município de Guatambu-SC ( $27^{\circ}09'S$ ;  $52^{\circ}47'O$ , 534 m). Foi utilizado um galpão experimental que possuía área de 6X36 m, os boxes em que as aves foram alocadas contavam com 2X1 m e sistema automatizado de controle de temperatura com placas evaporativas e exaustores visando manter a termoneutralidade das aves em acordo com o manual da linhagem (COBB, 2018). Adicionalmente, nas duas primeiras semanas, em cada box, foi instalada uma lâmpada de infravermelho de 250 W de potência, posicionada no centro geométrico do box ajustada à 20 cm da altura das aves.

Para o trabalho foi adotado um período experimental de 42 dias, subdividido em três fases 1 a 7 dias, 7 a 21 dias, 22 aos 35 dias e 35 a 42 dias. Os tratamentos consistiram em ração basal (Tabela 01), considerada como tratamento controle (CON) contendo o aditivo antimicrobiano como promotor de crescimento (enramicina – 10 ppm), e ração basal acrescida de três níveis de extrato de orégano nas rações nas doses de 50, 100 ou 150 ppm, denominados de EO50, EO100 e EO150, respectivamente.

Foram utilizadas as recomendações nutricionais preconizadas nas Tabelas brasileiras para aves e suínos (ROSTAGNO et al., 2017). A aplicação do extrato de orégano foi realizada diluído em água (1 g extrato:5 mL água), as rações foram disponibilizadas à vontade para as aves.

Os níveis de extrato foram aplicados apenas no período de 1- 21 dias, para os demais períodos o tratamento controle foi mantido e os demais

tratamentos passaram a receber rações basais sem inclusão de extrato de orégano. O procedimento descrito foi realizado para permitir a avaliação de eventuais efeitos do extrato de orégano na fase posterior mesmo após a sua retirada das rações.

Ao final de cada fase (7, 21, 35 e 42 dias) os frangos foram pesados e o consumo de ração computado para cálculo da conversão alimentar da fase e do período acumulado. Além das aves que permaneciam em estudo as aves mortas também foram pesadas e computadas para correção do cálculo de conversão alimentar. Aos 21 uma ave de cada box, selecionada aleatoriamente, foi abatida para a coleta de tecidos. Ao final do período experimental, foram aleatoriamente selecionadas uma ave por box para as análises de características de carcaça e coleta de tecidos.

*Tabela 1 - Composição das rações basais utilizadas no experimento.*

Ingredientes (%)	Idade (dias)		
	1 - 21	22 - 35	36 - 45
Milho 7,88% PB	58,787	61,644	65,711
Farelo de soja 46% PB	34,433	30,993	27,279
Óleo de soja	2,903	3,842	3,802
Fosfato bicálcico	1,615	1,393	1,175
Calcário calcítico	0,864	0,791	0,709
Sal comum	0,482	0,457	0,444
DL-metionina – 99%	0,325	0,304	0,281
L-lisina – 78%	0,294	0,289	0,31
L-treonina – 99%	0,097	0,086	0,088
Premix mineral vitamínico <sup>1</sup>	0,200	0,200	0,200
	Valores calculados		
Energia metabolizável (kcal/kg)	3050	3150	3200
Proteína bruta (%)	21,2	19,8	18,4
Cálcio (%)	0,84	0,76	0,66
Fósforo disponível (%)	0,4	0,35	0,31
Lisina digestível (%)	1,22	1,13	1,06
Metionina digestível (%)	0,47	0,45	0,42
Metionina + cistina digestível	0,88	0,83	0,77
Treonina digestível (%)	0,79	0,73	0,69
Triptofano digestível (%)	0,21	0,2	0,19
Sódio (%)	0,21	0,2	0,19

<sup>1</sup> Níveis mínimos de minerais e vitaminas por kg de produto: vitamina A (5.000.000 UI); vitamina D3 (1.000.000 IU); 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 pantotênico (7000 mcg); colina (80 g); biotina (100 mg); cobre (10 g); iron (50 g); iodo (1.000 mg); manganês (80 g); selênio (300 mg); zinco (70 g); umidade máxima (20 g); matéria mineral máxima (980 g).

Para a obtenção do extrato de orégano foi utilizado o método de infusão, no qual, o volume de água destilada foi aquecido a 95°C e após, o material vegetal foi adicionado na proporção 1:3 (massa seca com relação a massa de água). A mistura permaneceu em repouso por 5 min, o sobrenadante foi filtrado com papel filtro quantitativo ('Whatman' nº 40) e armazenado em balão volumétrico, envolto por papel alumínio, posteriormente os extratos foram liofilizados e armazenados -18°C até utilização.

As amostras de sangue foram coletadas da veia braquial ao apoiar as aves lateralmente, contendo-as pelas patas e pescoço após obtenção das amostras (aos 21 e 42 dias) foram submetidas à centrifugação por 15 minutos em 3000 RPM, o plasma resultante foi acondicionado em microtubos de plástico, congelados em freezer a -20°C, para análises posteriores.

Foram analisados: atividade das enzimas séricas alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) AST (aspartato

aminotransferase), e variáveis bioquímicas séricas (proteínas totais, albumina, globulinas, colesterol, ácido úrico e triglicerídeos). Foram utilizados kits comerciais específicos (Analiza®), e a leitura realizada em analisador bioquímico semiautomático modelo Bio-2000 (Bioplus 2000®).

