



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO (*ORIGANUM VULGARE*) NA
DIETA, SOBRE A FISIOLOGIA E A PRODUTIVIDADE DE
CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX COTURNIX
JAPONICA*)**

DENISE NEVES CELESTINO DE JESUS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BRASÍLIA/DF
Fevereiro/2007

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO
(*ORIGANUM VULGARE*) NA DIETA, SOBRE A FISIOLOGIA E A PRODUTIVIDADE
DE CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX COTURNIX JAPONICA*)**

DENISE NEVES CELESTINO DE JESUS

ORIENTADOR: VANNER BOERE SOUZA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PUBLICAÇÃO: 246/2007

**BRASÍLIA/DF
Fevereiro/2007**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO
(*ORIGANUM VULGARE*) NA DIETA, SOBRE A FISIOLOGIA E A PRODUTIVIDADE
DE CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX COTURNIX JAPONICA*)**

DENISE NEVES CELESTINO DE JESUS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE AGRONOMIA E
MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE DISCIPLINAS DE PRODUÇÃO
ANIMAL.**

APROVADA POR:

VANNER BOERE SOUZA, Doutor (UnB)
(ORIENTADOR) CPF: 235.567.140-00 E-mail: vanner@unb.br

JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, Doutor (UnB)
(EXAMINADOR INTERNO) CPF: 002288181-68 E-mail: kleber@unb.br

ELIANA DE CÁSSIA PINHEIRO, Doutora (Universidade de Brasília)
(EXAMINADORA EXTERNA) CPF: 053866398-70 E-mail: liapinhe@unb.br

BRASÍLIA/DF, 12 de FEVEREIRO de 2007.

FICHA CATALOGRÁFICA

Jesus, Denise Neves Celestino

Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Denise Neves Celestino de Jesus; orientação de Vanner Boere Souza. – Brasília, 2007.

106p. : il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2007.

1. Codorna. 2. Orégano 3. Dieta 4. Produtividade. 5. Fisiologia. I. Boere, V. II. Dr.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

JESUS, D. N. C. Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2007, 106p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Denise Neves Celestino de Jesus

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Avaliação dos efeitos da adição de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*).

Grau: Mestre. Ano: 2007

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Denise Neves Celestino de Jesus
CPF: 714666901 78
SHCGN 707 Bl. D Apto 101 Asa Norte
CEP 70740-735 Brasília/DF - Brasil
8133 3192 denisencj@yahoo.com.br

“As sociedades precisam tanto da ciência como da religião.
Elas não são incompatíveis, mas complementares.
Precisamos da ciência para entender o mundo e
usar esse conhecimento para melhorar as condições humanas.
Mas a ciência deve permanecer em silêncio
nos assuntos espirituais”
(Francis Collins)

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e de todos, agradeço primeiramente a Deus. Obrigada Senhor por ter me concedido esta oportunidade única de crescimento pessoal e profissional. Creio que esta será apenas mais uma entre outras oportunidades grandiosas que aparecerão na minha vida.

Aos meus pais e meus irmãos, pelo apoio, paciência, confiança e solidariedade. Vocês são os maiores responsáveis por essa conquista. Amo todos vocês.

Ao meu companheiro e amigo Adriano. Obrigada pelos conselhos, paciência e momentos únicos que vivenciamos juntos. Com certeza, ficarão gravados em minha memória para sempre.

Ao meu orientador, amigo e conselheiro Vanner. Obrigada pela confiança, estímulo, sabedoria, honestidade, transparência, compreensão e companheirismo. Essa conquista não se tornaria realidade sem você.

Aos meus amigos e colegas de Laboratório: Ita, Rogério, Giovanna, Marcela, Luisa, Igor, Marcelle, Nadja, Ingrid, Rosângela, Carol, Joyce, Luciana, D. Santinha, além dos professores Eliana, Carlos Gonçalves e Alzira. Obrigada pela amizade, companheirismo, solidariedade e tudo mais que necessitei durante estes dois anos de estudos.

Aos meus amigos e colegas de mestrado: Gisele, Leandro, Cláudia e Marina. Obrigada pela ajuda, carinho e atenção. Vocês tornaram esta etapa mais suave e prazerosa. Espero que este seja o início de uma grande amizade.

Ao colega Alexis Welker, juntamente com o Prof. Marcelo Hermes, Roberto e Chiquinho. Obrigada pela atenção, auxílio, espaço físico e informações transmitidas. Essa integração foi de extrema importância para o meu crescimento profissional e enriquecimento do trabalho executado.

A Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária nas pessoas de Eliane, Andréia e Wesley, os quais receberam-me sempre com muita gentileza, facilitando a elucidação de minhas dúvidas.

A Capes, pela concessão da bolsa. Sem ela, as coisas seriam muito mais difíceis nesta cidade tão onerosa.

À todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para a execução do experimento e me incentivaram a seguir em frente até a conclusão deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
OBJETIVOS	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO 1	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
OBJETIVOS	38
HIPÓTESES	38
MATERIAIS E MÉTODOS	39
RESULTADOS	45
DISCUSSÃO	54
CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 2	68
RESUMO	69
ABSTRACT	70
INTRODUÇÃO	71
OBJETIVOS	78
HIPÓTESES	78
MATERIAIS E MÉTODOS	79
RESULTADOS	84
DISCUSSÃO	91
CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
CONCLUSÃO GERAL	105

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 – Classificação dos membros do gênero <i>Origanum</i> segundo a quantidade total de óleo essencial produzido por planta	9
TABELA 2 – Caracterização dos membros do gênero <i>Origanum</i> segundo os compostos de maior ocorrência na composição de seus óleos essenciais	9
TABELA 3 – Composição do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> ssp <i>hirtum</i>	10
TABELA 4: Laudo Técnico do óleo essencial de orégano fornecido pela empresa Aromalândia	42
TABELA 5: Composição do óleo de canola.....	42
TABELA 6: Composição da ração de crescimento Fri-ribe	42
TABELA 7: Composição da ração de postura Fri-ribe.....	43
TABELA 8: Comparação entre os pesos médios em gramas e erro padrão da média, por quinzena, dos ovos das codornas do grupo controle e do grupo orégano	49
TABELA 9: Comparação entre os diâmetros longitudinais médios em milímetros e erro padrão da média, por quinzena, dos ovos das codornas do grupo controle e grupo orégano	49
TABELA 10: Comparação das médias (x) ± erro padrão da média (EPM) das concentrações celulares e bioquímicas sanguíneas das codornas do grupo controle e do grupo orégano, pelo teste de Mann-Whitney, ao longo do experimento.....	53
TABELA 11: Comparação dos valores bioquímicos obtidos no experimento com os valores encontrados na literatura	58
TABELA 12 – Trabalhos que comprovam a atividade antioxidante do orégano e seus principais compostos.....	77
TABELA 13: Comparação das médias (x) ± erro padrão da média (EPM) das concentrações celulares e bioquímicas sanguíneas das codornas do grupo 1 (controle sem estresse), 2 (controle com estresse), 3 (orégano sem estresse) e 4 (orégano com estresse), pelo teste de Kruskal Wallis	84

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 – Gaiola de arame galvanizado utilizado no experimento.....	43
FIGURA 2: Pesos médios em gramas e erro padrão da média, por quinzena, das codornas do grupo controle (barras brancas) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras). Não houve diferença significativa entre os grupos	45
FIGURA 3: Peso médio e erro padrão da média (em gramas), das codornas do grupo controle (barra clara) e das codornas do grupo orégano (barra escura).	46
FIGURA 4: Consumo diário médio per capita de ração e erro padrão da média (g) do grupo controle (barra clara) e do grupo orégano (barra escura), durante todo o experimento	47
FIGURA 5: Ovos por ave e erro padrão da média, por quinzena, das codornas do grupo controle (barras brancas) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras).....	48
FIGURA 6: Ovos por ave e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura).	48
FIGURA 7: Peso médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras).....	50
FIGURA 8: Diâmetro longitudinal médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura).	51
FIGURA 9: Diâmetro transversal médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura).	51
FIGURA 10: Carga parasitária média (ovos de <i>Eimeria</i> sp.) durante o experimento com codornas, do grupo controle (1) em relação ao grupo orégano (2).	52
FIGURA 11: Concentração média de monócitos (valores relativos e erro padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4).	85
FIGURA 12: Concentração média de bastonetes (valores relativos e erro padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4).	86

FIGURA 13: Razão entre a concentração média de monócito para a concentração média de linfócitos e desvio padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4).87

FIGURA 14: Glicemia média (mg/dl) e erro padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4).88

FIGURA 15: Teor médio e erro padrão das proteínas carboniladas hepáticas das codornas do grupo controle sem estresse (1), do grupo controle com estresse (2), do grupo orégano sem estresse (3) e do grupo orégano com estresse (4).89

FIGURA 16: Teor médio e erro padrão de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobabritúrico) hepáticas das codornas do grupo controle sem estresse (1), do grupo controle com estresse (2), do grupo orégano sem estresse (3) e do grupo orégano com estresse (4).90

RESUMO GERAL

O uso de antibióticos como promotores de crescimento está sendo gradualmente banido, devido ao possível risco de resistência a drogas por bactérias patogênicas humanas, o que resulta em um crescente interesse por alimentos produzidos organicamente que, o público em geral associou como alimento saudável. Entre as opções, os extratos herbais (dentre eles o orégano) fazem parte de uma classe de produtos que poderá substituir os agentes antimicrobianos. No primeiro capítulo foi avaliado os efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) no consumo de ração, ganho de peso, postura e carga parasitológica fecal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). As possíveis alterações nos padrões hematológicos e bioquímicos destas aves também foram analisadas. Para isso, cem codornas japonesas fêmeas foram distribuídas em 2 grupos (controle e experimental) de 50 animais. Cada grupo foi subdividido em 5 lotes com 10 codornas. Cada gaiola possuía um lote de animais do grupo controle e outro do grupo experimental. O grupo controle recebeu ração padrão para codornas, adicionada de óleo vegetal de canola na proporção de 20g/kg de ração. O grupo experimental recebeu, para cada quilograma de ração, 20g da mistura de óleo de canola adicionada de óleo essencial de orégano a uma concentração de 1%, visando fornecer 200mg de óleo por quilograma de alimento. A adição do óleo essencial de orégano não alterou os índices de desempenho dos animais e não revelou atividade antiparasitária nas aves pertencentes ao grupo experimental. Nenhum efeito foi detectado nos parâmetros bioquímicos e hematológicos da codornas tratadas com o óleo, em 90 dias de administração crônica. No segundo capítulo, a atividade antioxidante do orégano foi avaliada. Para isso, no último dia do experimento 30 animais (15 de cada grupo) foram submetidos ao estresse de contenção (o qual é capaz de gerar estresse oxidativo) e outras 30 aves (15 de cada tratamento) não sofreram esta intervenção, permanecendo as mesmas nas gaiolas (aves não estressadas). As aves do grupo experimental obtiveram menores valores de monócitos, bastonetes, taxa monócitos/linfócitos e glicose, quando comparadas ao grupo controle. Não houve diferenças significativas nos índices que medem os danos oxidativos teciduais (TBARS e proteínas carboniladas). Os resultados obtidos permitiram sugerir que o óleo essencial de orégano promoveu um efeito protetor nos animais suplementados quando estes foram submetidos à imobilização.

Palavras-chave: *Coturnix coturnix japonica*, *Origanum vulgare*, dieta, desempenho, fisiologia.

GENERAL ABSTRACT

The antibiotic use as growth promotional is being gradually prohibited due to the possible risk of drugs resistance for human pathogenic bacteria resulting in an increasing interest for produced organic foods, that the public in general associated as healthful food. Between the options, the herbals extracts (amongst them the oregano, *Origanum vulgare*) are part of a class of products that will be able to substitute antimicrobials agents. In the first chapter it was evaluated the effect of addition of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in the intake, body weight gain, posture and fecal parasitological load of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). The possible alterations in the hematological and biochemistry standards of these birds had been also analyzed. One hundred quails had been divided in 2 groups (experimental and control) of 50 animals. Every group had been divided in 5 lots with 10 quails each. Each cage possessed one lot of the control group and another one of the experimental group. The control group had received ration standard for quails, added of canola vegetal oil in the ratio of 20g/kg ration. The experimental group had received for each kilogram of ration, 20g of the mixture of canola oil added oregano essential oil (in the concentration of 1%), aiming at to supply 200mg of essential oil for kilogram of food. The addition of essential oil was not modified the performance and did not display antiparasite activity in the experimental group. No effect was detected in the biochemistry and hematological parameters of the quails treated with the oregano oil, in 90 days of chronic administration. In the second chapter, the antioxidant activity of the oregano was evaluated. For this, in the last day of the experiment, thirty animals (fifteen of each group) had been submitted to immobilization stress (this procedure is able to generate oxidative stress) and others thirty birds (fifteen of each treatment) remained in the cages (birds were not stressed). The experimental group had gotten lowers values of monocytes, band neutrophil, monocytes/lymphocytes ratio and glucose, when compared with the control group. It did not have significant differences in the carbonyl proteins and TBARS concentrations. The results suggest that the oregano essential oil promoted a protective effect in the supplemented animals when they had been submitted to immobilization.

Key-words: *Coturnix coturnix japonica*, *Origanum vulgare*, diet, performance, physiology.

INTRODUÇÃO

As condições mundiais atuais vêm privilegiando as explorações comerciais que não necessitem de grandes investimentos, que ocupem pouco espaço, não necessitem de grande quantidade de mão de obra para sua manutenção e, ainda que forneçam retorno financeiro em curto ou médio prazo (Garcia e Pizzollante, 2004).

Nesse contexto, a coturnicultura (termo designado para a criação de codornas), vem-se destacando a cada ano como uma atividade produtiva no mercado agropecuário brasileiro. Verifica-se rápida expansão da produção no setor coturnícola a partir da década de noventa, que foi quando se iniciou a venda de ovos beneficiados (descascados ou em conserva), agregando valor ao produto (Albino, 2003)

As codornas são originárias do norte da África, da Europa e da Ásia, pertencendo à família dos Fasianídeos (Phasianidae) e da sub-família dos Perdicionidae, sendo, portanto, da mesma família das galinhas e perdizes (Pinto *et al.*, 2002). A *Coturnix coturnix coturnix*, ou codorna européia, foi introduzida no Japão no século XI, a partir da China, via Coréia. Os primeiros escritos a respeito dessa ave datam do século XII, e registram que elas eram criadas em função do seu canto. Os japoneses, a partir de 1910, iniciaram estudos e cruzamentos entre as codornas provindas da Europa e espécies selvagens, obtendo-se, assim, um tipo domesticado, que passou a se chamar *Coturnix coturnix japonica*, ou codorna doméstica. A partir de então, iniciou-se a sua exploração, visando à produção de carne e ovos (Reis, 1980).

