

Parâmetros sanguíneos de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com sementes secas de *Piper cubeba* como aditivo fitogênico¹

Rodolfo M. Domingues², Antonio C. Laurentiz^{3*}, Alan P.F. Melo³, Érica S. Mello², Rosemeire S. Filardi³, Sergio T. Sobrane Filho⁴, Marcio L.A. Silva⁵ e Rosângela S. Laurentiz⁶

ABSTRACT.- Domingues R.M., Laurentiz A.C., Melo A.P.F., Mello E.S., Filardi R.S., Sobrane Filho S.T., Silva M.L.A. & Laurentiz R.S. 2016. [Blood parameters of broiler chickens fed diets supplemented with dried seeds of *Piper cubeba* as an phytogetic additive.] Parâmetros sanguíneos de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com sementes secas de *Piper cubeba* como aditivo fitogênico. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(11):1139-1144. Departamento de Biologia e Zootecnia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rua Monção 226, Ilha Solteira, SP 15385-000, Brazil. E-mail: aclauren@bio.feis.unesp.br

Two experiments were conducted to evaluate the use of dried seeds of *Piper cubeba* in the diets of 1 to 21-day-old broilers and its effect on biochemical blood profile and biometry of the organs. In each experiment, 240 one-day-old male broiler chicks Cobb were distributed in a completely randomized design with five treatments and four replicates of 12 birds per experimental plot. The first experiment evaluated the use of *Piper cubeba* in considered highly digestible diets based on corn and soybean meal, and the second evaluated the use of pepper in low digestibility diets, which were obtained with the inclusion of meat and bone meal. Regarding the blood chemistry profile data of the experiment I, with the exception of gamma glutamyl transferase, all other serum levels were within recommended limits for poultry, and only triglyceride levels differed between treatments ($P < 0.05$). In the second experiment there was significant difference in albumin levels, cholesterol and uric acid, but this was not the result of metabolic disorders, because except for the gama glutamyl transferase levels, all variables were within recommended levels. In both experiments, there were no differences ($P > 0.05$) for the biometry of organs. The conditions under which the experiments were performed at inclusion of *Piper cubeba* seeds in feed for broilers has not provided any toxicity to poultry.

INDEX TERMS: Broiler chickens, diets, seeds, pepper, *Piper cubeba*, phytogetic additive, biometrics, biochemical profile.

¹ Recebido em 22 de junho de 2016.

Aceito para publicação em 13 de julho de 2016.

² Mestrando do Programa Ciência e Tecnologia Animal, Interunidade Dracena/Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Rua Monção 226, Ilha Solteira, SP 15385-000, Brasil.

³ Departamentos de Biologia e Zootecnia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Unesp), Rua Monção 226 Ilha Solteira, SP 15385-000. *Autor para correspondência: aclauren@bio.feis.unesp.br

⁴ Doutorando em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Cx. Postal 3037, Lavras, MG 37200-000, Brasil.

⁵ Núcleo de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade de Franca (Unifran), Rua Armando Salles de Oliveira 201, Franca, SP 14404-600, Brasil.

⁶ Departamento de Física e Química, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Unesp, Rua Monção 226, Ilha Solteira, SP 15385-000.

RESUMO.- Dois experimentos foram realizados com o objetivo de avaliar o uso das sementes secas de *Piper cubeba* nas dietas de frangos de corte de 1 a 21 dias de idades e seus efeitos sobre o perfil bioquímicos do sangue e na biometria dos órgãos das aves. Em cada experimento 240 pintos de corte machos, com um dia de idade da linhagem Cobb foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições de 12 aves por parcela experimental. No primeiro experimento foi avaliado o uso da *Piper cubeba* em dietas consideradas de alta digestibilidade, a base de milho e farelo de soja, e no segundo avaliou-se o uso da pimenta em dietas de baixa digestibilidade, as quais foram obtidas com a in-

clusão de farinha de carne e ossos. Com relação aos dados de perfil bioquímico sanguíneo do experimento I, com exceção da gama glutamil transferase, todos os demais níveis séricos se apresentaram dentro dos limites recomendados para aves, e apenas os níveis de triglicerídeos diferiram entre os tratamentos ($P < 0,05$). No experimento II houve diferença significativa para os níveis de albumina, colesterol e ácido úrico, porém isso não foi resultado de desordens metabólicas, visto que com exceção da gama glutamil transferase, todos os níveis encontraram-se dentro dos limites recomendados. Em ambos os experimentos não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para a biometria dos órgãos. Nas condições em que os experimentos foram realizados a inclusão das sementes de *Piper cubeba* na ração para frangos de corte não proporcionou alterações bioquímicas e biométricas que possam limitar seu uso como material vegetal para os estudos fitogênicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Frangos de corte, dietas, sementes, pimenta, *Piper cubeba*, aditivo fitogênico, biometria, parâmetros bioquímicos.