O abate das aves foi realizado após 8 horas de jejum, o qual foi realizado por meio de deslocamento cervical conforme preconizado pelas diretrizes de bem-estar animal (BRASIL, 2013). Após, foi realizada a sangria e escaldagem (52 – 54°C) e a retirada das penas

Os fígados foram coletados no 21º dia, após o abate das aves, feito aleatoriamente em quatro aves por tratamento. Já no 42º dia foram abatidas seis aves por tratamento (uma ave por box). Após coleta, os fígados foram imediatamente armazenados à -20°C., posteriormente pesados e macerados em solução fisiológica para dar origem aos homogenatos (soro), utilizados para determinação das variáveis de estresse oxidativo. Como marcadores de estresse oxidativo foram analisados os níveis hepáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com metodologia proposta por (OHKAWA, H.; OHISHI; YAGI, 1978). Espécies reativas de oxigênio (EROs), sua concentração foi mensurada usando o método descrito por (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). TIOIS proteicos através de metodologia proposta por (ELLMAN, 1959). Já para quantificação de glutathione S-transferase (GST), foi utilizado método proposto por (HABIG; PABST; AKOBY, 1974).

Para as análises de morfologia intestinal foi coletado a porção do jejuno e acondicionada em solução de formaldeído a 10%, corados com hematoxilina e eosina (HE) e analisados em microscópio de luz. A altura das vilosidades e a profundidade das criptas dos intestinos foram medidas utilizando uma câmera de vídeo digital eletrônica ocular acoplada a microscopia trinocular modelo TNB-41T-PL (Opton®) e um programa específico para captura de imagens histológicas (REIS et al., 2018).

Para a obtenção dos rendimentos de carcaça, foram aleatoriamente separadas uma ave de cada repetição para seus respectivos tratamentos (n=6), ao final do período (42 dias) as aves selecionadas foram pesadas, abatidas, evisceradas, e pesados cada corte a fim de determinar rendimento dos cortes e da carcaça. O rendimento de cortes e carcaça foi feito ao contabilizar o peso

corporal do animal e após descontar o peso da carcaça quente eviscerada e sem pescoço através da fórmula  $(\text{peso da carcaça} \times 100 \div \text{peso corporal})$  o resultado foi expresso em porcentagem. Da mesma forma para o rendimento dos cortes, feito com base no peso da carcaça quente sem pescoço e o peso do corte de acordo com a fórmula  $(\text{peso do corte} \times 100 \div \text{peso da carcaça})$ , os resultados foram expressos em porcentagem.

Após realização de todas as análises os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha > 0,05$ ) e transformados quando necessários para atender aos preceitos de normalidade dos resíduos. Na sequência, foram submetidos a análise de variância considerando como diferente  $\alpha < 0,05$ , no caso de diferenças foi aplicado o teste de Duncan  $\alpha < 0,05$ , para comparação das médias. Posteriormente, os polinômios dos níveis estudados (50, 100 e 150) foram desdobrados e calculadas equações de regressão linear ou quadrática. No caso de melhor ajuste com a equação quadrática as mesmas foram derivadas para a estimativa do ponto máximo. Os coeficientes das equações foram testados pelo teste t e aceitos quando  $\alpha < 0,05$ .

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ganho de peso aos 21 dias no tratamento controle foi superior ( $P < 0,05$ ) aos níveis de EO50 e EO100, não diferindo ( $P > 0,05$ ) do EO150. No mesmo período houve aumento linear ( $P < 0,05$ ) no ganho de peso com o aumento dos níveis de extrato. Aos 21 dias a CA foi melhor ( $P < 0,05$ ) no tratamento controle em relação ao EO50 ppm, não diferindo dos demais níveis de inclusão.

Os tratamentos testados não influenciaram as variáveis de desempenho nas demais fases estudadas ( $P > 0,05$ ).

*Tabela 2 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com extrato de orégano (1-21 dias) e efeitos residuais até o abate aos 42 dias.*

Itens	Níveis de extrato, ppm				Anova qualitativa		Regressão	
	Controle	50	100	150	P=	CV	Linear	Quadrático
PI, g	40,6	40,3	40,1	40,8	0,672	2,54	na	na
Desempenho- alojamento aos 7 dias								
CR, kg	0,12	0,13	0,13	0,13	0,486	9,85	na	na
GP, kg	0,11	0,11	0,11	0,11	0,941	9,863	na	na
CA	1,10	1,19	1,19	1,17	0,449	8,856	na	na
Desempenho- alojamento aos 21 dias								
CR, kg	1,22	1,21	1,21	1,28	0,216	4,931	na	na
GP, kg	0,92a	0,82c	0,85bc	0,89ab	0,002	4,423	0,028	0,097
CA	1,33b	1,48a	1,43ab	1,45ab	0,035	5,734	0,542	0,617
Desempenho- alojamento aos 35 dias								
CR, kg	3,80	3,79	3,89	3,90	0,850	6,854	na	na
GP, kg	2,57	2,42	2,54	2,53	0,116	4,019	na	na
CA	1,48	1,56	1,53	1,55	0,346	4,98	na	na
Desempenho- alojamento aos 42 dias								
CR, kg	5,47	5,39	5,82	5,55	0,285	6,951	na	na
GP, kg	3,42	3,33	3,39	3,42	0,523	3,347	na	na
CA	1,60	1,62	1,72	1,63	0,374	7,579	na	na

Médias na linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan  $\alpha < 0,05$ ; GP 21 dias =  $0,783889 + 0,000683 \cdot (\text{nível de extrato})$  ( $R^2 = 0,22$ ). PI: Peso inicial, CR: Consumo de ração, GP: Ganho de peso, CA: Conversão Alimentar.

Os tratamentos avaliados não influenciaram ( $P>0,05$ ) o rendimento de carcaça e cortes (Tabela 3) aos 42 dias de idade.