No Brasil, esta ave foi introduzida na década de cinquenta, e embora elas se pareçam com as codornas selvagens, aqui existentes, não pertencem à mesma família, pois a *Nothura boraquira* (do Nordeste), *Nothura minor* (mineira ou buraqueira) e a *Nothura maculosa* (comum ou perdizinha) pertencem à família dos tinamídeos (Pinto *et al.*, 2002).

A coturnicultura é um setor da avicultura que está em franco crescimento com grande produtividade e rentabilidade, devido a vários fatores que têm contribuído para o aumento do rebanho no país (estimado em quase sete milhões de aves com uma produção de 117 milhões de dúzias de ovos/ano - fonte: IBGE, 2005). Entre eles se destacam: pequenos espaços para grandes populações, o rápido desenvolvimento e curto intervalo entre as gerações (Murakami e Furlan, 2002), a precocidade na produção, a maturidade sexual precoce (35 a 42 dias), a grande

longevidade em alta produção (14 a 18 meses), o baixo investimento e, conseqüentemente, o rápido retorno financeiro (Pinto *et al.*, 2002).

Desde os anos 90 têm sido utilizados três tipos de codornas em explorações industriais: a *Coturnix coturnix coturnix*, ou codorna européia; a *Coturnix coturnix japonica*, ou codorna japonesa; e a *Bobwhite Quail* ou codorna americana. Essas aves possuem diferentes características de tamanho, peso, precocidade, tipo de ovo (branco ou pintado), taxa de postura, coloração das penas, caracterizando, assim, a aptidão de cada uma, a produção de carne ou ovos. A codorna japonesa, no entanto, é a mais difundida mundialmente, por sua grande precocidade e alta produtividade (Baungartner, 1994).

As fases de criação da codorna japonesa correspondem aos diferentes períodos cronológicos que a ave passa durante todo o período de sua vida. Cada período possui características próprias, de acordo com a categoria do animal (Albino, 2003).

<i>Codorna para produção de ovos</i>	
Denominação	Fase (dias)
Cria ou Inicial	1-21
Recria	22-42
Produção	43 ao descarte

As codornas, por possuírem grande área corporal em relação ao peso, na fase de crescimento são dependentes de ambiente termo-higrométrico ideal (primeira semana de idade, 38°C e 65% de umidade relativa (UR); segunda semana de idade 32°C e 60% de UR; terceira semana de idade 27°C e 60% de UR e, a partir da quarta semana de idade 21 a 25°C e 60% de UR), segundo Reis (1980).

As fêmeas adultas são em média 10% mais pesadas que os machos, e iniciam a postura ao atingir esta fase, alcançando uma produção anual de até 300 ovos. Tanto a carne como os ovos são bastante apreciados. No Brasil, estima-se que o consumo *per capita* seja de 9,5 ovos (Fujikura, 2002), o que demonstra que a demanda desse alimento tem contribuído para o aumento da criação de codornas no país. Os ovos são relativamente grandes (peso médio de 11,5 g) e o rendimento da carcaça é um dos mais altos entre as aves: 72% do peso vivo (Murakami e Furlan, 2002).

De modo geral, a alimentação das aves desempenha um papel fundamental na criação, já que representa aproximadamente 75% do custo variável da produção avícola, e se baseia em três conceitos fundamentais: consumo, necessidades e recomendações (Murakami, 1998). Elas devem encontrar nas rações que ingerem todos os constituintes que lhes permitam crescer, reproduzir e produzir ovos. Os nutrientes assimiláveis, indispensáveis para esta atividade, é que definem as necessidades de constituintes energéticos, aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas e água (Cotta, 2003).

A energia é o principal componente nutricional da ração, determinando o desempenho das aves (Cotta, 2003). A energia não é um nutriente, mas resulta da oxidação dos nutrientes durante o metabolismo, sendo liberada na forma de calor ou sendo armazenada para uso posterior nos processos metabólicos do organismo animal (NRC, 1994). Em sistema de criação onde se utiliza alimentação à vontade, o consumo alimentar é regulado pela densidade energética da ração e pela exigência das aves, tornando-se imprescindível o conhecimento acurado do teor energético dos alimentos para proporcionar o adequado balanceamento das dietas (Murakami e Furlan, 2002).

As codornas apresentam diferenças fisiológicas e comportamentais, distinguindo-se das demais aves em eficiência alimentar e produtividade (Murakami e Furlan, 2002). O tempo de passagem da digesta pelo intestino das codornas é muito rápido (1 a 1,5 horas, contra 3 a 5 horas em galinhas), o que influencia a digestibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, no valor energético, pois esta ave apresenta um melhor aproveitamento da energia proveniente de fibra da ração, o que pode ser devido ao maior tamanho relativo do ceco. A eficiência alimentar está relacionada também a uma série de variáveis, como composição do alimento, quantidade ingerida (Furlan *et al.*, 1996), aspecto físico do alimento (Leandro *et al.*, 2001), conteúdo de umidade, frequência e tempo de fornecimento do alimento, além das variações individuais (Murakami e Furlan, 2002).

Além das fontes energéticas, as fontes protéicas das rações têm sido os componentes de maior participação no custo das mesmas, sendo, também, os de maior importância na prática comercial (Forbes *et al.*, 1994). A proteína contida nos ingredientes da ração é um dos principais nutrientes na manutenção do metabolismo corporal das aves e para produção de carne e ovos, cuja eficiência de utilização depende da quantidade, composição e digestibilidade de seus aminoácidos (Dale, 1994). Os aminoácidos são exigidos em níveis específicos pelas aves para exercer inúmeras funções de constituintes primários dos tecidos estruturais e de proteção, como a

pele, matriz óssea, ligamentos, tecidos dos órgãos, músculos e penas (Pinto *et al.*, 2002). Assim, os aminoácidos e peptídeos resultantes dos processos de digestão e absorção dos alimentos podem ser utilizados para várias funções metabólicas e como precursores de inúmeros constituintes corporais não protéicos (Silva, 1997). A digestão e o metabolismo de aminoácidos consumidos em excesso geram incremento calórico corporal desnecessário, provocando a excreção de volume excessivo de ácido úrico, com maior gasto de energia. Além disso, o excesso de aminoácidos circulantes pode provocar a diminuição do consumo de ração por parte dos animais (Goulart, 1997).

No Brasil, o material genético existente ainda precisa ser melhorado, necessitando com urgência de programas de melhoramento genético, para a obtenção de linhagens definidas (Murakami, 1998). Além disso, são escassas as informações nas áreas de manejo e nutrição de codornas, dificultando a criação e contribuindo para o aumento no custo de produção desta ave. Frequentemente há o fornecimento de rações que não se adequam às reais exigências dessas aves (Sakamoto *et al.*, 2006) e, grande parte das pesquisas científicas envolvendo níveis nutricionais e desempenho de codornas refere-se a dados obtidos em outros países, onde a formulação de ração se baseia em tabelas estrangeiras (NRC, 1994 e INRA, 1999), além de os dados utilizados serem muito antigos e escassos. O próprio NRC (1994) cita que, desde 1984, não se têm novas informações a respeito de exigências para codornas, demonstrando desde então uma grande defasagem de informações. Soma-se a isso, as linhagens utilizadas, as condições ambientais e o manejo que diferem daqueles existentes em nosso país.

Desta forma, para viabilizar sua exploração racional, torna-se necessária a realização de pesquisas nas áreas de genética e nutrição (Belo *et al.*, 2000), no sentido de contribuir para maior aprimoramento e obtenção de linhagens definidas. O estabelecimento de linhagens pode garantir a produtividade dessas aves (Garcia e Pizzollante, 2004) e a fixação desta exploração como fonte rentável na produção avícola (Furlan *et al.*, 1996).

Além da questão nutricional, um dos maiores problemas nas criações é a existência de refugo nos lotes de aves em produção devido a infestações parasitárias e de microorganismos. Os parasitos, além de espoliarem o organismo, estimulam respostas imunológicas que drenam parte das reservas energéticas que seriam direcionadas para o crescimento e para a reprodução (Yun *et al.*, 2000).

Com o objetivo de atenuar a infestação parasitária e o crescimento de patógenos, em criações comerciais tem-se usado na ração ou na água de beber, antiparasitários e antibióticos. (Corrêa *et al.*, 2002). A ação destes antibióticos e antimicrobianos quimioterápicos como promotores de crescimento se baseia, principalmente, na redução da atividade de microrganismos antagonistas no intestino, permitindo uma maior eficiência na absorção de nutrientes pelo animal, resultando desta maneira em 4 – 6,5% de aumento no ganho de peso e utilização do alimento (Tsinas, 1998a).

Este procedimento, embora muito útil e cientificamente aceitável, tem sido muito criticado pelo público consumidor devido ao possível risco de resistência a drogas por bactérias patogênicas humanas, resultando em um crescente interesse por alimentos produzidos organicamente, que o público em geral associou como alimento saudável (Moreira *et al.*, 2005). Estes alimentos “verdes”, tanto de origem vegetal como animal, possuem um valor agregado que se reflete em maior ganho para o produtor (Jaenisch, 2000).

Portanto, a pressão social para um menor uso de antibióticos sintéticos, forçou produtores e pesquisadores a investigarem outras substâncias que, além de melhorarem o desempenho de crescimento, causem menos prejuízos ao meio ambiente e sejam aceitas pelos consumidores (Tsinas, 1998b).

Neste contexto, se contrapondo ao uso de quimioterápicos sintéticos, as plantas aromáticas e seus extratos têm recebido elevada atenção como alternativa na promoção de crescimento, inseridas na produção orgânica de produtos alimentares, com custos mais altos, mas não impedindo um consumo crescente (Jaenisch, 2000).

O uso de produtos naturais para prevenir ou curar doenças está longamente estabelecido, e é notável que apenas 25% de nossos fármacos modernos puderam ser traçados antes daqueles de origem botânica (Tsinas, 1999). Sabe-se que a maior parte das propriedades antimicrobianas é devido ao óleo essencial que estas plantas contêm como produto do seu metabolismo secundário (Bampidis *et al.*, 2005). Estes óleos essenciais (também chamados de óleos voláteis ou “ethereal”, *sensu* Guenther, 1948) são líquidos obtidos a partir de materiais da planta como flores, brotos, sementes, folhas, ramos, córtex, caules, frutas e raízes.

Os óleos essenciais podem ser obtidos por métodos de compressão, extração, fermentação, *enfleurage* (uso de um solvente vegetal para reter o óleo) ou, mais comumente, por

destilação a vapor (Van de Braak *et al.*, 1999). Pensa-se que o termo “óleo essencial” é derivado da nomenclatura alquímica do século XVI, pelo reformador de medicina suíço Paracelsus von Hohenheim, que chamou o componente efetivo de uma droga de “quinta essentia” (Guenther, 1948).

Cerca de três mil óleos essenciais são conhecidos, dos quais aproximadamente 10% são comercialmente importantes. Esta pequena parte dos óleos essenciais é destinada principalmente para o mercado de fragrâncias, flavorizantes de alimentos, de bebidas alcoólicas, de cosméticos, aromaterapia, medicina e produtos de limpeza (Van de Braak *et al.*, 1999).

Diferentes modos de ação dos óleos essenciais compõem os mecanismos de inibição dos microrganismos. Compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais tem sido conhecidos por possuir atividade antimicrobiana e alguns são classificados como “substâncias reconhecidamente seguras” e, por isso, poderiam ser usadas para prevenir o crescimento pós-colheita de bactérias contaminantes e saprófitas. Estas substâncias sensibilizam a bicamada fosfolipídica da membrana celular do microrganismo, causando um aumento da permeabilidade e perdas de constituintes intracelulares vitais ou danos nos sistemas enzimáticos deste (Singh *et al.*, 2002).

Entre as planta cujos extratos possuem ação antimicrobiana (Burt, 2004), antifúngicas (Thompson, 1989), inseticida (Konstantopoulou *et al.*, 1992) e anti-helmíntica (Force *et al.*, 2000) destaca-se o orégano (*Origanum vulgare*). Esta erva, mundialmente usada como um condimento pertence ao gênero *Origanum* (família Labiatae / Lamiaceae) e é caracterizada por uma larga diversidade morfológica e química. Quarenta e duas espécies ou quarenta e nove tipos (espécie, subespécie e variedades) divididos em 10 seções (*Amaracus*; *Anatolicon*; *Brevifilamentum*; *Longitubus*; *Chilocalyx*; *Majorana*; *Campanulaticalyx*; *Elongatispica*; *Origanum*; *Prolaticorolla*) pertencem a este gênero, sendo que a maioria deles tem uma distribuição local ao redor do Mediterrâneo e Oriente Médio (Ietswaart, 1980; Kokkini, 1991).

Os óleos essenciais das variedades do gênero *Origanum* variam na quantidade total produzida por planta (variando desde traços a 8 ml / 100g de peso seco), bem como em sua composição qualitativa (Tabela 1). Como resultado, o conteúdo total de fenóis (cristalizável e não cristalizável) de seu óleo essencial varia de traços até 95%, mesmo entre plantas de mesma espécie (Kokkini *et al.*, 1989; Vokou *et al.*, 1993) (Tabela 2). A preponderância de carvacrol (fenol não cristalizável) ou timol (fenol cristalizável) nos seus óleos essenciais é responsável pela sua classificação comercial como óleo de orégano ou de tomilho, respectivamente. A variação na

composição química dos óleos essenciais de orégano provavelmente tem uma ligação com suas propriedades antimicrobianas (Sivropoulou *et al.*, 1996).

TABELA 1 – Classificação dos membros do gênero *Origanum* segundo a quantidade total de óleo essencial produzido por planta (Kokkini *et al.*, 1991; Vokou *et al.*, 1998).