INTRODUÇÃO

O uso de antibióticos em doses sub terapêuticas nas dietas de frangos é uma prática comum para o controle de uma boa saúde intestinal propiciando maiores ganhos produtivos. Porém, desde janeiro de 2006, na União Europeia, essas substâncias foram proibidas de serem utilizadas na alimentação animal, baseando-se no fato de que o uso contínuo dessas substâncias pode gerar resistência bacteriana, trazendo sérios problemas de saúde pública (Castanon 2007).

Várias alternativas ao uso dos antibióticos na dieta das aves vêm sendo estudadas nos últimos anos e dentre elas estão os aditivos fitogênicos, que são produtos de origem vegetal. Os fitogênicos possuem metabólitos secundários (fitoconstituintes) que são compostos orgânicos relacionados ao mecanismo de defesa da planta. Desses metabólitos secundários alguns apresentam propriedades biológicas como: antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidante e, portanto, estão estreitamente relacionados à atividade apresentada por muitos fitogênicos descritos na literatura. Estudos comprovam a eficácia dos aditivos fitogênicos em melhorar o desempenho, a digestibilidade, a atividade enzimática, o controle da contaminação por bactérias e protozoários, além de promover melhora no processo de digestão e na morfometria de frangos de corte (Lee et al. 2004, Zhang et al. 2005, Garcia et al. 2007, Jang et al. 2007, Abdullah & Rabia 2009, Traesel et al. 2011, Bona et al. 2012).

Muitos dos fitogênicos utilizados em estudos como aditivos em rações para frangos de corte são óleos essenciais ou condimentos como ervas aromáticas e pimentas (Santurio et al. 2007, Zeng et al. 2015). O uso dos óleos essenciais (ou mistura deles) se deve geralmente às propriedades antimicrobianas apresentadas por seus componentes em maior proporção e também à facilidade de obtenção, pois muitos deles são comerciais (Fukayama et al. 2005). Os condimentos apresentam aroma agradável, estimulando a produção de enzimas digestivas, o que contribui para o

processo de digestão. Além disso, muitos dos condimentos utilizados em trabalhos descritos na literatura apresentam propriedades biológicas e baixa toxicidade como o orégano e algumas pimentas (Fukayama et al. 2005, Paula et al. 2010, Rizzo et al. 2010).

Dentre as muitas pimentas de uso como condimento está a *Piper cubeba* (*P. cubeba*) de origem Asiática que além do seu aroma também é utilizada na medicina popular para o tratamento de dores abdominais, asma, diarreia, enterites, gonorreia e infecção urinária (Elfahmi et al. 2007). Inúmeros estudos sobre as propriedades biológicas da *P. cubeba* e de seus metabólitos secundários já foram descritos na literatura incluindo a atividade antimicrobiana (Silva et al. 2005, Khan & Siddiqui 2007, Silva et al. 2009, Rukayadi et al. 2013).

Desta forma, com base nas propriedades biológicas e seu aroma agradável, sementes secas de *P. cubeba* foram utilizadas neste trabalho como aditivo fitogênico em dietas de alta e baixa digestibilidade para frangos de corte até 21 dias de idade, com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão do aditivo fitogênico sobre o perfil bioquímico do sangue e biometria dos órgãos e das aves.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Avicultura da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP e todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual Paulista FEIS, Brasil (no. 06/2013) e realizados em conformidade com diretrizes para o uso de animais em pesquisa.

Para cada experimento foram utilizados 240 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb®, vacinados contra doença de Marek no incubatório, sendo essas aves alojadas em gaiolas de arame galvanizado com divisões com 0,90x0,90x0,45m (comprimento x largura x altura), denominadas de baterias. O período experimental foi de 1 a 21 dias.

Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições de 12 aves cada. As dietas experimentais de alta digestibilidade foram formuladas à base de milho e farelo de soja para o experimento I e para o experimento II as dietas foram denominadas de baixa digestibilidade, a base de milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos, seguindo as recomendações de (Rostagno et al. 2011) (Quadro 1). A concentração de antibiótico e de pimenta para os experimentos I e II estão descritos no (Quadro 2).