*Tabela 3 – Rendimento de cortes e carcaça em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias de idade e seu efeito residual dos 21 dias até o abate aos 42 dias.*

Itens	Controle	Níveis de extrato			Anova qualitativa		Regressão	
		50	100	150	P=	CV	Linear	Quadrático
PCORP, kg	3,71	3,67	3,61	3,62	0,937	8,278	na	na
REND.CAR, %	78,07	77,49	78,93	78,33	0,745	2,906	na	na
REND.PEI, %	40,31	40,84	40,93	40,92	0,957	5,484	na	na
REND.PER, %	28,72	28,07	27,82	27,65	0,650	5,517	na	na
REND.ASA, %	9,66	9,63	9,44	9,77	0,815	6,24	na	na
REND.DOR, %	19,83	20,08	20,06	19,84	0,961	5,328	na	na
REND.GOR, %	1,16	1,17	1,18	1,15	0,999	30,711	na	na

PCORP: peso corporal, REND.CAR: rendimento de carcaça, REND.PEI: rendimento de peito, REND.PER: rendimento de pernas, REND.ASA: rendimento de asas, REND.DOR: rendimento de dorso, REND.GOR: rendimento de gordura.

As concentrações hepáticas de TIOIS aos 21 dias foram superiores ( $P<0,05$ ) no EO50 e inferiores no EO150 em relação ao controle. Os níveis testados apresentaram efeito quadrático com ponto de mínimo no nível de 134 ppm. Já as concentrações de GST aos 42 dias foram inferiores no EO150 ( $P>0,05$ ) (Tabela 4) com efeito linear decrescente com o aumento da inclusão.

*Tabela 4 - Indicadores do status antioxidante hepático das aves suplementadas com extrato de orégano dos 1 aos 21 dias e efeito residual a partir dos 21 dias até 42 dias.*

Itens	Controle	Níveis de extrato, ppm			Anova qualitativa		Regressão	
		50	100	150	P=	CV	Linear	Quadrático
Indicadores hepáticos de estresse oxidativo aos 21 dias								
GST	1204	1500	1416	1268	0,188	14,678	na	na
TBARS	9,96	8,43	14,92	11,9	0,437	50,192	na	na
TIOIS	0,39 b	0,57 a	0,31 bc	0,26 c	<0,001	15,819	<0,001	<0,001
EROS	0,90	1,26	1,51	1,24	0,293	34,866	na	na
Indicadores de estresse oxidativo aos 42 dias								
GST	1213 a	1226 a	1229 a	865 b	0,042	21,145	0,027	0,033*
TBARS	14,17	12,05	9,14	13,53	0,503	48,414	na	na
TIOIS	0,23	0,17	0,30	0,27	0,143	39,214	na	na
EROS	0,98	1,29	1,72	1,4	0,113	36,733	na	na

Médias na linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan  $\alpha < 0,05$ ; GST: glutationa S-transferase ( $\mu\text{molCDNB}/\text{min}/\text{mg}$  protein), TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ( $\text{nmol MDA}/\text{mL}$ ), TIOIS: tiois proteicos ( $\mu\text{mol SH}/\text{mg}$  protein), EROS: espécies reativas de oxigênio (U DCFH/ $\text{mg}$  protein).

Coeficientes da equação apresentaram valor de  $\alpha > 0,05$  no teste t.

TIOIS<sub>21</sub> =  $1,058959559 - 0,0119946X + 0,0000446X^2$  ( $R^2 = 0,889$ )

GST<sub>42</sub> =  $1468,564612 - 3,613356399X +$  ( $R^2 = 0,226$ )

Aos 21 dias os níveis de triglicerídeos foram maiores para a EO50 em relação aos demais níveis testados ( $P < 0,05$ ) e o tratamento controle não diferiu ( $P > 0,05$ ) dos demais tratamentos (Tabela 5). As demais variáveis séricas no 21º dia assim como as variáveis séricas aos 42 dias não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos avaliados ( $P > 0,05$ ).

*Tabela 5 - Concentrações séricas em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias e seus efeitos residuais a partir dos 21 dias até o abate aos 42 dias.*

Itens	Controle	Níveis de extrato, ppm			Anova qualitativa		Regressão	
		50	100	150	P=	CV	Linear	Quadrático
Bioquímica sérica aos 21 dias								
AST	180,5	176,8	164,8	153,8	0,584	18,909	na	na
ALT	4,6	4,3	3,8	7,2	0,563	76,146	na	na
GGT	12,8	13	13,5	14,2	0,716	14,991	na	na
COLES	102	96,4	94,6	91	0,975	40,329	na	na
TRIGL	81,2 ab	101,6 a	65,0 b	72,3b	0,010	19,668	0,034	0,010
PTNA	2,4	2,7	2,6	2,4	0,246	11,789	na	na
ALBU	1	1,1	5,5	1	0,556	219,201	na	na
ACUR	1	1,1	5,5	1	0,668	9,85	na	na
Bioquímica sérica aos 42 dias								
AST	288,6	245,5	308,4	142	0,147	46,823	na	na
ALT	6,7	6,2	6,8	7,2	0,968	52,897	na	na
GGT	18,2	18,5	22,8	19,8	0,338	23,81	na	na
COLES	132,3	115,8	147,7	134,2	0,331	21,691	na	na
TRIGL	58,5	53,5	61,3	65,8	0,764	34,028	na	na
PT	5,4	3,8	5,1	5,5	0,269	31,469	na	na
ALB	1,3	1,3	1,5	1,4	0,239	10,29	na	na
ACUR	4,6	4,9	3,2	4	0,192	30,736	na	na

Médias na linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan  $\alpha < 0,05$ .