Designação	Produção de óleo (ml / 100g de peso seco)	Exemplo
“Pobres” em óleo essencial	Menor que 0,5%	<i>Origanum calcaratum</i>
Intermediário	Entre 0,5 e 2,0%	<i>Origanum microphyllum</i>
“Ricos” em óleo essencial	Maior que 2,0%	<i>Origanum vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> ; <i>Origanum onites</i>

TABELA 2 – Caracterização dos membros do gênero *Origanum* segundo os compostos de maior ocorrência na composição de seus óleos essenciais (Fischer *et al.*, 1987; Kokkini *et al.*, 1991; Vokou *et al.*, 1998; Ruberto *et al.*, 1993; Lawrence, 1984) .

Principais compostos	Exemplo
Linalol, Terpeno-4-ol, hidrato de sabineno	<i>Origanum majorana</i>
Compostos fenólicos, carvacrol e/ou timol	<i>Origanum vulgare</i> subsp <i>hirtum</i>
Sesquiterpenos	<i>Origanum vulgare</i> subsp <i>vulgare</i>

O óleo essencial de *Origanum vulgare*, uma das espécies com maior rendimento de óleo, é descrito como contendo mais de 34 compostos ativos (Tabela 3). Os maiores constituintes do óleo essencial desta erva, os fenóis carvacrol, timol, γ -terpeno e p -cimeno, alcançam entre 80,2% a 98,4% dos óleos essenciais totais de algumas amostras de orégano de localidades da Grécia (Bampidis, 2005). Os altos níveis destes compostos e sua relação são de grande importância para a eficácia do produto. Entretanto, outros componentes têm provado ser de relevância significativa, visto que, a eficácia do carvacrol e do timol isolados, não atingem a eficiência biocida e antioxidante do óleo essencial (Tsinas, 1999).

TABELA 3 – Composição do óleo essencial de *Origanum vulgare* ssp *hirtum* (Sivropoulou *et al.*, 1996)

Componente	Composição (%) (Sivropoulou, 1996)
1- α -thujene	^b
2- α -pinene	0,88
3- camphene	0,15
4- β -pinene	0,08
5- sabinene	0,04
6- myrcene	0,61
7- α -phellandrene	0,07
8- α -terpinene	0,62
9- limonene	0,14
10- 1,8-cineole	0,18
11- β -phellandrene	0,08
12- γ -terpinene	2,07
13- β -ocimene	0,09
14- <i>p</i> -cymene	8,76
15- α -terpinolene	0,05
16- 6-methyl-3-heptanol	-
17- nonanal	-
18- 3-octanol	-
19- 1-octen-3-ol	0,37
20- trans-sabinene hydrate	0,15
21- β -bourbonene	-
22- cis-sabinene hydrate	0,22
23- linalool	0,12
24- linalyl acetate	-
25- terpinen-4-ol	-
26- β -caryophyllene	1,50
27- methylcarvacrol	0,05
28- trans-dihydrocarvone	0,03
29- cis-dihydrocarvone	^a tr
30- isoborneol	0,10
31- α -terpineol	0,42
32- γ -elemene	0,20
33- β -bisabolene	0,15
34- γ -cadinene	0,02
35- trans-carveol	0,10
36- calemene	0,03
37- <i>p</i> -cymen-8-ol	0,08
38- carvacrol acetate	0,36
39- spathulenol	0,05
40- thymol	2,45
41- carvacrol	79,58

^a tr = traço (<0,01%); b: não determinado

Um exemplo da grande variabilidade da composição química dos óleos de espécies do gênero *Origanum* foi obtido por Sivropoulou e colaboradores (1996), que realizaram um estudo comparativo da composição de três óleos essenciais de *Origanum*: dois eram derivados de ervas de orégano da Grécia (*O. vulgare* ssp *hirtum* e *O. dictamnus*), e o terceiro era uma preparação disponível comercialmente de óleo de *Origanum*. Os componentes químicos de cada óleo foram analisados por espectrofotometria de massa – cromatografia a gás (GC-MS) e mostrou uma grande variação na concentração de carvacrol (0,43% – 79,58%) e timol (0,44% – 31,8%). Entretanto, a soma dos dois fenóis e seus precursores (γ -terpeno e ρ -cimeno) constituiu um volume para cada óleo de 87,7%, 92,8% e 73,7% respectivamente. Segundo estes autores, devido ao baixo conteúdo de carvacrol, o óleo de *Origanum* comercial não poderia ser caracterizado como um típico óleo de orégano.

O óleo essencial derivado de plantas do gênero *Origanum* possui atividade antimicrobiana contra bactérias gram positivas e gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Rhizobium leguminosarum*, *Bacillus subtilis*) (Sivropoulou *et al.*, 1996). Além do carvacrol e timol, e seus precursores biossintéticos (γ -terpeno e ρ -cimeno), outros componentes que estão presentes nos óleos (1,8-cineole, linalol, acetato linalil, α -terpenol, isoborneol, *trans*-dihidrocarvone, *cis*-dihidrocarvone e *trans*-carveol), exibiram atividade antimicrobiana, justificando a melhor eficiência do óleo total que a dos principais componentes isolados (Sivropoulou *et al.*, 1996).

Ozkan e colaboradores (2003) realizaram um teste de rotina para quantificar a eficiência de agentes antimicrobianos (prova do antibiograma em disco). O óleo essencial de orégano em concentrações de 1% ou 2% em solução de etanol absoluto, foi um dos mais ativos dentre os temperos (cominho, louro, menta, mangerona, sálvia, segurelha, tomilho preto e tomilho) para inibir o crescimento de bactérias *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Corynebacterium xerosis*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas fluorescens*.

Em concordância, Elgayyar e colaboradores (2001), demonstraram que o óleo essencial de orégano resultou em maior zona de inibição (maior ou igual a 70 mm) sobre a *E.coli*. A CMI

(concentração mínima inibitória) e CMB (concentração mínima bactericida) obtida para o orégano foram de 1,8 e 2,0 ml/100ml, respectivamente. Também, Sagdie e colaboradores (2002) estudaram a capacidade de extratos de sete espécies em diferentes concentrações para inibir o crescimento da *E.coli* O157:H7. Eles reportaram que o orégano e o tomilho mostraram maiores atividades que os outros extratos. Em concordância, Skandamis e colaboradores (2001) declararam que óleos essenciais de orégano e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) inibiram o crescimento de *E.coli* por induzir mudanças morfológicas próximas a CMB.

A comparação do efeito do óleo essencial de *Ocimum basilicum* e *Thymus vulgaris*, contra treze linhagens bacterianas e seis fungos, em doses equivalentes de óleo essencial de orégano, foi vantajoso para este último, inclusive contra cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa* (Bozin *et al.*, 2006). Sartoratto e colaboradores (2004) compararam a atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de plantas aromáticas usadas no Brasil, concluindo que, o óleo essencial de orégano foi fortemente bactericida para *Enterococcus faecium* e moderadamente para *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Rhodococcus equi*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Estes autores também observaram a atividade antifúngica para *Candida albicans*.

Por outro lado, Moreira e colaboradores (2005) avaliando os parâmetros de atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais na sobrevivência e crescimento de linhagens diferentes de *E.coli* O157:H7, verificaram que este microrganismo mostrou baixa susceptibilidade ao orégano, apresentando 10mm a 12mm de diâmetro de halo de inibição. As diferenças encontradas com os estudos anteriormente citados podem ser atribuídas à heterogeneidade dos óleos essenciais, muitas vezes composto por misturas complexas de substâncias orgânicas. A qualidade e quantidade dos componentes dos óleos essenciais podem variar com o estágio de crescimento, variedade, condições ambientais, fatores ecológicos e outros fatores da planta (Amzallag *et al.*, 2005). O método de extração também pode alterar a composição do óleo essencial (Vági *et al.*, 2005).

O modo de ação dos fenóis contra as bactérias segue o mesmo dos antibióticos sintéticos, com a alteração da membrana celular bacteriana, aumento de sua permeabilidade, resultando em um desequilíbrio aquoso e morte da célula. Entretanto, em contraste aos antibióticos sintéticos, não há evidências de resistência bacteriana ao óleo essencial de orégano (Ingram, 1997).

De forma geral, os mecanismos de resistência bacteriana podem surgir de duas maneiras: mutação cromossômica (que não podem ser transferidas a outras bactérias) ou aquisição de plasmídeos (que podem transferir resistência rapidamente) (Balcázar *et al.*, 2006). Portanto, como o efeito inibitório do orégano na bactéria não é através da transferência de nenhum cromossomo, não há risco de aumento da oposição da bactéria para tais substâncias importantes como penicilina e estreptomicina (Tsinas, 1999).

A propriedade inseticida do óleo essencial de orégano foi comprovada por Lamiri e colaboradores (2001) contra a mosca Hessian (*Mayetiola destructor*), uma das maiores pragas do trigo no Marrocos. Estes autores observaram que óleo de *Origanum majorana* foi mais tóxico aos animais adultos e o extrato de *Origanum compactum* foi mais eficiente sobre os ovos. Em concordância, Isman e colaboradores (2000) comprovaram esta atividade do orégano contra a lagarta do tabaco (*Spodoptera litura*), através da aplicação tópica do óleo essencial neste inseto no terceiro estágio larval. O óleo de *Origanum creticum* produziu mais de 90% de mortalidade das larvas nas 24 horas posteriores a dose de 100µg por larva.

Pesquisas médicas em humanos demonstraram que a suplementação alimentar com 600 mg de óleo de orégano emulsificado, durante seis semanas, foi eficaz contra infestações entéricas de parasitos (*Blastocystis hominis*, *Entamoeba hartmanni* e *Endolimax nana*) (Force *et al.*, 2000).

Além da propriedade biocida, outra atividade benéfica observada no óleo essencial de orégano é a sua propriedade antioxidante. Constituintes químicos com atividade antioxidante (com capacidade de desativar radicais livres), encontrados em altas concentrações em plantas, determinam seu considerável papel na prevenção de várias doenças degenerativas, como câncer e doença de Alzheimer (Hu *et al.*, 2002). Isto porque, acredita-se que estas substâncias funcionem em oposição aos efeitos das espécies reativas de oxigênio (ROS), que são geradas durante o metabolismo celular. Estes fitoquímicos devido ao seu anel fenólico e substituintes hidroxila podem funcionar como antioxidantes efetivos devido a sua habilidade de conter elétrons livres. Sugere-se então que, os antioxidantes fenólicos oriundos de uma dieta rica em tais compostos podem neutralizar os radicais livres nocivos e então inibir suas reações oxidativas com moléculas biológicas vitais, prevenindo o desenvolvimento de muitas condições fisiológicas, as quais podem se manifestar em doenças (Vattem *et al.*, 2005).

Entre os principais constituintes presentes nas plantas, que participam no sistema de defesa da célula contra os radicais livres, estão os compostos fenólicos, e também ácido ascórbico

e carotenóides (Szeto *et al.*, 2002). Entretanto, como estas ervas podem ser usadas frescas ou secas, é válido ressaltar que processos enzimáticos que ocorrem durante a secagem da planta poderiam levar a mudanças significantes na composição dos fitoquímicos (Jambor *et al.*, 2002). Com efeito, Capecka e colaboradores (2005) compararam a atividade antioxidante de algumas ervas após a colheita e após a secagem. A atividade antioxidante do orégano expressa através da inibição da peroxidação do ácido linoléico e estabilização de radical livre (2,2-difenil-1-picril-hidrazila - DPPH) não sofreu significativa decréscimo após a secagem da erva. Atribui-se tal efeito principalmente à riqueza desta erva em ácido rosmarínico, um composto que possui quatro grupos hidroxila em sua molécula e, por esta razão, possui alto potencial de estabilização de radicais livres.

Alma e colaboradores (2003) também estudaram esta propriedade do orégano empregando a técnica do tiocianato (segundo Yildirim *et al.*, 2000) e, concluíram que os terpenos presentes nas folhas e no óleo de orégano são poderosos antioxidantes, comparável ao 2,6-di-terc-butil-p-hidroxitolueno - BHT (tradicional antioxidante) no combate à oxidação do ácido linoléico e ao α -tocoferol (Kulisic *et al.*, 2004).

Outra questão relevante é que tratamentos ácidos são regularmente usados nos estudos fitoquímicos, entretanto, poucos estudos têm investigado o efeito de tais tratamentos na atividade antioxidante. Visando isto Kosar e colaboradores (2005) avaliaram o efeito que este procedimento poderia ter sobre as características fitoquímicas (conteúdo total de fenóis e composição qualitativa e quantitativa) e antioxidantes. Foi obtido que o tratamento ácido diminui a quantidade de ácido rosmarínico do orégano, porém não afetou a atividade de neutralizar DPPH do extrato. Além disso, a concentração estimada para o extrato de orégano IC₅₀ (concentração de óleo essencial que causou 50% de neutralização) decresceu significativamente após o tratamento ácido, ou seja, o extrato tratado com ácido foi significativamente mais inibidor da deterioração de fosfolipídeos mediada por radicais hidroxilas.

Verifica-se, então, que para uma aplicação tecnológica de sucesso de tal preservante natural são necessários determinar a concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração mínima bactericida (CMB) do óleo essencial de orégano. Além disso, aplicações tecnológicas de óleos essenciais, para reduzir patógenos no processamento pós-colheita de alimentos, em particular aqueles produzidos por métodos orgânicos, requer o estabelecimento de condições ótimas, tais como sensibilidade ao patógeno, concentrações efetivas e tempo de contato entre o

óleo e o patógeno. Entretanto, deve-se salientar que para alcançar uma determinada vida de prateleira, os produtos alimentícios requerem uma carga inicial microbiana reduzida, assim como seu controle ou inibição durante as etapas de produção.

Em termos de produtividade animal, a adição de promotores de crescimento à alimentação é uma prática comum para elevar a produtividade ou aumentar a conversão alimentar, embora não sejam substâncias nutritivas (English *et al.*, 1988; Muirhead *et al.*, 1997). A ação destes antibióticos e antimicrobianos quimioterápicos como promotores de crescimento se baseia, principalmente, na redução da atividade de microrganismos antagonistas no intestino, permitindo uma maior eficiência na absorção de nutrientes pelo animal, resultando em 4 – 6,5% de aumento no ganho de peso e utilização do alimento (Corrêa *et al.*, 2002; Tsinas, 1998a).