Os tratamentos utilizados foram:

CP = Controle positivo, com adição de antibiótico melhorador de desempenho Sulfato de Colistina (10ppm) e sem adição de pimenta (*Piper cubeba*);

Sin = Sinergismo, constituído pela adição do antibiótico Sulfato de Colistina (5ppm) + 0,5g de pimenta/kg ração;

CN = Controle negativo, sem adição de antibiótico e pimenta;

CN+0,5 = Controle negativo com adição 0,5g de pimenta/kg ração;

CN+1,0 = Controle negativo com adição 1,0g de pimenta/kg ração.

Para o manejo e nutrição foram adotados os métodos recomendados pelo manual da linhagem Cobb®, sendo o programa de luz contínuo e o fornecimento de água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental. O aquecimento inicial foi realizado com o auxílio de lâmpadas.

O perfil bioquímico foi obtido aos 21 dias, sendo utilizadas

Quadro 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais (Experimentos I e II)

Ingredientes	Experimento I	Experimento II
Milho	60,07	62,61
Farelo de soja	34,81	27,74
Farinha de carne e osso	-	7,000
Fosfato bicálcico	1,810	-
Calcário cálcico	0,830	0,250
Óleo de soja	1,180	1,160
Sal	0,420	0,340
Suplemento M/V*	0,200	0,200
L-Lisina (78%)	0,220	0,240
DL-Metionina (99%)	0,260	0,260
Cloreto de colina (60%)	0,050	0,050
Saligran	0,050	0,050
Porção variável**	0,100	0,100
Composição calculada das dietas		
Energia met. (kcal/kg)	2,950	
Proteína bruta	21,00	
Cálcio	0,90	
Fósforo disponível	0,45	

* Níveis de garantia por kg do produto: Vit. A 5.500.000 UI, Vit. D₃ 1.000.000 UI, Vit. E 6500 UI, Vit. K₃ 1250mg, Vit. B₁ 500mg, Vit. B₂ 2500mg, Vit. B₆ 750mg, Vit. B₁₂ 7500mcg, Ácido Fólico 251mg, Ácido Pantotênico 6030mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5mg, Pantotenato de Cálcio 11,22mg, Cobre 3000mg, Cobalto 50mg, Iodo 500mg, Ferro 25mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,5mg, Zinco 22,49mg, Antioxidante 12mg e Veículo (52,8%).

** Descrição da porção variável (Quadro 2).

Quadro 2. Descrição dos tratamentos de acordo com a porção variável

Porção variável	Tratamentos				
	CP	Sin	CN	CN+0,5	CN+1,0
Sulfato de colistina*	0,013	0,0070	0,000	0,000	0,000
Pimenta seca moída	0,000	0,050	0,000	0,050	0,100
Inerte**	0,087	0,043	0,100	0,050	0,000

* Sulfato de colistina, com inclusão de 10ppm no CP e 5ppm no Sin. ** A porção inerte (areia lavada) foi incluída na ração para variar a inclusão de Sulfato de Colistina (melhorador de desempenho) e da pimenta moída. CP = Controle positivo; Sin = Sinergismo pimenta + colistina; CN = Controle Negativo; CN+0,5 = Controle negativo+0,5g de pimenta; CN+1,0 = Controle negativo+1,0g de pimenta.

duas aves por repetição, totalizando 40 aves por experimento, onde o material analisado (soro sanguíneo) foi obtido através de punção cardíaca. Aproximadamente 5 mL de sangue foram coletados e estocados em tubos sem anticoagulantes, centrifugados a 6.000 rpm por seis minutos e o soro sanguíneo obtido foi transferido com auxílio de uma micropipeta com ponteiros descartáveis para eppendorfs de 2 mL devidamente identificados e estocados a -20°C até o uso. As análises bioquímicas foram realizadas através de analisador bioquímico semi-automático Sinnova Modelo SX-3000M®, utilizando kits sorológicos Labtest®, seguindo os protocolos descritos pelo fabricante. Os parâmetros analisados foram:

1. Sistema Hepático: Glicose (GLI mg/dL), Colesterol (COL mg/dL), Albumina (ALB g/dL), Triglicérides (TGL mg/dL), Proteínas Totais (PT g/dL), Gama glutamil transferase (GGT U/L) e Aspartato aminotransferase (AST U/L).
2. Sistema Pancreático: Amilase (AMI U/L).
3. Sistema Renal: Ureia (URE U/L) e Ácido Úrico (AU mg/dL).