Triglicerídeos =  $182,05 - 2,0475 X + 0,0087X^2$  ( $R^2 = 0,4599$ )

AST: aspartato aminotransferase (g/DL), ALT: alanina aminotransferase (g/DL), GGT: gama glutamil transferase (g/DL), COLES: colesterol (mg/DL), TRIGL: triglicerídeos (mg/DL), PT: proteína total (g/DL), ALB: albumina (g/DL), ACUR: ácido úrico (mg/DL).

Aos 21 dias os níveis EO100 promoveram a maior altura de vilosidades ( $P < 0,05$ ), seguido pelos EO150 e controle que não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ) e o nível EO50 ppm foi inferior ( $P < 0,05$ ) aos demais tratamentos (Tabela 6). A relação vilo:cripta foi inferior ( $P < 0,05$ ) no nível EO50, comparativamente aos demais tratamentos com maior relação vilo:cripta ( $P > 0,05$ ) para os tratamentos controle e EO100 (Tabela 6). A inclusão do extrato promoveu efeitos quadráticos para a altura de vilo e relação vilo:cripta com pontos de máximo obtidos com 117 e 122 ppm de inclusão do extrato, respectivamente (Figura 2).

*Tabela 6 – Altura de vilosidades (VILO), profundidade de cripta (CRIP) e relação: altura de vilosidade:profundidade de cripta (VILO:CRIP) em frangos de corte alimentados com extrato de orégano até os 21 dias e seu efeito residual dos 21 dias até o abate aos 42 dias.*

itens	Controle	Níveis de extrato, ppm			Anova qualitativa		Regressão	
		50	100	150	P=	CV	Linear	Quadrático
Morfologia intestinal aos 21 dias								
VILO	1043,1 b	854,2 c	1386,1 a	1279,4 b	<0,001	6,467	<0,001	<0,010
CRIP	142,7	173,7	174,4	167,8	0,069	18,567	0,645	0,851
VILO:CRIP	8,18a	5,6 c	8,2 a	8,0b	0,003	22,428	0,008	0,003
Morfologia intestinal aos 42 dias								
VILO	1599,8a	1203,1c	1383,8b	1279,3bc	<0,001	10,278	0,242	0,013
CRIP	140,6b	180,7a	132,9b	155,4b	<0,001	16,539	0,0549	<0,001
VILO:CRIP	11,5a	6,7c	10,6ab	8,4b	<0,001	17,74	0,071	<0,001

Médias na linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan  $\alpha < 0,05$ .

Medidas de VILO e CRIP expressas em  $\mu\text{m}$

$$\text{VILO}_{21} = -316,397 + 29,79725X - 0,12772 X^2 \quad (R^2=0,86896)$$

$$\text{VILO:CRIP}_{21} = 0,049891 + 0,138893X - 0,00057 X^2 \quad (R^2=0,30272)$$

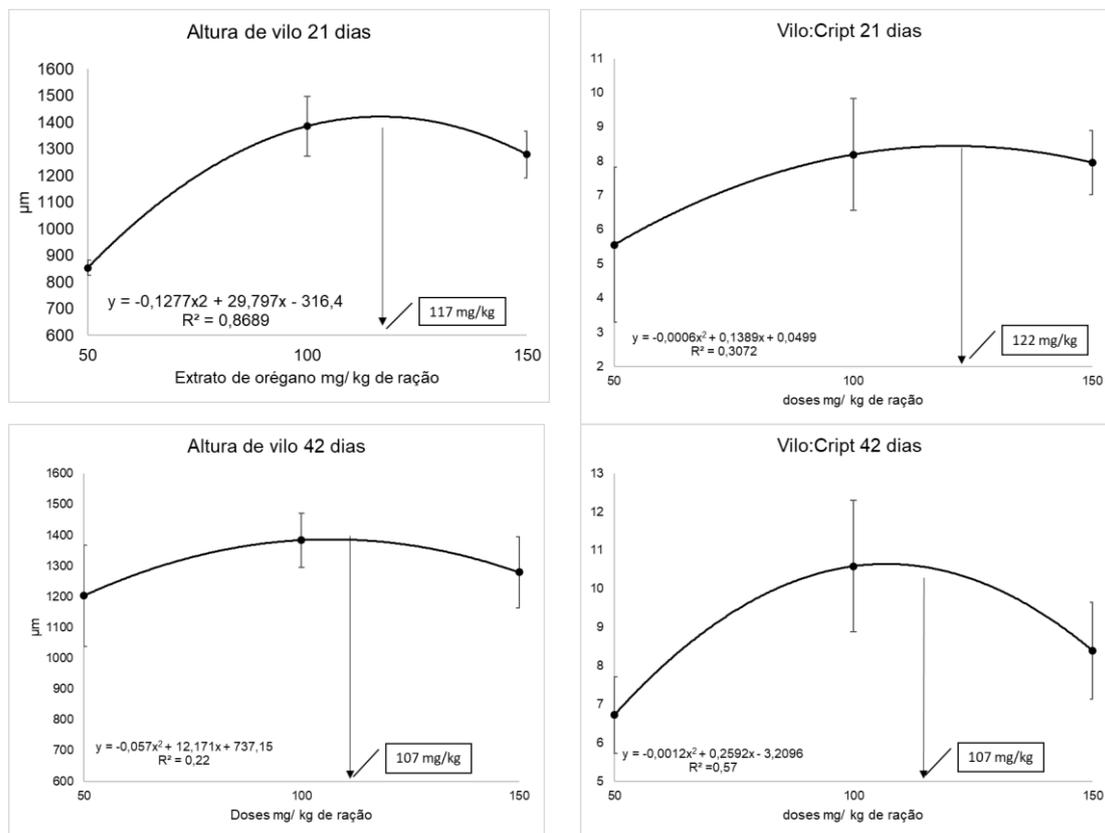
$$\text{VILO}_{42} = 737,152 + 12,17111X - 0,05705 X^2 \quad (R^2=0,22176)$$

$$\text{CRIP}_{42} = 298,79 - 3,06526X + 0,014063 X^2 \quad (R^2=0,40796)$$

$$\text{VILO:CRIP}_{42} = -3,20963 + 0,259235X - 0,00121 X^2 \quad (R^2=0,573454)$$