O óleo essencial de orégano surge como uma alternativa natural para o uso na produção animal, devido à comprovação de suas propriedades antibacterianas e antiparasitárias (Karpinska *et al.*, 2001; Mejlholm *et al.*, 2002; Alma *et al.*, 2003; Özkan *et al.*, 2003).

Um exemplo é o estudo efetuado por Tsinas e colaboradores (1999) que realizaram uma pesquisa com 450 porcos de um dia de idade até o abate (três grupos de 150), sendo que, o grupo 1 não recebeu nenhum tipo de agente antimicrobiano ou promotor de crescimento, e os grupo 2 e 3 receberam suplementação de 250g e 500g, respectivamente, de um premix comercial de óleo essencial de orégano / tonelada de ração. Estes autores verificaram que os grupos suplementados obtiveram menor taxa de mortalidade, maior peso vivo (em kg) e melhor taxa de conversão alimentar. Estes resultados foram dose-dependente e, portanto, o premix utilizado poderia ser considerado um promotor de crescimento. Resultados muito semelhantes foram também obtidos por Günter e colaboradores (1998), Bilkei e colaboradores (2001) e Gertenbach e colaboradores (2001).

Em outro estudo realizado por Tsinas e colaboradores (1998b), utilizando as mesmas dosagens do suplemento comercial de óleo essencial de orégano, verificou-se que os grupos tratados com esse óleo obtiveram 37 – 25% de redução de incidência de diarreia, enquanto que o grupo controle obteve uma incidência de 87,5%. Os resultados foram novamente dose-dependente (Tsinas *et al.*, 1998b).

Um recente estudo realizado com suínos sugeriu uma melhoria na reprodução, pois, a adição de folhas de orégano dessecadas à dieta de porcas em pré-parição e em fase de lactação reduziu as taxas de mortalidade anual de neonatos, diminuiu a separação (por problemas de

locomoção, torção de órgãos abdominais, falhas cardíacas, entre outros) durante a lactação e aumentou o número de animais nascidos vivos por ninhada, quando comparados com aqueles não suplementados com esta planta (Allan *et al.*, 2005). Além desses efeitos, houve um aumento significativo na produção de leite pelas leitoas (Khajarn *et al.*, 2002).

Os efeitos positivos do óleo orégano na saúde dos suínos e produção pode ser devido à sua ação antioxidante (Aeschbach *et al.*, 1994), antibacteriana (Didry *et al.*, 1994), e antiinflamatória (Azuma, *et al.*, 1986). Khajarn e colaboradores (2002) estabeleceram que o carvacrol e o timol afetaram a membrana da mucosa intestinal e aceleraram a taxa de renovação dos enterócitos na superfície das vilosidades do intestino. Isto poderia reduzir o ataque de patógenos aos enterócitos e melhorar a capacidade de absorção de nutrientes. O orégano estimulou a digestão orgânica e microbiana (De Koning *et al.*, 1999), melhorou a regulação do metabolismo gastrintestinal (Günter, 1998) e exerceu propriedades antibacterianas por impedir processos disbióticos no trato digestivo destes animais (Sivropoulou *et al.*, 1996, Tsinas *et al.*, 1998 a e b, Didry *et al.*, 1994).

Em estudos realizados com galinhas poedeiras, o óleo essencial de orégano em concentrações de 300mg/kg de ração demonstrou ser eficiente no combate da hemoparasitos (*Eimeria tenella*) (Giannenas *et al.*, 2003). Hao e colaboradores (1998) observaram uma forte atividade antibacteriana de extrato alcoólico de orégano em carne de frango e de perus, contra *Aeromonas hydrophila* e *Listeria monocytogenes*, comparável a vários antibióticos comumente utilizados contra estes microrganismos. Em carne crua de galinha, houve uma redução no crescimento de sementeira de *Yarrowia lipolytica* submetida ao tratamento com orégano, embora outros tratamentos (cocções de manjeriço, mangerona, salva e tomilho) fossem iguais ou mais eficazes (Ismail *et al.*, 2001).

Lam e Zheng (1991) sugeriram que o óleo de orégano possui uma atividade anticancerígena. Estes autores reportaram que ratos alimentados com óleo de *Origanum* tiveram aumentada a atividade de glutatona S-transferase (GST) em vários tecidos. É sugerido que o GST exerce um papel importante na detoxificação da carcinogênese química.

Verifica-se, então, que o orégano na forma de óleo essencial ou folhas dessecadas possui várias aplicações benéficas na produção de alimentos e na saúde humana. Portanto, seu custo baixo relativo às mínimas concentrações necessárias para a obtenção de efeitos desejáveis,

configura-no um promissor agente adjuntivo na alimentação animal. O Brasil não produz comercialmente o óleo essencial de orégano, necessitando ser importado dos maiores produtores, como a Turquia e a Grécia. A demanda interna crescente pode estimular a produção alternativa em pequena escala, consolidando a economia rural de pequenos produtores com suas conseqüências sociais benéficas. Para que se consolide esta alternativa, contudo, são necessários mais estudos visando a comprovação das propriedades químicas e variedades viáveis em solo tropical e subtropical. Experimentos nutricionais em laboratório e a campo, também seriam desejáveis para o estabelecimento das concentrações biocidas e antioxidantes do óleo essencial de orégano.

OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo avaliar e testar o efeito na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas que receberam dieta acrescida de óleo essencial de orégano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; SCOTT, B.C.; MURCIA, A.; BUTLER, A.; HALLIWELL, B. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. **Food Chemistry Toxicology**. v.32, n.1, p. 31-36, 1994.

ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S.L.T. **Criação de Codornas para a Produção de Ovos e Carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 290p.

ALLAN, P.; BILKEI, G. Oregano improves reproductive performance of sows. **Theriogenology**. v. 63, p. 716-721, 2005.

ALMA, M. H.; MAVI, A.; YILDIRIM, A.; DIGRAK, M.; HIRATA, T. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. Growing in Turkey. **Biological Pharmacological Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 1725-1729, 2003.

AMZALLAG, G. N.; LARKOV, O.; BEN HUR, M.; DUDAI, N. Soil microvariations as a source of variability in the wild: the case of secondary metabolism in *Origanum dayi* Post. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6., p. 1235-1254, 2005.

AZUMA, Y.; OZASA, N.; UEDA, Y.; TAKAGIA, N. Pharmacological studies on the antiinflammatory action of phenolic compounds. **Journal of Dental Research**. v.65, n.1, p. 53-56, 1986.

BALCÁZAR, J.L.; BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J.L. Review - The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology**. v.114, p. 173-186, 2006.

BAMPIDIS, V.A.; CHRISTODOULOU, V; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A.B.; CHATZOPOULOU, P.S. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, p. 1-11, 2005.

BAUNGARTNER, J. Japanese quail production breeding and genetics. **World's Poultry Science**, v.50, n.3, p.228-235, 1994.

BELO, M.T.S; COTTA, J.T.B.; OLIVEIRA, A.I.G. **Níveis de energia metabolizável em rações de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) na fase inicial de postura**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.24, n.3, p.782-793. 2000.

BILKEI, G.; GERTENBACH, W. Retrospektive Untersuchung des Kombination effects hoher Vitamin E- und pflanzlicher Oregano-Futterzusätze auf die Entwicklung von verzögert wachsenden Mastschweinen. **Biologische Tiermedizin** v.3, p. 83-87, 2001.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1822-1828, 2006.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**. v.94, n.3, p.223-253, 2004.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. **Food Chemistry**. p. 1-4, 2005.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S. Utilização de antibióticos e probióticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Ciências da Vida**, v. 22, n. 2, p. 75-81, 2002.

COTTA, T. **Alimentação de Aves**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 238p.

DALE, N. Los requirements de nutrients: Hasta qué punto son aplicables? **Avicultura Profesional**, v.2, n.2, p.63-64, 1994.

DE KONING, W.; DING HONG BIAO, W.U.; XIAN, F.; RONG, Y. **Chinese herbs in animal nutrition**. Nottingham University Press. p. 7–83, 1999.

DIDRY, N.; DUBREUIL, L.; PINKAS, M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyd and eugenol on oral bacteria. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**. v.64, n.1, p. 25-28, 1994.

ELGAYYAR, M.; DRAUGHON, F.A.; GOLDEN, D.A.; MOUNT, J.R. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **Journal of Food Protection**, v. 64, n.7, p.1019– 1024, 2001.

ENGLISH, P.R; FOWLER, V.R.; BAXTER, S.; SMITH, B. **The growing and finishing pig: Improving efficiency**. Farming Press Book. p.230-236, 1988.

FISCHER, N., S. NITZ AND F. DRAWERT. Original flavour compounds and the essential oil composition of marjoram (*Majorana hortensis* Moench). **Flavour Fragrance Journal**. v.2, p.55-61, 1987.

FORBES, J.M.; SHARIATMANDARI, F. Diet selection for protein by poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.50, n.1, p.7-23, 1994.

FORCE, M.; SPARKS, W. S.; RONZIO, R. A. Inhibition of enteric parasites by emulsified oil of oregano in vivo. **Phytotherapy Research**. v. 14, n. 3, p. 213-14, 2000.

FURLAN, A.C.; ANDREOTTI, M.A, MURAKAMI, A .E. Valores energéticos de alguns alimentos determinados com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). In: Conferência Apinco de Ciência E Tecnologia Avícolas, 1996, Curitiba. **Anais...** p.43.

FUJIKURA, W.S. Situação e perspectivas da coturnicultura no Brasil. In: Simpósio Internacional de Coturnicultura, 1., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.1-10.

GARCIA, E.A.; PIZZOLLANTE, C. C. Nutrição de codornas para postura. In: II Simpósio Internacional e I congresso brasileiro de coturnicultura, 2004, Lavras. **Anais...** p.65 – 74.

GERTENBACH, W.; BILKEI, G. Der Einfluss von pflanzlichen Futterzusatzstoffen in Kombination mit Linolensäure auf die immuninduzierte Wachstumsverzögerung nach dem Absetzen. **Biologische Tiermedizin**. v.3, p. 88-92, 2001.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A.B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**. v. 57, n. 2, p. 99-106, 2003.

GOULART, C.C. **Exigência nutricional de lisina para poedeiras leves e semipesadas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 51p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. D. Van Nostrand, New York. v.1 , p.81, 1948.

GÜNTER, K.D.; BOSSOW, H. The effect of etheric oil from *Origanum vulgare* (Ropadiar®) in the feed ration of weaned pigs on their daily feed intake, daily gains and food utilization. In: **Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham**. p.223, 1998.

HAO, Y. Y.; BRACKETT, R. E.; DOYLE, M. P. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. **Food Microbiology**. v. 15, p. 367-378, 1998.

HU, F.B.; WILLETT, W.C. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. **Journal of American Medical Association**. v.288, n.20, p. 2569-2578, 2002.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=75. Acessado em 20/11/2006.

IETSWAART, J.H. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). PhD thesis. **Leiden Botanical Series 4**. Leiden University Press, The Hague. 1980.

INGRAM, C. **The cure en the cupboard, (How to use Oregano for better health)**. Publisher: Knowledge House, Illinois. 1997.

INRA - Instituto Nacional de la Recherche Agronomique. **Alimentação dos animais monogástricos: suínos, coelhos e aves**. 2^a ed. São Paulo: Roca, 1999. 245p.

ISMAIL, S. A. S.; DEAK, T.; ABD EL-RAHMAN, H. A.; YASSIEN, M. A. M.; BEUCHAT, L. R. Effectiveness of immersion treatments with acids, trisodium phosphate, and herb decoctions in

reducing populations of *Yarrowia lipolytica* and naturally occurring aerobic microorganisms on raw chicken. **International Journal of Food Microbiology**. v. 64, p. 13-19, 2001.

ISMAN, M.B.; WAN, A.J.; PASSREITER, C.M. Insecticidal activity of essential Oil to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, v. 72, p.65-68, 2001.

JAENISCH, F. R. F. **Procedimentos de biosseguridade na criação de frangos no sistema agroecológico**. CT/258/ Embrapa Suínos e Aves, p. 1-5, 2000.

JAMBOR, J., & CZOSNOWSKA, E. Herbal medicines from fresh plants **Postępy Fitoterapii**. v. 8, p. 2-5, 2002.

KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**. v. 72, p. 5-9, 2001.

KHAJARERN, J.; KHAJARERN, S. The efficacy of Origanum essential oils in sow feed. **International Pig Topics**. v.17, n.17, 2002.

KOKKINI, S. **Taxonomy, Evolution, Distribution and Origin**. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. p.1-12, 1991.

KOKKINI, S., D. VOKOU AND R. KAROUSOU. **Essential oil yield of Lamiaceae plants in Greece**. In: Biosciences (S.C. Hatacharyya, N. Sen and K.L. Sethi, eds.). Proceedings of the 11th International Congress Essential Oils, Fragrances and Flavours. Oxford and IBH, New Dehli. v. 3, p. 5-12, 1989.

KONSTANTOPOULOU, I.; VASSILOPOULOU, L.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P.; SCOURAS, Z. G. Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. **Experientia**. v. 48, p. 616-619, 1992.

KOSAR, M.; DORMAN, H.J.D.; HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected *Lamiaceae* species. **Food Chemistry**. v.91, p.525-533, 2005.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; KATALINIC, V.; MILOS, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**. v. 85, p. 633-640, 2004.

LAM, L. K. T.; ZHENG, B. Effects of essential oils of glutathione *S*-transferase activity in mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.39, p. 660-662, 1991.

LAMIRI, A.; LHALOUI, S.; BENJILALI, B.; BERRADA, M. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). **Field Crops Research**. v. 71, p. 9-15, 2001.

LAWRENCE, B.M. The botanical and chemical aspects of oregano. **Perfumer and Flavorist**. v.9, p.41-51, 1984.

LEANDRO, N.S.M.; STRINGHINI, J.H.; CAFÉ, M.B. et al.. Efeito da granulometria do milho e do farelo de soja sobre o Desempenho de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1266-1271, 2001.

MEJLHOLM, O.; DALGAARD, P. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. **Letters in Applied Microbiology**. v. 34, p. 27-31, 2002.

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; DEL VALLE, C.E.; ROURA, S.I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **Lebensmittel.-Wissenschaft &Technology,(LWT)** v. 38, p. 565 – 570, 2005.

MUIRHEAD, M.R.; ALEXANDER, T.J.L. **Managing pig health and treatment of disease**. 5M Enterprises Limited, London. p.126-127, 1997.

MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: Funep-Unesp, 1998. 79p

MURAKAMI, A.E; FURLAN, A.C. Pesquisas na Nutrição e Alimentação de Codornas em Postura no Brasil. In: I Simpósio Internacional e I Congresso Brasileiro de Coturnicultura, **Anais...** UFLA/MG, 2002.

NRC - National Research Council. **Nutrient Requirement of Poultry**. Ninth Revised Edition, 1994. 155p. Washington, D.C. 1994.

ÖZKAN, G.; SAGDIÇ, O.; ÖZCAN, M. Note: Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. **Food Science Technology International**. v. 9, n. 2, p. 0085-4, 2003.

PINTO, R, FERREIRA, A.S., ALBINO, L.F.T, GOMES, PC. Níveis de proteína e energia para codornas japonesas em postura. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. 35. Botucatu. **Anais...** 2002. Botucatu, P147-149.

REIS, L.F.S.D. **Codornizes, criação e exploração**. Lisboa, Agros, 10, 1980. 222p.

RUBERTO, G.; BIONDI, D.; MEL, R.; PIATTELLI, M. Volatile flavour components of Sicilian *Origanum onites* L. **Flavour Fragrance Journal**. v.8, p.197-200, 1993.

SAGDIC, O.; KUGEU, A.; OZEAN, M.; OZEELIK, S. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *E. coli* O157:H7. **Food Microbiology**. v.19, n.5, p. 473-480, 2002.

SAKAMOTO, M.I; MURAKAMI, A.E.; SOUZA, L.M.G.; FRANCO, J.R.G.; BRUNO, L.D.G.; FURLAN, A.C. Valor energético de alguns alimentos alternativos para codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.818-821, 2006.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMEINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils

from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SKANDAMIS, P., KOUTSOUMANIS, K., FASSEAS, K., NYCHAS, G.-J.E. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. **Italian Journal of Food Science** v.13, n.1, p65– 75, 2001.

SILVA, S.H.M. **Exigências em metionina + cistina para duas marcas comerciais de frangos de corte**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.

SINGH, N.; SINGH, R.; BHUNIA, A.K.; STROSHINE, R.L. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing *E.coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. **Lebensmittel.-Wissenschaft & Technology**. v. 35, p. 720-729, 2002.

SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.44, p. 1202 – 1205, 1996.

SZETO, Y.T; TOMLINSON, B.; BENZIE, I.F. Total Antioxidant and Ascorbic Acid Content of Fresh Fruits and Vegetables: Implications for Dietary planning and Food Preservation. **British Journal of Nutrition**. v.87, p.55-59, 2002.

THOMPSON, D. P. Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. **Mycologia**, v.81, n.1, p.151-153, 1989.

TSINAS, A.C.; GIANNAKOPOULOS, C.G.; PAPASTERIADES, A.; ALEXOPOULOS, C; MAVROMATIS, J.; KYRIASKI, S.C. Use of origanum essential oils as growth promoters in pigs. **Proceedings of the 15th IPVS Congress**. v.3, p.221, 1998a.

TSINAS, A.C, KYRIAKIS, S.C, BOURTZI-CHATZOPOULOU, E., ARSENAKIS, M., SARRIS, K.,PAPASTERIADES, ^a, LEKKAS, S. Control of porcine proliferative enteropathy by in-feed application of origanum essential oils. **Proceedings of the 15th IPVS Congress**. v.3, p.106, 1998b.

TSINAS, A.C. The art of oregano. **Grain Feed & Milling Technology**. p. 25-26, 1999.

VÁGI, E.; RAPAVI, E.; HADOLIN, M.; VÁSÁRHELINÉ PERÉDI, K.; BALÁSZ, A.; BLÁZOVICS, A.; SIMÁNDI, B. Phenolic and tripterpenoid antioxidant from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 17-21, 2005.

VAN DE BRAAK, S.A.A.J.; LEIJTEN, G.C.J.J.Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116, 1999.

VATTEM, D.A.; RANDHIR, R.; SHETTY, K. Cranberry phenolics-mediated antioxidant enzyme response in oxidatively stressed porcine muscle. **Process Biochemistry**. v 40, p.2225-2238, 2005.

VOKOU, D.; KOKKINI, S.; BESSIERE, J.M. *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece. Distribution, volatile oil yield, and composition. **Economic Botany**. v.42, n.3, p.407-412, 1998.

VOKOU, D.; KOKKINI, S.; BESSIERE, J.M. Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.21, p.287-295, 1993.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; OKTAY, M.; KARA, A.; ALGUR, O.F.; BILALOGLU, V.; **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 48, p. 5030 – 50, 2000.

YUN, C.H; LILLEHOJ, H.S.; LILLEHOJ, E.P. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental and Comparative Immunology**, v.24, p.303-324, 2000.

CAPÍTULO 1

**AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*)
NO CONSUMO DE RAÇÃO, PESO, POSTURA, CARGA PARASITÁRIA,
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CODORNAS JAPONESAS
(*Coturnix coturnix japonica*).**

RESUMO

O óleo essencial de orégano pode ser uma alternativa natural para o uso na produção animal, devido às suas comprovadas propriedades antibacterianas e antiparasitárias. Nesse contexto, foi avaliado o efeito da adição deste extrato natural no consumo de ração, no ganho de peso e postura de codornas japonesas. O efeito antiparasitário do óleo essencial de orégano e as suas conseqüências nos padrões hematológicos e bioquímicos destas aves também foram avaliados. Cem codornas japonesas foram divididas em 2 grupos (controle e experimental) de 50 animais. As aves foram alocadas em gaiolas e distribuídas em dois grupos (controle e experimental) de 50 animais, contendo cinco lotes com 10 codornas cada. Cada gaiola continha um lote de 10 animais do grupo controle e outro do grupo experimental. O grupo controle recebeu ração padrão para codornas, adicionada de óleo vegetal de canola na proporção de 20g/kg de ração. O grupo experimental recebeu para cada quilograma de ração, 20g da mistura de óleo de canola adicionada de óleo essencial de orégano a uma concentração de 1%, visando fornecer 200mg de óleo essencial de orégano por quilograma de alimento. Verificou-se que a adição do óleo não alterou os índices de desempenho (ganho de peso, postura, consumo de ração) e não revelou atividade antiparasitária nas aves pertencentes ao grupo experimental. Adicionalmente, não encontrou-se nenhum efeito nos parâmetros bioquímicos e hematológicos da codornas japonesas tratadas com o óleo de orégano, em 90 dias de administração crônica.

Palavras-chave: *Coturnix coturnix japonica*, *Origanum vulgare*, crescimento, postura, parasitas.

ABSTRACT

The oregano essential oil can be a natural alternative for the use in the animal production, due to its antibacterial and antiparasites properties. In this context, the effect of addition of the natural extract in the ration intake, the body weight and posture of Japanese quails was evaluated. The antiparasite effect and the hematological and biochemistry standards had been also determined. One hundred quails had been divided in 2 groups (experimental and control) of 50 animals. Every group had been divided in five lots with 10 quails each. Each cage possessed one lot of animals of the control group and another one of the experimental group. The control group had received ration standard for quails, added, of canola vegetal oil in the ratio of 20g/kg of ration. The experimental group had received for each kilogram of ration, 20g of the oil mixture of canola added of oregano essential oil (in the concentration of 1%), aiming at to supply 200 mg of oregano essential oil for kilogram of food. It was verified that the addition of the oil did not modify the performance indexes (body weight, posture, ration intake) and did not display antiparasite activity in the birds of the experimental group. Additionally, no effect in the biochemistry and hematological parameters had been found in the quails treated with the oregano oil, in 90 days of chronic administration.

Key-words: *Coturnix coturnix japonica*, *Origanum vulgare*, growth, posture, parasites.

INTRODUÇÃO

A codorna japonesa é uma espécie cuja presença vem aumentando na pecuária brasileira, tendo em vista a sua precocidade e, por proporcionar uma diversidade de produtos avícolas (Belo *et al.*, 2000).

Esta ave apresenta curto intervalo entre gerações (16 dias de incubação) e desenvolvimento físico muito rápido. Nasce com peso médio de 7 a 10g, o que corresponde a 70% do peso do ovo; aos sete dias as codornas japonesas triplicam os seus pesos corporais, e aos 28 dias apresentam peso dez vezes maior que o inicial (Albino, 2003).

O controle de peso e a seleção das futuras poedeiras são importantes para manutenção de um plantel com altos índices produtivos devendo, portanto, ser realizado com muito critério. Aves que pesam mais de 90g aos 35 dias terão maiores chances de alcançar índices mais elevados de postura. Aves com peso inferior a 80g retardam o início da postura e produzem ovos menores, pois tiveram o crescimento prejudicado, ficando a desejar como poedeiras eficientes (Murakami, 1998).

Um programa que forneça cerca de 18 horas de luz é importante para se obter bom crescimento, por tornar as codornas mais ativas. Assim, no galpão de postura, quanto mais abundante for a luz solar indireta, melhor será o desempenho das aves, pois é através do estímulo luminoso que o hormônio folículo estimulante e o hormônio luteinizante irão atuar sobre o ovário, desenvolvendo e liberando os óvulos (Faichak, 1987).

A codorna é uma ave rústica que se adapta a regiões de climas frios e quentes, quando as temperaturas mínimas e máximas não ultrapassarem 5 e 30°C, respectivamente. No entanto, na faixa ideal de conforto térmico (entre 21 e 25°C, segundo Souza-Soares e Siewerdt, 2005 e, entre 18 e 22°C de acordo com Albino, 2003), responde positivamente em produtividade, apresentando aumento e persistência na produção de ovos.

Quando adultas, as fêmeas diferenciam-se dos machos pelas suas características físicas, apresentando peso 10% superior, abdome mais amplo, peito mais largo e empenamento mais escuro com as extremidades das penas pretas. A maturidade sexual é alcançada aos 42 dias nas fêmeas e aos 48 dias nos machos. (Albino, 2003).

A produção de ovos é bastante elevada, podendo atingir 300 ovos por fêmea na sua vida útil de aproximadamente um ano (Albino, 2003). Os ovos atingem peso médio de 10g, sendo

considerados grandes em relação ao seu peso corporal, quando comparados com os de outras espécies: galinhas 3% e peruas 1% do peso vivo (Albino, 2003). As codornas, diferentemente de galinhas poedeiras, apresentam ritmo diferenciado de postura. Geralmente, realizam a postura no final da tarde, a partir das 15 horas, encerrando a postura por volta das 23 horas. O pico de postura ocorre aproximadamente entre 16 e 20 horas (Albino, 2003).

Em termos nutricionais, o ovo de codorna é um alimento de excelente qualidade, com alta digestibilidade, elevada quantidade de proteína (14%), e baixo teor de colesterol (0,3%). É um alimento protéico de ótima qualidade, visto que, sua proteína contém todos os aminoácidos essenciais, aqueles que o organismo humano não consegue sintetizar. Além disso, o ovo é rico em complexo de vitaminas e de minerais: encontra-se no ovo elevados teores de ferro, manganês, cobre, fósforo, cálcio, vitaminas A, B1 e B2, D, E, H, fator PP, ácido pantotênico e piridoxina. Como ilustração, um ovo de codorna equivale em calorias, vitaminas e proteínas a 100 gramas de leite, com um conteúdo maior de ferro (Souza-Soares e Siewerdt, 2005)

Do ponto de vista econômico a alimentação é a principal responsável pela melhor resposta das aves, sobretudo porque representa o maior custo da atividade (70%) (Murakami, 1998), portanto, é indispensável administrar rações devidamente balanceadas, capazes de satisfazer às necessidades da ave e permitir seu perfeito desenvolvimento (Murakami, 1998).

É importante destacar que estas aves estão passando por processos constantes de melhoramento genético, seja para a produção de ovos ou de carne. Por isso, os valores tabelados não devem ser tomados como estáticos e devem ser alvo de constante verificação e atualização por nutricionistas (Souza-Soares e Siewerdt, 2005).

As exigências nutricionais variam de acordo com a idade das aves. Nas três primeiras semanas de vida, a exigência de proteína (e, conseqüentemente, de alguns aminoácidos essenciais) é maior devido ao rápido crescimento das codornas. Vencida esta fase, a velocidade de crescimento diminui e a exigência nutricional também. Durante a fase de postura ou reprodução, a exigência nutricional visa suprir as necessidades de manutenção e de reprodução. A principal mudança é a elevação do conteúdo de cálcio na ração. De modo geral, a formulação de rações comerciais exhibe os seguintes componentes básicos:

- concentrado energético: farelo de trigo e milho
- concentrado protéico: farelo de soja e farinha de carne;
- suplemento mineral;

- suplemento vitamínico.

A ração deve ter granulometria fina, portanto, a moagem serve para impedir que as aves façam uma seleção visual dos grânulos maiores e mais atraentes. O consumo médio de ração por ave na fase adulta está entre 25 a 35g para as codornas japonesas (Albino, 2003), mas, o consumo de alimentos pelas aves é em grande parte regulado pelos seus requerimentos energéticos (Murakami, 1998). Desta forma, o aumento da concentração de energia em uma ração sempre causa redução da ingestão: assim a quantidade de energia metabolizável ingerida varia pouco (Cotta, 2003). Por outro lado, muitos trabalhos têm demonstrado que a regulação do consumo de alimento, com base na necessidade energética, é um mecanismo sobreposto por outros, como o determinado por aminoácidos, triglicerídeos, vitaminas e minerais (Murakami *et al.*, 1998).

Segundo Freitas e colaboradores (2005), no Brasil, a formulação das rações para codornas baseia-se nos requerimentos nutricionais propostos pelo National Research Council -NRC (1994), que recomenda para codornas de postura na fase de produção, rações com 20% de proteína bruta (PB) e 2.900 kcal de energia metabolizável (EM)/kg. Para esses autores, estas exigências não são as mais apropriadas para as condições climáticas brasileiras, havendo, portanto, a necessidade de pesquisas nas áreas de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo visando determinar as exigências nutricionais dessas aves em nossas condições, sustentando, desta forma, o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva avícola.