As mesmas aves utilizadas para a coleta de sangue foram abatidas através do deslocamento cervical para obtenção do trato di-

gestório. Após o abate foi realizada a necropsia e retirada dos órgãos pró-ventrículo e moela (PVM), fígado (FIG), pâncreas (PAN), intestino delgado (ID) e intestino grosso (IG). Posteriormente à separação dos órgãos, foi realizada a biometria, medindo-se o comprimento do intestino delgado + intestino grosso (ID+IG) com o auxílio de uma fita métrica. A mensuração do peso dos órgãos foi realizada em balança de precisão com precisão de 0,01g. Com base no peso vivo (PV) de cada ave foi determinado o peso relativo (%) de cada órgão.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando ocorreram diferenças entre os tratamentos as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR 5.1 (Ferreira 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do perfil bioquímico sérico das aves aos 21 dias para os experimentos I e II é apresentada no (Quadro 3). No experimento I, o perfil bioquímico apresentou diferença estatística ($P < 0,01$) apenas no nível de TGL, sendo os menores valores atribuídos aos tratamentos Sin e CN+0,5 quando comparados com os demais tratamentos estudados. Embora o maior valor de TGL tenha ocorrido no tratamento CN, esse apresentou diferença apenas dos tratamentos Sin e CN+0,5. A amplitude de valores obtida para os níveis séricos de TGL (49,82 a 73,16mg/dL) está de acordo com os limites para aves, que segundo a literatura é de 150mg/dL. Para as outras variáveis os valores também estão dentro das faixas encontradas na literatura exceto para os valores obtidos para a GGT que estão acima do recomendado de até 10 U/L (Schmidt et al. 2007, Thrall et al. 2007).

O aumento nos níveis séricos da GGT geralmente é proveniente de lesão hepatobiliar (Traesel et al. 2011), no entanto, para a confirmação desse quadro seria necessário que outros parâmetros, como por exemplo a AST, também estivessem elevados o que não ocorreu no presente estudo, descartando-se assim uma possível doença hepática nas aves.

Os constituintes bioquímicos do sangue refletem as respostas fisiológicas decorrentes de fatores internos (idade e sexo) e externos (alimentação e ambiente) e podem fornecer informações do metabolismo e da saúde dos animais (Yari et al. 2014). Segundo os mesmos autores o consumo de ração e composição das dietas afetam os parâmetros sanguíneos, enzimáticos e metabólicos. No presente estudo as dietas foram isonutritivas, entretanto no experimento II foi incluído a farinha de carne e ossos, como fonte proteica na composição das dietas experimentais, observando-se diferenças significativas ($P > 0,05$) para todos os parâmetros avaliados exceto ALB (g/dL), COL (mg/dL) e AU (mg/dL). A variação nestes parâmetros pode estar associada à qualidade dessa fonte proteica (Quadro 3).

Os parâmetros sanguíneos no Experimento II encontram-se dentro da amplitude descrita na literatura, exceto para os valores de GGT (gama glutamiltransferase -U/L) que estão acima do recomendado de até 10 U/L (Schmidt et al. 2007, Thrall et al. 2007) e junto com a AST (aspartato aminotransferase) são enzimas hepáticas que associadas ao níveis de colesterol, triglicérides, glicose, albumina e proteínas totais são sintetizadas no fígado e consideradas

Quadro 3. Perfil bioquímico de frangos de corte aos 21 dias de idade, para os experimentos I e II

Variáveis	Tratamentos						Valor de P
	CP	Sin	CN	CN+0,5	CN+1,0	CV%	
<i>Sistema hepático</i>							
Experimento I (dieta de alta digestibilidade)							
ALB (g/dL)	2,07	1,79	1,81	1,89	1,80	13,82	0,5433
AST (U/L)	218,74	218,93	195,70	195,58	202,24	15,18	0,6869
COL (mg/dL)	96,92	96,72	108,61	108,31	116,81	10,70	0,1158
GGT (U/L)	15,90	20,47	18,48	17,60	18,28	11,51	0,1007
GLI (mg/dL)	300,07	288,56	290,28	283,45	304,32	8,74	0,7707
PT (g/dL)	2,69	2,54	2,92	2,86	3,14	9,18	0,0588
TGL (mg/dL)	61,45a ^b	49,82 ^c	73,16 ^a	58,65 ^{bc}	66,30 ^{ab}	11,16	0,0055
<i>Sistema pancreático</i>							
AMI (U/L)	922,28	901,83	1119,69	996,20	980,44	23,83	0,7164
<i>Sistema renal</i>							
AU (mg/dL)	6,30	5,86	6,59	6,47	6,77	18,52	0,8425
URE (U/L)	5,26	4,22	5,18	4,06	4,95	24,81	0,4989
<i>Sistema hepático</i>							
Experimento II (dieta de baixa digestibilidade)							
ALB (g/dL)	1,91	1,85	1,88	2,16	2,33	18,11	0,0608
AST (U/L)	171,26 ^a	167,66 ^{ab}	179,72 ^a	145,36 ^b	159,99 ^b	11,27	0,0122
COL (mg/dL)	104,18	103,32	106,48	99,36	102,73	15,09	0,9249
GGT (U/L)	13,20 ^c	19,07 ^{ab}	20,88 ^a	16,07 ^{bc}	15,07 ^{bc}	23,74	0,0045
GLI (mg/dL)	396,40 ^a	402,00 ^a	325,71 ^b	324,97 ^b	337,76 ^b	12,50	0,0013
PT (g/dL)	2,75 ^{ab}	2,84 ^{ab}	2,92 ^a	2,55 ^b	2,76 ^{ab}	8,66	0,0380
TGL (mg/dL)	86,28 ^a	68,62 ^b	82,56 ^{ab}	86,94 ^a	76,37 ^{ab}	14,68	0,0214
<i>Sistema pancreático</i>							
AMI (U/L)	828,45 ^b	855,57 ^b	920,95 ^{ab}	990,92 ^a	1188,43 ^a	17,65	0,0016
<i>Sistema renal</i>							
AU (mg/dL)	6,29	5,86	6,59	6,25	6,74	20,74	0,7114
URE (U/L)	4,13 ^{ab}	3,45 ^b	3,75 ^{ab}	4,39 ^{ab}	4,20 ^a	14,20	0,0167