Aos 42 dias houve maior altura de vilos para o grupo controle ( $P < 0,05$ ), e efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) dos níveis de extrato com ponto de máximo obtido aos 107 ppm (Figura 3). A profundidade de cripta foi superior no tratamento EO50 ( $P < 0,05$ ) e não houve diferença entre os demais tratamentos ( $P > 0,05$ ) para a profundidade de cripta. A relação vilos:cripta foi inferior no tratamento EO50, o tratamento controle e EO100 foram similares ( $P > 0,05$ ) assim como os tratamentos EO100 e EO150 não diferiram ( $P > 0,05$ ), Tabela 6. Semelhante ao resultado obtido para a altura de vilos aos 42 dias a profundidade de cripta e relação vilos:cripta aos 42 dias, foram melhor ajustados pelo modelo quadrático ( $P < 0,05$ ) com pontos de mínimo para a profundidade de vilos máximo (107 ppm), respectivamente

*Figura 2 – Altura de vilosidades e relação: altura de vilosidade:profundidade de cripta de frangos de corte aos 21 e aos 42 dias e respectivos pontos de inflexão.*



(LEONARDO, 2022)

No levantamento bibliográfico efetuado verificamos poucos trabalhos publicados que avaliam a utilização específica de extrato aquoso de orégano, obtido com as técnicas próximas das descritas neste trabalho, principalmente trabalhos que envolvam o uso em rações para aves (FRANCIOSINI et al., 2016a, FORTE et al., 2018, HASSAN et al., 2020). Por outro lado, foram encontrados maior número de trabalhos com o uso do óleo essencial do orégano (PENG et al., 2016b, JANACUA-VIDALES et al., 2019, ZHANG et al., 2021b, CUI et al., 2019). Porém, os componentes do orégano, principalmente o carvacrol estão presentes nestes dois derivados (extrato aquoso ou óleo) e a liberação e ação de seus componentes (carvacrol em sua grande maioria) depende da afinidade e disponibilidade dos substratos presentes no meio (MURIEL-GALET et al.,

2015a). Essa afirmação reforça que cada tipo de composto (extrato ou óleo essencial de orégano) irá agir de formas diferentes no organismo.

No presente estudo, os frangos que receberam o tratamento com o aditivo promotor de crescimento tiveram ganho de peso superior aos níveis EO50 e EO100, o maior ganho de peso está relacionado à modulação do crescimento microbiano e melhor saúde intestinal com conseqüente melhor aproveitamento de nutrientes promovidos pelas aves que receberam as rações com aditivo utilizado promotor usado no grupo controle. Resultados parecidos, com maior ganho e melhor conversão com uso de aditivo antimicrobiano foi obtido por Wang et al. (2015) que ao utilizar a enramicina (5 ppm de ração) verificou resultados superiores de GP e CA ao grupo controle negativo, resultados que os autores associaram a modulação do crescimento microbiano favoravelmente às aves.

Entretanto, houve efeito linear crescente do ganho com o aumento do nível de inclusão de extrato de orégano com o nível EO150 com resultado similar ao grupo controle. Provavelmente, os componentes químicos do orégano como por exemplo o carvacrol e o timol, por possuírem ação antimicrobiana e antioxidantes também modularam o crescimento microbiano intestinal (SILVA et al., 2010b) favoravelmente as aves o que ocasionou os resultados similares dos níveis EO150 ao grupo controle para a variável GP. Os níveis utilizados de EO, ou o período de fornecimento (21 dias) foram insuficientes para obtenção do nível ótimo de inclusão do extrato de orégano para maximizar o desempenho levando ao comportamento linear crescente. A referida hipótese é ratificada pelos resultados obtidos por (ZHANG et al., 2021b) que ao estudar níveis de óleo essencial de orégano de 200 ppm de ração em um período experimental de 42 dias obtiveram resultados superiores aos tratamentos controle positivo e negativo.

Outro ponto a ser considerado é a forma de extração dos derivados do orégano (óleo ou extrato) e a respectiva concentração e biodisponibilidade dos constituintes, principalmente o carvacrol (MURIEL-GALET et al., 2015). Em um trabalho com uso de extrato de orégano na dieta de frangos de corte em que foram testados até 1000 ppm Fukayama et al. (2005) não encontraram diferenças entre tratamentos para as variáveis de desempenho zootécnico estudadas. A diferença entre os resultados no qual obtivemos efeito linear para

o GP com o aumento das doses de EO podem estar associadas a diferença nos níveis nutricionais das dietas experimentais entre os trabalhos e, ou na genética das aves, visto que o trabalho previamente citado (FUKAYAMA et al., 2005b) utilizou como base para a formulação dados das Tabelas Brasileira do ano de 2000 (ROSTAGNO et al., 2000) e de linhagem comercial diferente da utilizada no presente trabalho ou mesmo da forma de extração/obtenção que não foi especificada no referido trabalho. A ausência de efeitos dos níveis estudados (até 1000 ppm) no trabalho de (FUKAYAMA et al., 2005) foi associado pelos autores ao baixo desafio sanitário no decorrer do período experimental.