Por outro lado, concomitante a esse desenvolvimento, iniciou-se também o uso em larga escala de antibióticos como promotores de crescimento na produção de aves, melhorando o desempenho animal e diminuindo a mortalidade causada por infecções. Mas, após anos de uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de aves, alguns questionamentos foram levantados. Entre eles, se esses produtos continham os mesmos princípios ativos de antibióticos utilizados na terapêutica humana ou se apresentavam moléculas cuja estrutura induzia resistência cruzada a antibióticos administrados em humanos (Van den Bogaard *et al.*, 2001). Resíduos desses antibióticos poderiam permanecer na carne e, assim, serem transmitidos ao consumidor final, propiciando o aparecimento de resistência de bactérias intestinais aos promotores de crescimento (Van den Bogaard *et al.*, 2001).

O uso de antibióticos como promotores de crescimento está sendo gradualmente banido por países da União Européia e poderia estar eliminado até 2006 (Tice, 2002). Como maior

produtor mundial de aves, o Brasil precisa estar preparado para atender às exigências de exportações, desenvolvendo novas tecnologias e pesquisas que possibilitem alternativas para a substituição dos antibióticos. Para substituir os antibióticos tem crescido nos últimos 30 anos o conceito de exclusão competitiva (EC), baseado no princípio de que a microflora intestinal autógena dos animais, quando íntegra, protegem-nos da ação de patógenos (Schneitz, 2005). O princípio e sua técnica se fundamentam no uso de promotores biológicos do crescimento da microflora intestinal, sem o uso de elementos químicos que deixem resíduos, sem causar mutagenicidade e contaminação do ambiente (Schneitz, 2005). Este promotores do crescimento são chamados por vários cientistas de probióticos.

Entre as opções, os aditivos fitogênicos, extratos herbais e vegetais ,dentre eles o orégano *Origanum vulgare*, também fazem parte de uma classe de produtos que poderá substituir os agentes antimicrobianos convencionais. Os possíveis mecanismos de ação dos extratos vegetais no organismo animal são a estimulação da digestão, alterações na microbiota intestinal, aumento na digestibilidade, aumento da absorção de nutrientes e efeitos antimicrobiano e imunomoduladores (Oetting *et al.*, 2006)

Estas características positivas do orégano para humanos e na produção animal têm sido objeto de alguns importantes estudos. Fukayama e colaboradores (2005) realizaram um trabalho visando comparar os efeitos de níveis crescentes do extrato de orégano (0,025, 0,050, 0,075 e 0,100%) com antibiótico sintético (25 ppm de bacitracina de zinco) como alternativa aos aditivos em rações para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. Os autores não verificaram efeito significativo dos tratamentos sobre o consumo de ração, o ganho de peso, conversão alimentar e parâmetros de imunidade (peso do baço e do timo e as medidas da bolsa de Fabricius) no período avaliado. Esses resultados indicam que as condições experimentais não permitiram observar os efeitos do uso do extrato de orégano, uma vez que o tratamento com antibiótico se comparou aos demais, inclusive aquele sem o extrato de orégano (controle), o que confirma os argumentos de Menten (2001), de que há necessidade de um desafio sanitário de campo suficiente para que os promotores passem a produzir efeitos sobre o desempenho de aves e suínos. Esses resultados sugerem que, em condições ideais de manejo, pode não haver necessidade de utilização de antibióticos na ração. Em contrapartida, Fukayama e colaboradores (2005) verificaram que houve uma redução no número de bactérias do ceco das aves nos tratamentos utilizando-se extrato de orégano na ração. Os autores argumentam que o fenômeno pode ter ocorrido em razão de 85% do

extrato de orégano ser composto por carvacrol e timol, fenóis naturais que agem sobre a membrana celular bacteriana, impedindo sua divisão mitótica, causando desidratação nas células e impedindo a sobrevivência destas bactérias.

Similarmente Botsoglou e colaboradores (2002) obtiveram que a suplementação com 50 e 100 mg de óleo essencial de orégano por quilograma de ração não alterou a performance de frangos de corte e, portanto, não exerceu nenhum efeito promotor de crescimento nestes animais.

Em uma pesquisa realizada com ovelhas, Bampidis e colaboradores (2005) concluíram que não houve diferença nas características de crescimento e carcaça entre os animais não suplementados e aqueles que receberam adição de 144 mg ou 288 mg de óleo essencial de orégano / kg de ração. Supõe-se que a dose administrada tenha inibido o crescimento da flora gastrointestinal, importante para o aproveitamento da celulose e hemicelulose em ácidos graxos voláteis e aminoácidos.

Por outro lado Tsinas e colaboradores (1999) realizaram uma pesquisa com 450 porcos de um dia de idade até o abate (três grupos de 150), sendo que, o grupo 1 não recebeu nenhum tipo de agente antimicrobiano ou promotor de crescimento, e os grupo 2 e 3 receberam suplementação de 250g e 500g, respectivamente, de um *premix* comercial de óleo essencial de orégano / tonelada de ração. Estes autores verificaram que os grupos suplementados obtiveram maior peso vivo (em kg) e melhor taxa de conversão alimentar. Estes resultados foram dose-dependente e, portanto, o *premix* utilizado poderia ser considerado um promotor de crescimento.

Este resultado positivo pode ser justificado pela presença do carvacrol e o timol no óleo essencial de orégano, que afetaram a membrana da mucosa intestinal e acelerou a taxa de renovação dos enterócitos na superfície das vilosidades do intestino (Khajarer,2002). Isto poderia reduzir o ataque de patógenos aos enterócitos e melhorar a capacidade de absorção de nutrientes. Desta forma, o orégano teria estimulado a digestão orgânica e microbiana (De Koning *et al.*, 1999), melhorado a regulação do metabolismo gastrointestinal (Günter, 1998) e exercido propriedades antibacterianas por impedir processos disbióticos no trato digestivo destes animais (Sivropoulou *et al.* 1996, Tsinas *et al.*, 1998 a e b, Didry *et al.*, 1994).

Em outro trabalho, Bampidis e colaboradores (2005) verificaram o efeito da adição de folhas secas de orégano contendo 3,6 ml de óleo por 100 g (855g de carvacrol / kg de óleo essencial) na ração para peruas precoces alimentadas, do primeiro ao 84º dia de idade, com 4 dietas variando o conteúdo de orégano (OR, sem orégano-controle; OR45, 1,25 g orégano/kg;

OR90, 2,5 g orégano/kg; OR135, 3,75 g orégano/kg). Estes autores obtiveram que a partir do 43º até o 84º dia e no período total do experimento, o consumo de ração decresceu linearmente no tratamento OR135 e a conversão alimentar aumentou linearmente com a concentração de orégano, concluindo, então, que as folhas secas de orégano poderiam ser usadas como promotor de crescimento natural para peruas utilizando-se a mais baixa concentração desta erva (1,25g), resultando, desta forma, em um custo efetivo mais baixo.

Além de agir como um antibiótico, outra característica desejável para um potencial promotor de crescimento é o combate à parasitas. Infestações parasitárias e de microorganismos são um problema em qualquer lugar onde aves domésticas são criadas, principalmente devido a apresentação de refugo nos lotes em produção. Os parasitos, além de espoliarem o organismo, estimulam respostas imunológicas que drenam parte das reservas energéticas que seriam direcionadas para o crescimento e para a reprodução, provocando grandes perdas econômicas (Yun, 2000).

O método de criação das aves tem um efeito importante, visto que confinamentos tendem a favorecer parasitas com ciclos de vida mais curtos e de transmissão direta tais como *Eimeria* spp., *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, e *Capillaria* spp (Ruff,1999).

Parasitas de dois principais grupos são responsáveis por perdas econômicas em aves domésticas. Existem a Coccidida (gênero *Eimeria*) e organismos relacionados (*Leucocytozoon*, *Haemoproteus*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis* e *Cryptosporidium*), e, os flagelados, incluindo *Histomonas*, *Trichomonas*, *Trypanosoma*, *Trichomonas*, *Chilomastix* e *Hexamita* (mas estes são pouco responsáveis por sérias doenças e perdas econômicas em aves) (Ruff, 1999).

A coccidiose de aves é uma doença parasitária entérica causada por múltiplas espécies de parasitas protozoários do gênero *Eimeria* (Morris *et al.*, 2006) e, é sem dúvida a mais importante doença de poedeiras, tanto em termos de distribuição, frequência e perdas econômicas (McDougald, 1998). Algumas espécies tendem a ser mais patogênicas em termos de doses de inoculação requeridas para produzir efeitos mensuráveis, mas todas as espécies de *Eimeria* aviária produzem perda de peso, insuficientes taxas de conversão alimentar, perda de pigmento das penas e decréscimo na produção de ovos (Ruff, 1999).

Biologicamente, as aves são extremamente sensíveis à coccidiose até a sétima semana de idade. Nas aves adultas, apesar da coccidiose não se manifestar, os animais devem ser tratados, pois disseminam a doença através das excretas, contaminando o ambiente (Albino, 2003).

Uma razão para que todas as unidades de produção de poedeiras tenham a coccidia presente é a extrema habilidade destes parasitas intracelulares. Cada oocisto ingerido pelo hospedeiro poderá produzir centenas de milhares de oocistos infectantes nas fezes dentro de sete a doze dias. A imunidade é extremamente espécie-específica, e as aves expostas a uma espécie se mantém susceptível a infecções com espécies heterólogas de *Eimeria* (Morris *et al.*, 2006). Ademais, os oocistos são muito resistentes a mudanças climáticas e podem se manter infecciosos por longos períodos (McDougald, 1998).

Surtos de coccidiose são causados por várias condições incluindo: falha do anticoccidial, ou resistência à droga do coccídio, inadequado espectro de atividade da droga; má administração ou aplicação acidental da droga; doença concorrente que poderia destruir o sistema imune da ave ou interferir com o consumo do coccdiostático pela redução do consumo de ração e água, entre outros (McDougald, 1998).

Historicamente, desde 1950, drogas anticoccidiais têm sido usadas para o controle da coccidiose em aves domésticas. As drogas preferidas têm sido os antibióticos ionóforos, que matam a coccidia por interferir com o equilíbrio de importantes íons como sódio e potássio. As células do hospedeiro são capazes de controlar estes íons na presença de ionóforos, mas os parasitas não o conseguem (McDougald, 1998).

Entretanto, o controle baseado principalmente no uso de drogas, junto com a indução de imunidade natural espécie-específica em granjas, é oneroso e pode levar a sérios problemas de resistência a drogas (Williams, 1998). Devido a este problema de resistência, vacinas também têm sido utilizadas para proteger as aves contra as doenças vinculadas a parasitas, particularmente em estabelecimentos de criação intensiva. As vacinas contendo oocistos vivos têm sido muito utilizadas e parece ser uma medida no controle na produção avícola com grande potencial (Jeurissen *et al.*, 1996), visto que elas buscam aproveitar a resposta imunológica das aves ao se dirigir especificamente ao sistema imune para proteger contra a infecção. Completamente diferente de infecções de campo com altos níveis de ingestão parasitária, o uso de vacinas é mais desejável porque as aves estão programadas de antemão a produzir proteção antes de serem expostas aos desafios de campo (Jeurissen *et al.*, 1996).

Por outro lado, como as vacinas não estão disponíveis para muitas das infecções em aves domésticas, práticas de manejo são também importantes medidas de controle. Em geral, esta prática quebra o ciclo de vida por prevenir a ave de entrar em contato com a fonte de

contaminação. Boa sanidade, tais como a remoção regular de aves mortas e restrições de movimento de equipamentos e pessoas também ajuda reduzir infecções parasitárias (Ruff, 1999). Entretanto, as práticas sanitárias na maioria das granjas são inadequadas para eliminar completamente os oocistos e desta forma, o risco de infecção de aves é virtualmente permanente (Yun *et al.*, 2000).

Em adição ao uso de preventivos quimioterápicos e vacinação, outros tipos de substâncias têm sido investigadas para o controle alternativo de parasitas, entre elas produtos extraídos de ervas, que têm sido testados como aditivos antiparasitários alimentares (Allen *et al.*, 2002). A Artemisina, por exemplo, é um produto isolado de uma erva chinesa (*Artemisa annua*), que contém naturalmente endoperóxidos com propriedade antimalárica. Allen e colaboradores (1997) descobriram que esta planta foi efetiva na redução de saída de oocistos provenientes de infecções de *Eimeria acervulina* e *Eimeria tenella* quando as aves eram alimentadas inicialmente com níveis de 8,5 e 17ppm. Estes autores relacionaram este resultado ao modo de ação desta erva, no qual envolve estresse oxidativo do parasito.

Mais recentemente, a atividade anticoccidial de extratos de 15 ervas da Ásia foi testada contra *Eimeira tenella* em frangos de corte. Das espécies pesquisadas, o extrato de *Sophora flavescens* foi a mais efetiva na redução de escores de lesões, manutenção do ganho de peso e redução na produção de oocistos (Youn *et al.*, 2001).

Similarmente Christaki e colaboradores (2004) avaliaram o efeito da suplementação (0,5 ou 1,0g/kg) de uma preparação comercial de extrato herbais (a base de *Agrimonia eupatoria*, *Echinacea angustifolia*, *Ribes nigrum* e *Cinchona succirubra*) no desempenho de frangos de corte experimentalmente infectados com oocistos de *Eimeria tenella* aos 14 dias de idade. Os autores verificaram que o grupo suplementado com a preparação comercial obteve maior ganho de peso, melhor taxa de conversão alimentar, menor incidência de diarreia sanguinolenta, menor mortalidade e inferior número de oocistos por ave quando comparada às aves do grupo controle. Os autores concluíram que o extrato comercial exerceu efeito anticoccidiostático, entretanto, todos os parâmetros avaliados foram significativamente menores do que aqueles exibidos pelo fármaco sintético.

Em concordância, Giannenas e colaboradores (2003) examinaram o efeito da suplementação de 300mg/kg de ração de óleo essencial de orégano no desempenho de frangos de corte infectados com *Eimeria tenella* (5×10^4 oocistos esporulados). Duas semanas após a

infecção com o parasita, a suplementação com orégano resultou em ganhos de peso e conversão alimentar que não se diferiram das aves do grupo não infectado, mas que foram maiores do que àquelas pertencentes ao grupo controle infectado. Esses parâmetros correspondem com a extensão da diarreia sanguinolenta, taxa de sobrevivência, contagem de lesões e número de oocistos e, indicaram que o óleo essencial de orégano exibiu atividade coccidiostática contra *Eimeria tenella*, quando incorporado à dietas de frangos de corte em níveis de 300 mg/kg de ração.