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de variação; CP = Controle positivo; Sin = Sinergismo pimenta + colistina; CN = Controle negativo; CN+0,5 = Controle negativo+0,5g de pimenta; CN+1,0 = Controle negativo+1,0g de pimenta.

variáveis respostas das funções hepáticas das aves. A elevação dos níveis de GGT e AST, podem indicar problemas metabólicos no fígado, entretanto AST não é alterada somente em casos de lesão hepática, a alteração em seus níveis também pode ser devido a lesões musculares o que pode ser comprovado quando também ocorre aumento concomitante da creatinina quinase (CK) (Traesel et al. 2011). Os níveis séricos de TGL nos frangos de corte sofrem um decréscimo normal a partir da segunda semana de vida das aves (Piotrowska et al. 2011), entretanto a alimentação também pode afetar esses níveis como demonstrado nos estudos de Manan et al. (2012) que observaram diminuição dos níveis séricos de triglicerídeos ao suplementar frangos de corte com plantas medicinais. Choi & Hwang (2005) também observaram diminuição dos níveis de TGL ao analisar o perfil lipídico do plasma de ratos alimentados com extrato de *P. cubeba* assim como os resultados obtidos em nosso estudo.

No Experimento II o uso de farinha de carne, classificando essa dieta como dieta de baixa digestibilidade, pode explicar a maior variação dos parâmetros estudados em comparação com os resultados obtidos para os mesmos parâmetros no experimento I, onde não foram observadas tantas variações (Lee et al. 2004). A utilização de dietas altamente digestíveis dificulta a detecção de aumento da digestibilidade, quando proporcionada pela inclusão de aditivos melhoradores de desempenho. Outro fator que provavelmente pode ter influência sobre os resultados obtidos é a utilização de proteína de origem animal, isso

devido à presença de amins biogênicas e de outros contaminantes. Mesmo na farinha de carne processada corretamente esses compostos podem estar em concentrações que proporcionaram transtornos gastrintestinais e consequentemente alterações metabólicas (Barnes, et al. 2001).

Ao realizar a relação entre AST (g/dL) e GGT (U/L) no Experimento II, na tentativa de explicar alguma lesão no sistema hepático, verifica-se diferença significativa entre os tratamentos para as duas enzimas ($P < 0,01$). Os maiores valores de AST foram observados para os tratamentos CP, Sin e CN, enquanto para a GGT os valores superiores foram para Sin e CN, diferindo significativamente dos demais. O menor valor de GGT foi atribuído ao tratamento CP (controle positivo) com o uso de antibiótico como melhorador de desempenho, entretanto, ao se incluir as sementes trituradas de *P. cubeba* no tratamento CN observou-se uma redução do perfil bioquímico de AST e GGT no soro sanguíneo das aves em relação aos tratamentos sem adição da pimenta. Este resultado pode indicar que a adição do antibiótico e da pimenta proporcionaram redução nas lesões hepáticas ocasionadas pela presença de algum microrganismo ou mesmo pela presença de amins biogênicas, presentes na farinha de carne, mesmo em pequenas concentrações, atuando de forma hepatoprotetora. Estudos anteriores em ratos (Yoshitake et al. 1989) demonstraram o efeito hepatoprotetor da cubebina, uma das lignanas presente em grandes quantidades nas sementes da *P. cubeba*.