Resultados parecidos à variável ganho de peso nos 21 dias foram obtidos para a CA no 21º dia com o grupo controle com resultados melhores que o EO50 e semelhante ao EO150 diferindo pelo fato do EO100 também ser semelhante ao grupo controle e pelos modelos de regressão testados não serem significativos. Os resultados obtidos para a CA estão associados aos mesmos benefícios discutidos previamente como a modulação do crescimento microbiano que melhoraram o ganho de peso no 21º dia. Em um trabalho no qual foi avaliado o desempenho de frangos de corte alimentados com extrato de orégano ou extrato de alecrim e a respectiva combinação dos extratos (FRANCIOSINI et al., 2016b) foi verificado melhor ganho de peso de frangos de corte com a combinação do uso do extrato de alecrim (1 g/kg de ração) com o extrato de orégano (1g /kg de ração) no 11º e 22º dias do período experimental, sem efeitos para a conversão alimentar.

Não foram observadas diferenças para características de carcaça, resultado similar aos resultados de ganho de peso, resposta que pode estar relacionada a ausência de efeitos do extrato para as características de carcaça estudadas. Os resultados deste trabalho corroboram com o estudo de Kirkpınar; Ünlü; Özdemir (2011) que não obtiveram diferenças para rendimento de carcaça em frangos de corte suplementados com 300 ppm de óleo essencial de orégano na ração, em comparação com grupos suplementados com óleo essencial de alho e a combinação de óleos essenciais de orégano e alho. Diferente de estudo com suplementação de diferentes óleos essenciais de orégano realizado por HERNÁNDEZ-CORONADO et al. (2019), com óleos de orégano produzidos a partir de duas subespécies de orégano mexicano (com fornecimento via água de

bebida na dose de 400 ppm) em que o grupo controle apresentou menor rendimento de coxa.

Em relação a glutathione (GSH), que é considerado um dos principais tios nos organismos aeróbios com importante papel na biotransformação e eliminação dos xenobióticos e defesa das células contra o estresse oxidativo (HUBER; ALMEIDA; DE FÁTIMA, 2008) desta forma níveis elevados é considerado como benéfico, a maior atividade obtida nos níveis de tios não proteicos hepáticos no 21º dia para grupo AO50 seria positiva pois estão associados aos níveis de enzimas que participam da proteção do organismo contra o estresse oxidativo. Por outro lado, Em trabalho em que foi avaliado uso de magnolol (derivado da casca de *Magnolia officinalis*) para frangos de corte Xie et al. (2022), verificaram níveis mais elevados de GSH no tratamento com a menor dosagem de manolol (100 ppm), comparativamente ao controle positivo e dose de magnolol de 300 ppm. No mesmo trabalho, no mesmo nível 100 ppm foi observado desempenho inferior aos níveis de suplementação de magnolol acima de 200 ppm resultados que associaram ao fato do magnolol melhorar a estabilidade do sistema antioxidante com regulação dos sistemas Nrf2 (fator nuclear derivado de eritróide 2) que aumenta as defesas celulares contra os danos oxidativo. Resultados similares, com menor dose (EO50) com maior nível de GSH e pior desempenho foram obtidos no presente trabalho.

Segundo Chen et al. (2019) o NRF2 está presente no citosol e em condições de estresse oxidativo o mesmo é translocado ao núcleo celular aumentando a expressão de genes de proteínas relacionada ao sistema antioxidante. Desta forma, nossa hipótese é de que os compostos do extrato de orégano atuaram diretamente na redução do estresse oxidativo. Desta forma, o sistema de produção de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo foram minimizadas pela menor ativação de fatores como o Nrf2 com menor necessidade das aves em aumentar os níveis de tios proteicos em nível hepático.

Em um trabalho com uso de óleo essencial de orégano, natural ou artificial na dosagem de 200 ppm de ração Zhang et al. (2021), obtiveram maiores níveis séricos de glutathione peroxidase, glutathione redutase em relação aos grupos controles (positivos e negativos) a diferença com os resultados do presente

trabalho provavelmente estão associadas ao tipo de derivado do orégano utilizado ou ao tecido de coleta visto que no mesmo trabalho não houve efeitos para as mesmas variáveis com o uso de óleo essencial quando analisadas no tecido duodenal das aves.

A redução dos níveis de glutathione S-transferase obtido aos 42 dias para o grupo OE150 pode estar associada aos efeitos residuais do extrato de orégano sobre as aves, minimizando o referido indicador de estresse oxidativo (RI et al., 2017; ZHANG et al., 2021)

O maior nível de triglicerídeos no EO50 em comparação aos demais níveis podem estar associado a melhor utilização deste grupo de nutrientes nos níveis EO100 e EO150. Os valores de referência dos para os níveis de triglicerídeos para frangos COB aos 21 dias de idade são de 33,9 – 91,1 mg/dL (GONZALEZ et al., 2001) este intervalo sugere que no nível de EO50 a concentração de triglicerídeos obtida de 101,6 mg/dL está acima do valor considerado como normal para aves na referida idade. É importante destacar que as avaliações de triglicerídeos também são um meio de avaliar o metabolismo de lipídeos, pois estes são constituintes de aproximadamente 95% de todas as gorduras presentes no corpo (GONZALEZ et al., 2001b). Seus níveis em quantidades muito acima das adequadas pode estar correlacionada com problemas metabólicos, como a síndrome da morte súbita em frangos de corte (RAMOS et al., 2014).