Em humanos, Force e colaboradores (2000) administraram o óleo essencial de orégano a 14 pacientes cujas fezes apresentavam parasitas entéricos (*Blastocystis hominis*, *Entamoeba hartmanni* e *Endolimax nana*). Após seis semanas de suplementação com 600mg de óleo emulsificado diariamente, houve o completo desaparecimento de *Entamoeba hartmanni* (quatro casos), *Endolimax nana* (um caso) e *Blastocystis hominis* (oito casos). Além disso, os sintomas gastrointestinais melhoraram em sete dos onze pacientes que tiveram teste positivo para *Blastocystis hominis*.

Adicionalmente a ação antiparasitária, extratos naturais de plantas têm sido reportados ter também atividades como imunoestimulantes, mas, com a vantagem de serem obtidas de fontes naturais, biodegradáveis, biocompatíveis e não tóxicas (Citarasu *et al.*, 2006).

Nesse sentido, Rehman e colaboradores (1999) avaliaram o potencial imunomodulatório de duas ervas (*Echinacea angustifolia* e *Hydrastis canadensis*) por um período de 6 semanas usando ratos injetados com um novo antígeno (antígeno *limpet hemocianina*). Estes autores obtiveram que o grupo de ratos tratados (via água de beber) com a primeira planta aumentou a resposta primária e secundária da imunoglobulina G ao antígeno, enquanto que, os animais que receberam a segunda erva, mostraram um aumento da resposta da imunoglobulina M durante as duas primeiras semanas de tratamento.

Similarmente, Dorhoi e colaboradores (2006) mediram os efeitos moduladores de 4 ervas nas respostas celulares de aves e verificaram que o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) e o espinheiro marítimo (*Hippophae rhamnoides*) em concentrações de 50 µg/ml aumentaram claramente a função da membrana de macrófagos. Efeitos duplos nos fagócitos circulantes foram revelados para a tanchagem (*Plantago major*) e espinheiro marítimo, enquanto o alho (*Allium sativum*) em concentração de 200 µg/ml reduziu a capacidade fagocitária das células sanguíneas. Os autores

acreditaram que os extratos definitivamente elevaram a imunidade celular de aves e poderia, portanto, melhorar a resistência de aves hospedeiras (Dorhoi *et al.*, 2006).

Em um trabalho de revisão, Tan e colaboradores (2004) listaram algumas ervas tradicionais chinesas com efeitos imunomoduladores. Constituintes que estimulam atividades fagocitárias incluem ginsan (polissacarídeo do ginseng) e extratos da raiz de *Astragalus* e, compostos provenientes de ervas como alocriol (polissacarídeo da *Aloe vera*), angelan (polissacarídeo da *Angelica gigas*), glicopiranosil contendo polissacarídeos (a partir da *Ganoderma lucidum*) e ginsenosídeos (do ginseng) que induzem a atividade de interleucinas-6 (IL-6), um potente estimulante das células B (Tan *et al.*, 2004).

Shan e colaboradores (1999) também estudaram o efeito de ervas chinesas na atividade estimulante de linfócitos humanos *in vitro*. O extrato de *Cinnamomum cassia* estimulou marcadamente a proliferação dos linfócitos humanos, enquanto *Codonopsis pilosula*, *Oldenlandia diffusa* e *Rhizoma typhonii* o fizeram apenas levemente. Estes extratos aumentaram a atividade citotóxica dos linfócitos T e estimularam a produção de imunoglobulina por células B e interleucinas-1 (IL-1) por monócitos. Os autores concluíram que estas atividades do *C. cassia* estão associadas com as suas glicoproteínas.

Em crustáceos, Citarasu e colaboradores (2006) obtiveram que camarões alimentados com uma mistura de extratos metanólicos de cinco ervas (*Cyanodon dactylon*, *Aegle marmelos*, *Tinospora cordifolia*, *Picrorhiza kurooa* e *Eclipta alba*) resultaram em menor mortalidade, melhores performances nos parâmetros hematológicos (tempo de coagulação da linfa e contagem total de hemócitos), bioquímicos (concentração de proteínas, glicose e carboidratos) e antioxidante (atividade da enzima pro-fenol-oxidase e produção de ânion superóxido O_2^-) quando desafiados por um vírus de importância econômica (síndrome do vírus da mancha branca).

Verifica-se, portanto, que extratos vegetais possuem potencial uso como promotor de crescimento na cadeia produtiva de animais. Como opção, destaca-se o orégano (*Origanum vulgare*), uma erva, mundialmente usada como um condimento (Fukayama *et al.*, 2005) e com reconhecidas propriedades antibacterianas (Alma *et al.*, 2003), cujo óleo essencial pode surgir como uma alternativa na substituição total ou parcial de drogas sintéticas adicionadas às rações de aves. Entretanto, os resultados ainda são conflitantes e possivelmente dependem das propriedades, forma, dose e regime de administração do orégano, além das características das

espécies animais estudadas, sendo necessários maiores estudos para confirmação das propriedades do óleo essencial de orégano.

A avaliação da adição de óleo essencial de orégano na alimentação de codornas japonesas é uma alternativa interessante para coturnicultura, ao adicionar valor a um produto sem aditivos químicos e que poderia melhorar o desempenho de produção de ovos.

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da adição de óleo essencial de orégano no consumo de ração, no ganho de peso e postura das codornas japonesas.

Verificar o possível efeito antiparasitário do óleo essencial de orégano adicionado à ração de codornas japonesas.

Avaliar as consequências do óleo essencial de orégano nos padrões hematológicos e bioquímicos destas aves.

HIPÓTESES

1. As aves do grupo com ração adicionada de óleo essencial de orégano, em comparação ao grupo controle, apresentarão melhor desempenho no crescimento e ganho de peso;
2. As aves do grupo com ração adicionada de óleo essencial de orégano, em comparação ao grupo controle, apresentarão maior produção de ovos, tanto em quantidade como no tamanho dos ovos;
3. Os animais do grupo experimental terão menor incidência de parasitos nas fezes;
4. Os animais do grupo experimental terão padrões bioquímicos e hematológicos mais hígidos do que as aves do grupo controle;

MATERIAIS E MÉTODOS

As codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) foram adquiridas da Granja Santa Rosa, localizada no município de Brazlândia - DF. Os animais, todos de um mesmo lote de incubação, foram vacinados contra as doenças de New Castle e Marek com um e sete dias de idade, conforme manejo do produtor, e criadas em piso até os 20 dias de idade. No estudo, utilizou-se 100 codornas fêmeas, com 20 dias de vida.

As codornas foram distribuídas em dois grupos (controle e experimental) de 50 animais, os quais foram subdivididos em cinco lotes com 10 codornas cada. As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado 0,50 m x 0,50 m, com bandeja coletora de excretas e aparato para os ovos. Cada gaiola (Figura 1) possuía duas repartições iguais de 0,25m, com capacidade total para 20 aves (dois lotes de 10 animais / gaiola). A distribuição dos lotes de aves foi aleatória, mas de forma que cada gaiola possuísse um lote de animais do grupo controle e outro do grupo experimental, em uma densidade caracteristicamente utilizada por produtores no Distrito Federal. O comedouro e o bebedouro utilizados foram do tipo calha, em chapa metálica galvanizada, localizados na parte frontal e posterior da gaiola, respectivamente. As gaiolas permaneceram no Biotério do Laboratório Integrado do Instituto de Biologia / Departamento de Ciências Fisiológicas da UnB, a 90 cm do solo. O biotério é um recinto fechado, com programas de luz (segundo o recomendado por Albino, 2003) e ventilação por exaustor, criando condições microclimáticas padrões. Diariamente foram mensurados os valores máximos e mínimos de temperatura e umidade do ambiente (temperatura média máxima de $27,4 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ e mínima de $26,4 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$; umidade relativa do ar máxima de $60,7 \pm 9,6\%$ e mínima de $47,4 \pm 11,8\%$), com o uso de um termohigrômetro (Extech, China). A duração do experimento foi de 95 dias (26 de agosto a 01 de dezembro de 2005).

A partir do segundo dia de experimento, em cada fase de criação (crescimento e postura), os lotes do grupo controle (1, 2, 3, 4 e 5) receberam ração padrão para codornas (Fri-ribe, Anápolis), adicionada, de forma homogênea (por aspersão) de 20g de óleo vegetal de canola por quilograma de ração. Similarmente, para os lotes do grupo experimental (6, 7, 8, 9 e 10) foi aspergido, para cada quilograma de ração, 20g da mistura óleo de canola e óleo essencial de orégano a uma concentração de 1%, visando fornecer 200mg do extrato por cada quilograma de alimento. Esta concentração de óleo essencial de orégano segue a literatura sobre as

concentrações médias para que se observe os efeitos em aves (Giannenas *et al.*, 2003; Bampidis *et al.*, 2005). O óleo essencial de orégano possuía acima de 59% de carvacrol (dado fornecido pelo fabricante) e foi adquirido de uma empresa especializada (Aromalândia, Belo Horizonte – MG), a qual importa o produto da Turquia. A composição do óleo vegetal (canola) e óleo de essencial de orégano estão descritas nas tabelas (Tabelas 4 e 5).

Todos os grupos receberam água mineral à vontade. A ração e a água foram fornecidas e/ou renovadas às 08h30min e às 17hs. As excretas eram removidas uma vez ao dia, pela manhã. A composição das rações fornecidas (crescimento e postura) estão descritas nas tabelas 6 e 7. A quantidade de ração consumida foi calculada, diariamente, a partir da diferença entre o peso do total oferecido às aves e o peso do total retirado e caído ao chão e/ou na bandeja de excretas.

Para verificar a curva de crescimento e manutenção da condição física, no primeiro dia e, a cada 15 dias, todas as codornas de cada grupo eram pesadas com auxílio de uma balança semi-analítica (Sargent-Welch, EUA) e avaliadas clinicamente (aparência das penas, presença de ferimentos e disposição/atitude das aves dentro das gaiolas) por um médico veterinário (Edison Rogério Cansi).

Quanto à postura, em todos os lotes de cada grupo, foi observada a quantidade de ovos, o peso e a dimensão dos ovos (diâmetro longitudinal e diâmetro lateral) com o uso de uma balança analítica (Marte, Brasil) com precisão de 0,001g e um paquímetro (Mitoyo, Brasil), respectivamente.

A averiguação da ação antiparasitária do óleo essencial de orégano foi realizada antes (primeiro dia) e durante o tratamento, através de análise parasitológica das fezes (parasitos e ovos), a cada trinta dias, por meio de um *pool* fecal de cada grupo, utilizando-se o método quantitativo de contagem de ovos de *Eimeria* (Rósza *et al.*, 2000). A coccidiose de aves é uma doença parasitária entérica causada por múltiplas espécies de parasitas protozoários do gênero *Eimeria* (Morris *et al.*, 2006) e, é sem dúvida a mais importante doença de poedeiras, tanto em termos de distribuição, frequência e perdas econômicas. O exame parasitológico foi realizado no Laboratório de Parasitologia da União Pioneira de Integração Social – UPIS, sob a responsabilidade de uma médica veterinária experiente (Profa. Luisa Pereira Rocha), seguindo o método de Gordon e Whitlock (*sensu* Santos, 1999).

Por fim, um exame bioquímico e hematológico completo foram realizados no primeiro dia e a cada 30 dias, de três aves escolhidas ao acaso por grupo. Os animais foram separados,

contidos em uma mesa e decapitados, para retirada de sangue, o qual foi coletado em dois tubetes contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético): o primeiro tubo foi destinado para análise de hemograma; e o segundo centrifugado a 1500 rpm por dez minutos (centrífuga Excelsa Baby, Fanem LTDA) e armazenado somente o plasma em freezer (-5°C), para posterior análise bioquímica (glicemia e ácidos graxos livres). O exame hematológico visou determinar as concentrações celulares, o hematócrito e a concentração de hemoglobina, através de um contador veterinário automático de células e por métodos de coloração (Rebar *et al.*, 2004). As amostras foram processadas e analisadas no Centro Veterinário Asa Sul, sob a responsabilidade de uma médica veterinária experiente (Dra. Rejane Bernardes de Souza).

Para dosagem de glicose utilizou-se do kit GLUCOX 500 (Doles, Goiânia), um método enzimático colorimétrico, onde se utiliza uma enzima específica para glicose: Glicose Oxidase. Ao adicionar-se glicose em uma solução tampão de fosfatos em pH 7,4, contendo Glicose Oxidase, Peroxidase, 4-Aminoantipirina (4-AAP) e p-Hidroxibenzoato, as seguintes reações são processadas:



O produto formado pela oxidação de 4-Aminoantipirina (4- Antipirilquinimina) é de coloração avermelhada. A intensidade da cor vermelha é diretamente proporcional à concentração de glicose na solução, e é medida em espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1201, Japão) com absorção máxima em 510nm.

A análise quantitativa de ácidos graxos livres foi executada utilizando-se do kit NEFA C Methode ACS-ACOD (WAKO, Alemanha), um método enzimático colorimétrico no qual se baseia na reação dos ácidos graxos não esterificados com acil-CoA sintetase (ACS) na presença de adenosina trifosfato (ATP), cátions magnésio e CoA, formando o éster tiol de CoA, conhecido como acil-CoA assim como seus subprodutos adenosina monofosfato (AMP) e pirofosfato (PPi). Na segunda porção do procedimento, o acil-CoA foi oxidado pelo acil-CoA oxidase adicionado (ACOD) para produzir peróxido de hidrogênio, o qual na presença de peroxidase adicionada (POD) permite a condensação oxidativa de 3- metil-N-etil-N-(β-hydroxyetil)-aniline (MEHA)

com 4-aminoantipirina para formar um composto de coloração roxa com absorção máxima a 550nm.

TABELA 4: Laudo Técnico do óleo essencial de orégano fornecido pela empresa Aromalândia (Data: 17/06/2004).