Apesar da pimenta neste estudo ter proporcionado di-

minuição dos níveis de AST e GGT nem sempre a adição de um aditivo fitogênico fornece resultados promissores. Polat et al. (2011) não encontraram diferenças significativas nos valores de AST em frangos de corte alimentados com dietas contendo óleo essencial de alecrim em relação ao tratamento controle, portanto, no experimento realizado pelos autores somente se comprovou a falta de toxicidade do aditivo. Resultados contraditórios com maiores valores de vários parâmetros bioquímicos dentre eles AST, ácido úrico, ureia e lipase no soro sanguíneo das aves em relação ao grupo controle foram obtidos por Traesel et al. (2011) pela inclusão de níveis crescentes de óleos de alecrim + sálvia, de orégano e extrato de pimenta (50, 100 e 150g/ton). Essas diferenças podem ser um indício de toxicidade provocada pela somatória dos constituintes dos óleos utilizados, causando lesão hepática, aumentando, portanto, os níveis de AST. Desta forma, a comparação entre os resultados publicados na literatura para vários aditivos fitogênicos deve ser feita com base nos constituintes químicos dos diferentes aditivos. No caso da *P. cubeba* os compostos em destaque são as lignanas que são conhecidas por suas propriedades biológicas (Zhang et al. 2014).

A atividade pancreática pode ser avaliada pela mensuração das concentrações séricas de amilase e lipase nas aves sendo que valores muito maiores ou menores dos que os estabelecidos na literatura podem ser um indicativo de lesão pancreática (Traesel et al. 2011). No presente estudo verifica-se diferença significativa ($P < 0,01$) para os valores de AMI (U/L), somente no Experimento II, onde os menores valores foram atribuídos para os tratamentos CP, Sin e CN, sendo esses menores ($P < 0,05$) que as concentrações obtidas nos tratamentos CN com associação das duas concentrações de semente seca de pimenta 0,5 e 1% e também abaixo dos valores encontrados no Experimento I, onde a razão é de alta digestibilidade. O aumento para esses parâmetros pode ser atribuído à inclusão do aditivo fitogênico que pode ter proporcionado acréscimo na concentração de amilase de 990,92 e 1188,43 U/L, respectivamente para a inclusão de 0,5 e 1,0% de semente seca de pimenta, melhorando a digestibilidade das rações.

No Quadro 4 são apresentadas as médias de peso relativo (peso de órgão/peso da ave) e comprimento (cm) do intestino das aves aos 21 dias. Não foram observadas diferenças estatísticas ($P > 0,05$) para nenhuma das variáveis avaliadas, nos dois experimentos. Apesar de não ocorrerem diferenças estatísticas ($P > 0,05$) entre os tratamentos, o maior peso relativo do pâncreas foi constatado no tratamento controle negativo, o qual também apresentou um maior valor numérico para concentração de amilase (Quadro 3). Dados da literatura sugerem que o aumento do pâncreas pode estar relacionado a um maior estímulo na secreção pancreática e ao aumento da atividade enzimática promovido pela adição de extratos vegetal (Oetting et al. 2006), entretanto não foram observadas diferenças significativas no presente estudo.

A ausência de efeitos dos tratamentos com a pimenta sobre o peso relativo dos órgãos está de acordo com os resultados encontrados por Hernández et al. (2004), Çabuk et al. (2006) e Amad et al. (2011) os quais também não

Quadro 4. Biometria de frangos de corte aos 21 dias de idade para os experimentos I e II

Variáveis	Tratamentos						Valor de P
	CP	Sin	CN	CN+0,5	CN+1,0	CV %	
Experimento I (dieta de alta digestibilidade)							
PVM (%)	3,36	3,51	3,69	3,76	3,50	8,33	0,3825
FIG (%)	2,17	2,17	2,22	2,54	2,36	9,69	0,1520
PAN (%)	0,27	0,25	0,29	0,27	0,23	10,62	0,1130
ID (%)	3,11	2,94	3,12	3,27	3,07	8,03	0,5058
IG (%)	0,71	0,65	0,87	0,84	0,78	14,93	0,1207
ID+IG (cm)	107,85	95,50	101,37	107,12	102,50	5,41	0,0516
Experimento II (dietas de baixa digestibilidade)							
PVM (%)	3,22	3,20	3,42	3,31	3,26	9,96	0,8803
FIG (%)	2,39	2,50	2,64	2,56	2,64	6,07	0,1936
PAN (%)	0,32	0,28	0,31	0,34	0,34	9,19	0,0884
ID (%)	3,01	3,05	3,00	2,91	3,00	5,75	0,8400
IG (%)	0,84	0,72	0,76	0,74	0,76	16,71	0,6847
ID+IG (cm)	111,62	117,25	114,37	113,12	114,75	4,75	0,6744