Aos 21 dias houve encurtamento das vilosidades no tratamento EO50 comparativamente aos demais tratamentos, vilosidades altas estão associadas ao funcionamento normal da parede intestinal com melhora na absorção os nutrientes (BAUER et al., 2019). A menor altura de vilosidades obtida no EO50 está associada aos efeitos previamente descritos (efeitos antimicrobianos e antioxidantes) que promoveram melhor desempenho nos demais tratamentos, sugerindo que, apesar de benéfico para esta variável em doses mais elevadas o nível de 50 ppm de EO foi insuficiente para manter a integridade da mucosa intestinal, resultados que estão associados à menor capacidade de absorção, pior ganho e pior CA. Para a variável profundidade de cripta apenas tendência ( $P=0,069$ ) foi encontrada com menor valor para o tratamento controle, o que sugere que os níveis estudados de EO ou o tempo de uso não foram suficientes

para permitir resultados similares aos dos animais tratados com o aditivo antimicrobiano.

A maior profundidade de criptas (hiperplasia) está associada a maior taxa de renovação dessa camada com possível desvio de nutrientes do ganho para a renovação do tecido (COSTA et al., 2011). Da mesma forma, a relação baixa entre vilo:cripta também é um indicativo ruim para a morfometria intestinal sugerindo menor absorção e maior taxa de renovação, variável que foi inferior no nível OE50 em relação aos demais níveis. Nesta fase (21 dias), as variáveis Vilo e VILO:Crypta nos níveis de extrato foram melhor ajustadas com o modelo quadrático com pontos de máximo obtidos nos níveis de 117 e 122 ppm, respectivamente.

Aos 42 dias o tratamento controle, cujos níveis de enramicina foram mantidos apresentou maior altura de vilos que os demais tratamentos que na ocasião recebiam dietas sem extrato do orégano, tal resultado está associados aos fatores previamente citados do efeito modulador do crescimento microbiano do aditivo utilizado com melhor morfologia intestinal.

Aos 42 dias após a retirada dos EO das rações, o uso do extrato de orégano na fase anterior promoveu, nas características da morfologia intestinal, comportamento similar aos obtido previamente aos 21 dias com comportamento quadrático para os níveis estudados. Provavelmente as características antioxidantes do extrato colaboram com melhor imunidade para as aves e com isso melhor característica da morfologia intestinal que perduraram até o abate aos 42 dias. Em um estudo realizado com frangos de corte foi observado aumento de cerca de 5 mg/mL na concentração de IgG com uso de extrato de orégano comparativamente ao grupo controle (FRANCIOSINI et al., 2016). O aumento citado pode ter ocorrido no presente estudo o que levou aos resultados residuais observados, com a manutenção do comportamento quadrático aos 42 dias com o aumento da dose de extrato de orégano na fase anterior.

## **5 CONCLUSÃO**

A adição de 150 ppm de extrato de orégano na ração possibilitou ganho de peso, conversão alimentar e altura de vilo duodenal similar ao uso de rações com aditivo promotor de crescimento até o 21º dia e os níveis de tiois proteicos foram maiores no nível de 50 ppm de extrato de orégano. As características de carcaça não foram afetadas pelos níveis de extrato de orégano utilizados.

Não houve efeitos residuais para o ganho de peso, mas houve efeitos residuais dos níveis de extrato na morfologia intestinal com comportamento quadrático para os níveis de extrato mantidos. Os resultados apontam o extrato de orégano promissor substituto ao uso de aditivos antimicrobianos como melhoradores de desempenho.

## 6 REFERÊNCIAS

- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BAUER, B. W. et al. Oregano: A potential prophylactic treatment for the intestinal microbiota. **Heliyon**, v. 5, n. 10, p. e02625, 2019.
- CHEN, Z. et al. Inhibition of Nrf2/HO-1 signaling leads to increased activation of the NLRP3 inflammasome in osteoarthritis. . **Arthritis Res. Ther.**, 2019.
- COBB, V. Manual de Manejo de Frangos de Corte. **Cobb Vantress**, p. 1–105, 2018.
- COSTA, L. B. et al. Phytobiotic Additives and Sodium Butyrate As Alternatives To Antibiotics for Weanling Pigs. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 231, Part 2, p. 733–744, 2011.
- CUI, H. et al. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 139, n. May, p. 111498, 2019.
- CUNHA, A.; RIBEIRO, J. **Plantas aromáticas em Portugal – Caracterização e Utilizações**. 2. ed. P. 328, 2009.
- ELLMAN, G. L. T. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, v. 82, p. 70–77, 1959.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUDA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 8, p. 48–68, 1997.
- FORTE, C. et al. Dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) aqueous extract improves oxidative stability and consumer acceptance of meat enriched with CLA and n-3 PUFA in broilers. **Poultry Science**, v. 97, n. 5, p. 1774–1785, 2018.
- FRANCIOSINI, M. P. et al. Effects of oregano (*Origanum vulgare* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) aqueous extracts on broiler performance, immune function and intestinal microbial population. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 474–479, jan. 2016.
- FUKAYAMA, E. H. et al. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6 suppl, p. 2316–2326, 2005.

GONZALEZ, F. et al. Incidência de Doenças Metabólicas em Frangos de Corte no Sul do Brasil e Uso do Perfil Bioquímico Sanguíneo para o seu Estudo. **Brazil Journal Poltri Science**, 2001.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; AKOBY, W. B. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J. Biol. Chem.**, v. 249, p. 7130, 1974.

HALLIWELL, B. et al. Trends biochemical science. **Nature**, p. 395–231, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4. ed. New York: 2007.

HASSAN, A. et al. Influence of *Corymbia citriodora* leaf extract on growth performance, ruminal fermentation, nutrient digestibility, plasma antioxidant activity and faecal bacteria in young calves. **Animal Feed Science and Technology**, v. 261, p. 114394, mar. 2020.

HEISLER, G. et al. Effect of green tea and oregano extracts fed to preweaned Jersey calves on behavior and health status. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 37, p. 36–40, maio 2020.