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de variação; CP = Controle positivo; Sin = Sinergismo pimenta + colistina; CN = Controle negativo; CN+0,5 = Controle negativo+0,5g de pimenta; CN+1,0 = Controle negativo+1,0g de pimenta.

observaram efeito negativo dos aditivos fitogênicos sobre o peso relativo dos órgãos. Contrariamente ao presente estudo, Denli et al. (2004), ao avaliarem o uso de óleo essencial de tomilho na dieta de codornas, verificaram que os tratamentos que receberam o aditivo fitogênico tiveram comprimento e peso de intestino maiores que o tratamento controle. Barreto et al. (2008) e Amad et al. (2011) também observaram aumento do peso relativo do fígado em frangos de corte a partir da inclusão de óleos essenciais.

Baseado nos resultados apresentados na literatura e nos resultados do presente experimento é possível concluir que o uso dessas variáveis pode não ser adequado para avaliar o efeito dos tratamentos, devido à subjetividade desses parâmetros ao manipular diferentemente as amostras. Essa manipulação nos diferentes experimentos pode proporcionar alteração na medida de comprimento ao esticar ou alterar o peso, isso ao limpar mais ou menos os fragmentos aderidos na parede de um determinado órgão.

CONCLUSÕES

O uso de sementes de *Piper cubeba* como aditivo fitogênico não compromete o perfil bioquímico sanguíneo somente nas dietas de alta digestibilidade e nas dietas de baixa digestibilidade (experimento II) promoveu diminuição dos níveis AST g/dL e GGT U/L, melhorando consequentemente as condições para o sistema hepático em relação ao controle negativo.

A partir do presente estudo é possível concluir que *Piper cubeba* nos níveis de inclusão avaliados não causa toxicidade às aves podendo ser considerada como uma fonte vegetal viável para a inclusão em dietas para frangos de corte.

Agradecimentos.- Ao Departamento de Biologia e Zootecnia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (Unesp) pelo auxílio financeiro. À Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) pelo fornecimento dos insumos para produção da ração. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado. À Fundação

de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de iniciação científica e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro (Projeto Universal 482071/2013-3).

REFERÊNCIAS

- Abdullah A.M. & Rabia J.A. 2009. The Effect of Using Fennel Seeds (*Foeniculum vulgare* L.) on Productive Performance of Broiler Chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 8(7):642-644.
- Amad A.A., Manner K., Wendler K.R., Neumann K. & Zentek 2011. J. Effects of a phytogetic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poult. Sci.* 90(12):2811-2816.
- Barreto M.S.R., Menten J.F.M., Racanicci A.M.C., Pereira P.W.Z. & Rizzo P.V. 2008. Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Braz. J. Poult. Sci.* 10(2):109-115.
- Bona T.D.M.M., Pickler L., Miglino L.B., Kuritza L.N., Vasconcelos S.P. & Santin E. 2012. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. *Pesq. Vet. Bras.* 32(5):411-418.
- Çabuk M., Bozkurt M., Alçiçek A., Akbaş Y. & Küçükyılmaz K. 2006. Effect of an herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 36(2):135-141.
- Castanon J.I. R. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in european poultry feeds. *Poult. Sci.* 86(11):2466-2471.
- Choi E. & Hwang J. 2005. Effect of some medicinal plants on plasma antioxidant system and lipid levels in rats. *Phytother. Res.* 19(5):382-386.
- Denli M., Okan F. & Uluocak A.N. 2004. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance, carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*). *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34(3):174-179.
- Elfahmi K.R., Sieb B., Rein B., Oliver K., Herman J.W. & Wim J.Q. 2007. Lignan profile of *Piper cubeba*, an Indonesian medicinal plant. *Biochem. System. Ecol.* 35(7):397-402.
- Ferreira D.F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência Agrotecnol.* 35(6):1039-1042.
- Fukayama E.H., Bertechini A.G., Geraldo A., Kato K. & Murgas L.D.S. 2005. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. *Revta Bras. Zootec.* 34(6):2316-2326.
- Garcia V., Catalá-Gregori P., Hernández F., Megías M.D. & Madrid J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 16(4):555-562.
- Hernández F., Madrid J., Garcia V., Orengo J. & Megias M.D. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83(2):169-174.
- Jang I.S., Ko Y.H., Kang S.Y. & Lee C.Y. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 134(3/4):304-315.
- Khan M. & Siddiqui M. 2007. Antimicrobial activity of Piper fruits. *Natural Product Radiance* 6(2):111-113.
- Lee K.W., Everts H. & Beynen A.C. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.* 3(12):738-752.
- Manan A., Naila C., Sarzamin K., Muhammad S., Qureshi A. & Bacha J. 2012. Effect of periodic supplementation of herbal infusion on the Liver function and lipid profile of broiler chickens. *Sarhad J. Agricult.* 28(1):75-82.
- Oetting L.L., Utiyama C.E., Giani P.A., Ruiz U.S. & Miyada V.S. 2006. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. *Revta Bras. Zootec.* 35(4):1389-1397.
- Paula J.A.M., Reis J.B., Ferreira L.H.M., Menezes A.C.S. & Paula J.R. 2010. Gênero Pimenta: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. *Revta Bras. Plantas Medicinaias* 12(3):363-379.
- Piotrowska A., Burlikowska K. & Szymeczko R. 2011. Changes in blood chemistry in broiler chickens during the fattening period. *Folia Biologica* 59(3/4):183-187.
- Polat U., Yesilbag D. & Eren M. 2011. Serum biochemical profile of broiler chickens fed diets containing rosemary and rosemary volatile oil. *J. Biol. Environ. Sci.* 5(13):23-30.
- Rizzo P.V., Menten J.F.M., Racanicci A.M.C., Traldi A.B., Silva C.S. & Pereira P.W.Z. 2010. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. *Revta Bras. Zootec.* 39(4):801-807.
- Rostagno H.S., Albino L.F.T., Donzele J.L., Gomes P.C., Oliveira R.F., Lopes D.C., Ferreira A.S., Barreto S.L.T. & Euclides R.F. 2011. Tabelas brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3ª ed. Editora UFV, Viçosa. 252p.
- Rukayadi Y., Lau K.Y., Zainin N.S., Zakaria M. & Abas F. 2013. Screening antimicrobial activity of tropical edible medicinal plant extracts against five standard microorganisms for natural food preservative. *Int. Food Res. J.* 20(5):2905-2910.
- Santurio J.M., Santurio D.F., Pozzatti P., Moraes C., Franchin P.R. & Alves S.H. 2007. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. *Ciência Rural* 37(3):803-808.
- Schmidt E.M.S., Locatelli-Dittrich R., Santin E. & Paulillo A.C. 2007. Patologia clínica em aves de produção - Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola: revisão. *Archs Vet. Sci.* 12(3):9-20.
- Silva R., Souza G.H.B., Silva A.A., Souza V.A., Pereira A.C., Royo V.A., Silva M.L.A., Donate P.M., Matos Araújo A.L.S., Carvalho J.C.T. & Bastos J.K. 2005. Synthesis and biological activity evaluation of lignan lactones derived from (-)-cubebin. *Bioorganic Med. Chem. Letters* 15(4):1033-1037.
- Silva M.L.A., Martins C.H.G., Lucarini R., Sato D.N., Pavan F.R., Freitas N.H.A., Andrade L.N., Pereira A.C., Bianco T.N.C., Vinholis A.H.C., Cunha W.R., Bastos J.K., Silva R. & Silva Filho A.A. 2009. Antimycobacterial activity of natural and semi-synthetic lignans. *Zeitschrift für Naturforschung. Journal of Biosciences* 64(11/12):779-784.
- Thrall M.A., Backer D.C., Campbell T.W., Denicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. 2007. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo. 592p.
- Traesel C.K., Wolkmer P., Schmidt C., Silva C.B., Paim F.C., Rosa A.P., Alves S.H., Santurio J.M. & Lopes S.T.A. 2011. Serum biochemical profile and performance of broiler chickens fed diets containing essential oils and pepper. *Comp. Clin. Pathol.* 20(5):453-460.
- Yari P., Yaghobfar A., Aghdamshahryar H., Ebrahim-Nezhad Y. & Mirzaie-Goudarzi S. 2014. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of different patterns of diet formulation. *Int. J. Plant Anim. Environ. Sci.* 4(3):459-464.
- Yoshitake O., Matoko I. & Junichi N. 1989. Treating and preventing agents for liver disease. Patent number: JP 1180824 (A).
- Zeng Z., Zhang S., Wang H. & Piao X. 2015. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6(7):1-10.
- Zhang K.Y., Yan F., Keen C.A. & Waldroup P.W. 2005. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 4(9):612-619.
- Zhang J., Chen J., Liang Z. & Zhao C. 2014. New lignans and their biological activities. *Chemistry and Biodiversity* 11(1):1-54.