HERNÁNDEZ-CORONADO, A. C. et al. Mexican oregano essential oils given in drinking water on performance, carcass traits, and meat quality of broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 3050–3058, 2019.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; DE FÁTIMA, Â. Glutationa e enzimas relacionadas: Papel biológico e importância em processos patológicos. **Quimica Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

JANACUA-VIDALES, H. et al. Determination of carcass yield, sensory and acceptance of meat from male and female pigs with dietary supplementation of oregano essential oils. **Italian Journal of Animal Science**, v. 18, n. 1, p. 668–678, 2019.

JUNIOR, P. C. M. et al. Use of blends of organic acids and oregano extracts in feed and water of broiler chickens to control *Salmonella* Enteritidis persistence in the crop and ceca of experimentally infected birds 1. 2014.

KATSOULOS, P. D. et al. Evaluation of the in-field efficacy of oregano essential oil administration on the control of neonatal diarrhea syndrome in calves. **Research in Veterinary Science**, v. 115, n. July, p. 478–483, 2017.

KINTZIOS, S. **Oregano The genera *Origanum* and *Lippia***. 1. ed. Londres: p. 296, 2002.

KIRKPINAR, F.; ÜNLÜ, H. B.; ÖZDEMİR, G. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. **Livestock Science**, v. 137, n. 1–3, p. 219–225, 2011.

LIENTAGHI, P. **O grande livro das ervas, Temas e Debates-Actividades**. Liboa: 2002.

MAGOUZ, F. I. et al. The effects of dietary oregano essential oil on the growth performance, intestinal health, immune, and antioxidative responses of Nile tilapia under acute heat stress. **Aquaculture**, v. 548, fev. 2022.

MURIEL-GALET, V. et al. Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 9–16, 2015.

NEILL, C. R. et al. Effects of oregano oil on growth performance of nursery pigs. **Journal of Swine Health and Production**, v. 14, p. 312–316, 2006.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. No Title Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351–358, 1978.

PENG, Q. Y. et al. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on growth performance, carcass traits and jejunal morphology in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 148–153, 2016.

PIRES, P. Orégão-vulgar (*Origanum vulgare* L.): uma revisão. **Agroforum: revista da Escola Superior Agrária de Castelo Branco**, v. 21:31, p. 17–21, 2013.

RADÜNZ, M. et al. Chemical composition and in vitro antioxidant and antihyperglycemic activities of clove, thyme, oregano, and sweet orange essential oils. **Lwt**, v. 138, n. November 2020, 2021.

RAMOS, F. SANTOS et al. Desempenho e perfil sérico bioquímico de frangos de corte alimentados com rações contendo produtos homeopáticos. **Revista brasileira de saúde e produção animal**, v. 15, 2014.

REIS, J. H. et al. Effects of phytogetic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. **Microbial Pathogenesis**, v. 125, n. May, p. 168–176, 2018.

REVISÃO, A. DE; DE LOURDES PIRES BIANCHI, M.; MARIA GREGGI ANTUNES, L. **RADICAIS LIVRES E OS PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES DA DIETA** *Rev. Nutr.*, p. 123-130, 1999.

RI, C. S. et al. Effects of dietary oregano powder supplementation on the growth performance, antioxidant status and meat quality of broiler chicks. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 246–252, 2017.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 1. ed. Viçosa: p. 141, 2000.

ROSTAGNO, H. SANTIAGO et al. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos**. 4. ed. p. 508, 2017.

SANTOS, F. H. R. et al. Essential oils for dairy calves: Effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. **Animal**, v. 9, n. 6, p. 958–965, 2014.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 136–141, 2010.

TAN, C. et al. Effects of Dietary Supplementation of Oregano Essential Oil to Sows on Oxidative Stress Status, Lactation Feed Intake of Sows, and Piglet Performance. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

WANG, H. L. et al. No Title Effects of Flavomycin, *Bacillus licheniformis* and Enramycin on Performance, Nutrient Digestibility, Gut Morphology and the Intestinal Microflora of Broilers. **The Journal of Poultry Science**, 2015.

WOLPE SIMAS, L. A.; GRANZOTI, R. O.; PORSCH, L. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 2, 21 maio 2019.

XIE, Q. et al. The effects of magnolol supplementation on growth performance, meat quality, oxidative capacity, and intestinal microbiota in broilers. **Poultry Science**, v. 101, n. 4, 1 abr. 2022.

ZAOUI, Y. et al. O151 Effect of dietary addition of silver nanoparticles on growth performance and tissue retention in broilers. **Animal - science proceedings**, v. 13, n. 3, p. 430–431, ago. 2022.

ZHANG, L. Y. et al. Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status, and intestinal health of broilers. **Poultry Science**, v. 100, n. 7, p. 101163, 2021.

ZOU, Y. et al. Effects of oregano essential oil or quercetin supplementation on body weight loss, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status in finishing pigs under transport stress. **Livestock Science**, v. 192, p. 33–38, 2016.

**ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA****Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

Lages, 20 de maio de 2020  
CEUA N 6635200520

## COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE PROPOSTA À COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CPF: 024.765.269-59

Título do projeto: Aditivos fitogênicos como melhoradores de desempenho para não ruminantes

Responsável: Diovani Paiano

Equipe: Aleksandro Schafer da Silva, Marcel Manente boiogo

Telefone: 18195748806 e-mail: diovani@hotmail.com

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina, avaliará os documentos seguindo calendário de reuniões vigentes. Todo o processo poderá ser acompanhado no sistema (<https://ceua.sistemas.udesc.br/>) por meio da sua senha de acesso.

José Cristani  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

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