<i>Origanum vulgare</i>	Referência 2026
Origem	Turquia
Lote	B-5380
Método de extração	Destilação a vapor
Parte utilizada	folhas
Qualidade	100% (puro e natural)
Cultivo	selvagem
Ensaio por GC	59,7% Carvacrol
Gravidade específica	0,9370
Índice de refração	1,5070
Rotação óptica	-0,2000
Aparência	Líquido amarelo pálido

TABELA 5: Composição do óleo de canola (Marca: Sinhá)

Quantidade por porção (15ml)	
Valor calórico	120kcal
Carboidratos	0g
Proteínas	0g
Gorduras Totais	14g
Saturadas	1,0g
Monoinsaturadas	9,0g
Poliinsaturadas	4,0g
Ômega 3	1,0g
Colesterol	0g
Sódio	0mg
Vitamina B	3mg

TABELA 6: Composição da ração de crescimento Fri-ribe

Umidade (max) %	12,00
Proteína bruta (min) %	19,00
Extrato etéreo (min) %	2,00
Fibra bruta (max) %	9,00
Matéria mineral (max) %	11,00
Cálcio (max) %	1,30
Fósforo (min) %	0,50

TABELA 7: Composição da ração de postura Fri-ribe

Umidade (max) %	12,00
Proteína bruta (min) %	22,00
Extrato etéreo (min) %	2,50
Fibra bruta (máx) %	9,00
Matéria mineral (max) %	10,00
Cálcio (max) %	4,00
Fósforo (min) %	0,60



FIGURA 1 – Gaiola de arame galvanizado utilizada no experimento.

Análise estatística

As médias finais do peso dos animais, consumo diário per capita de ração, postura, carga parasitológica fecal e dimensões dos ovos por quinzena foram submetidos ao teste de Student t de comparação entre médias, bicaudal, com nível de significância $p \leq 0,05$.

As médias quinzenais da postura, pesos e diâmetros finais dos ovos e, os índices dos parâmetros hematológicos e bioquímicos foram avaliados usando o teste não paramétrico de Mann Withney, bicaudal, com nível de significância $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Os pesos dos animais foram mensurados quinzenalmente. A Figura (2) mostra o gráfico de crescimento das aves. Verifica-se que os animais da primeira para segunda quinzena duplicaram os pesos em ambos os grupos. A partir da terceira quinzena, os animais continuaram ganhando peso, entretanto em uma taxa menor. Aplicando-se o teste t, verificou-se que não houve diferença significativa entre os grupos controle e orégano durante as sete quinzenas ($P > 0,05$) analisadas. A média final dos pesos obtida para os animais do grupo controle foi de $167,9 \pm 7,9g$ e $162,9 \pm 7,7g$ do grupo experimental. Novamente, estes valores não se diferiram estatisticamente (Teste t, $t=0,439$, $gl=67$, $p=0,66$, bicaudal) (Figura 3).

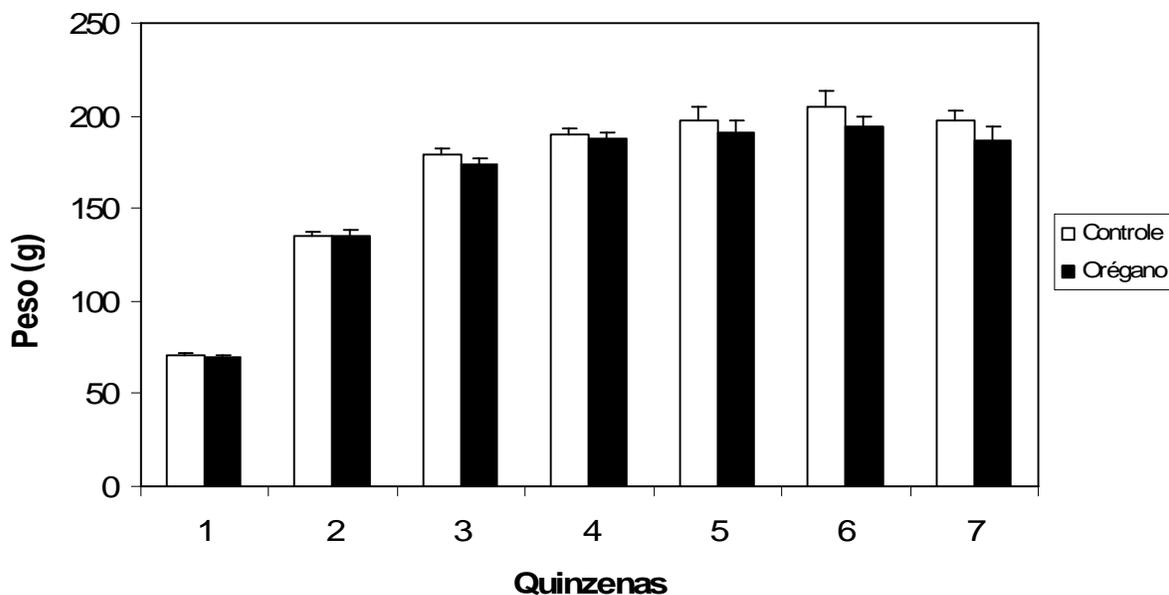


FIGURA 2: Pesos médios em gramas e erro padrão da média, por quinzena, das codornas do grupo controle (barras brancas) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras). Não houve diferença significativa entre os grupos (Teste t, $p > 0,05$).

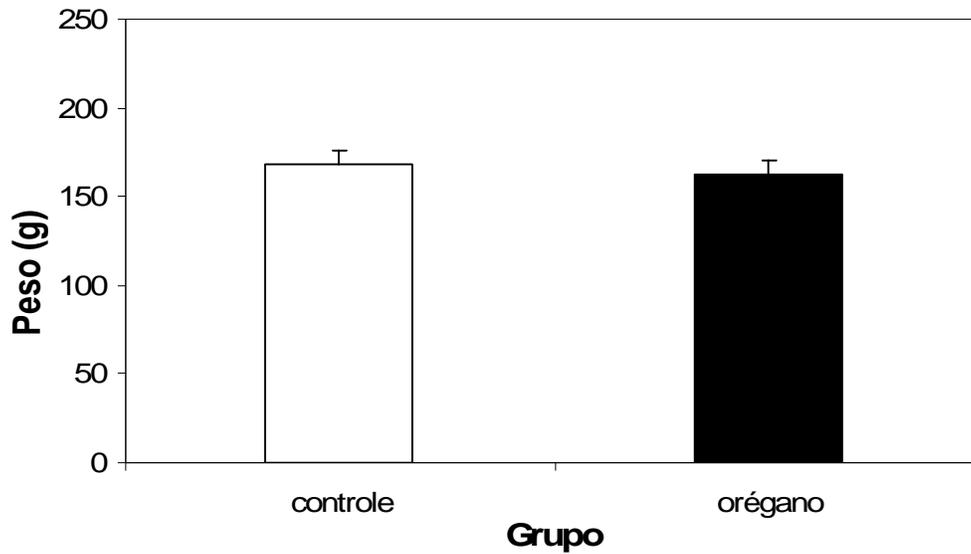


FIGURA 3: Peso médio (em gramas) e erro padrão da média das codornas do grupo controle (barra clara) e das codornas do grupo orégano (barra escura). Não houve diferença estatística (Teste t, $t=0,439$, $gl=67$, $p=0,66$, bicaudal). Os valores das médias estão no texto.

O consumo per capita diário dos animais não suplementados com o óleo essencial de orégano obteve uma média de $22,1 \pm 0,3$ g (média \pm desvio padrão da média), enquanto as aves do grupo experimental consumiram $21,7 \pm 0,3$ gramas. Aplicando o teste t, verificou-se que ambos os grupos não se difeririam, consumindo a mesma quantidade de ração ($t= 0,94$, $gl=138$, $p=0,34$, bicaudal) (Figura 4)

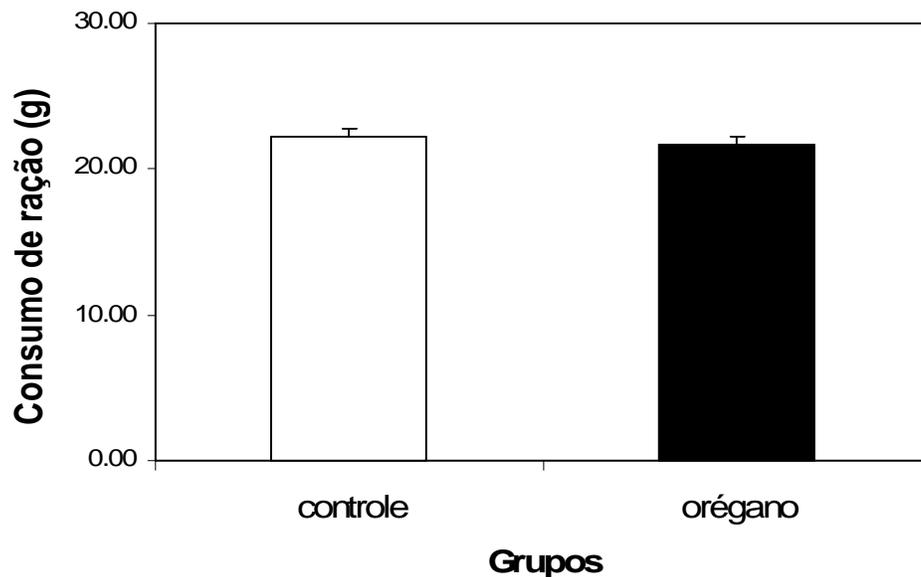


FIGURA 4: Consumo diário médio per capita de ração e erro padrão da média (g) do grupo controle (barra clara) e do grupo orégano (barra escura), durante todo o experimento. Não ocorreram diferenças significativas (Teste t, $t= 0,94$, $gl= 138$, $p= 0,34$, bicaudal). As médias estão no texto.

Com relação à postura, a quantidade de ovos colocados por ave foi analisada quinzenalmente. Verificou-se que o número de ovos triplicou a partir da segunda quinzena e manteve-se elevado até a última. Realizando-se a comparação intergrupos, verificou-se que não houve uma produção de ovos estatisticamente diferente para as aves do grupo controle e para o grupo suplementado com o óleo essencial de orégano (Teste t, $p > 0,05$, bicaudal) (Figura 5). A produção média final para cada grupo, a cada quinze dias, foi de $10,9 \pm 0,7$ ovos/ave para o grupo controle e $11,4 \pm 0,8$ ovos/ave para o grupo orégano. Esta produção não diferiu estatisticamente (Teste de Mann Whitney, $Z=-0,029$, $p=0,97$, bicaudal) (Figura 6).

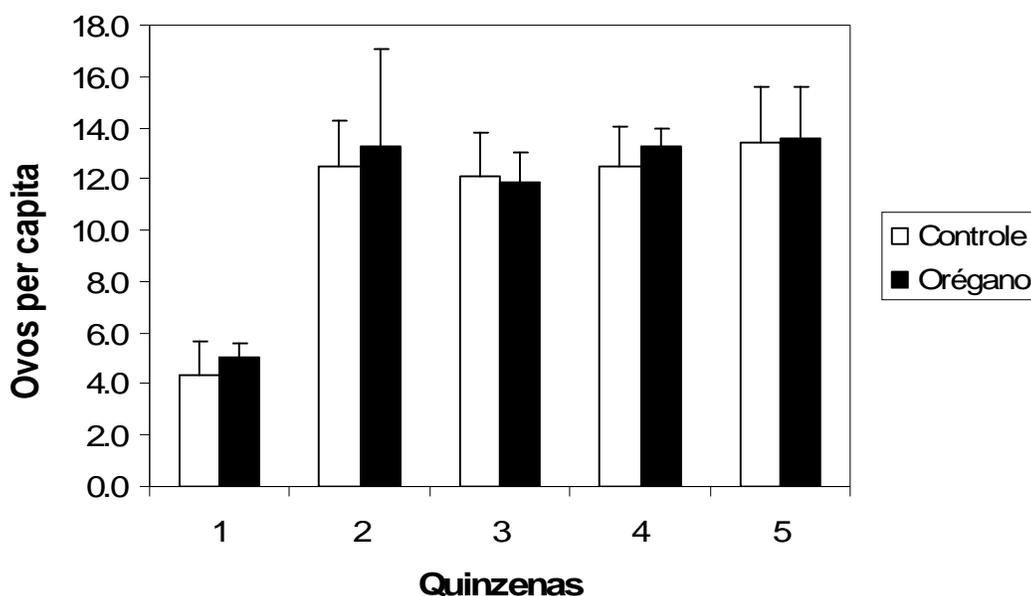


FIGURA 5: Ovos por ave e erro padrão da média, por quinzena, das codornas do grupo controle (barras brancas) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras). Não houve diferença estatística entre os grupos analisados (Teste t, $p > 0,05$, bicaudal)

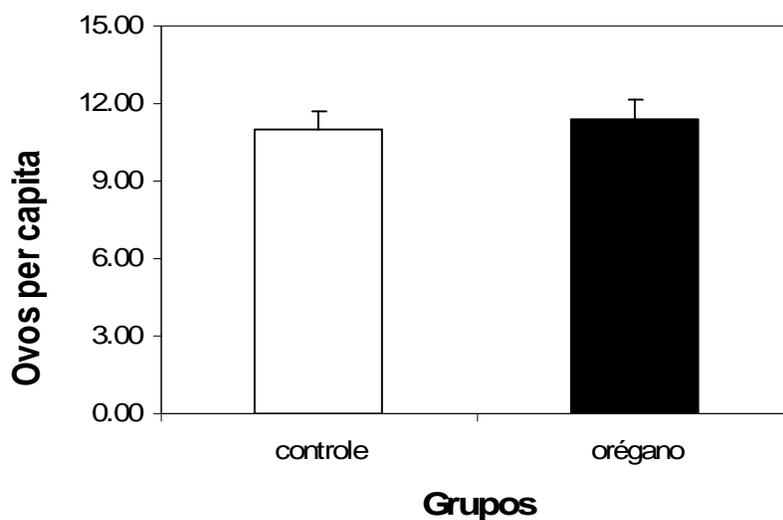


FIGURA 6: Ovos por ave e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura). Não houve diferença estatística entre os grupos analisados (Teste Mann Whitney, $Z = -0,029$, $p = 0,97$, bicaudal).

A dimensão de todos os ovos foi obtida pela mensuração do seu peso (em gramas), diâmetros longitudinal e transversal (em milímetros). Novamente, obteve-se que não houve uma distinção significativa entre estes parâmetros avaliados dos ovos provenientes das aves do grupo controle e do grupo orégano, quando analisados a cada 15 dias (Teste t, $p > 0,05$) (Tabelas 8 e 9).

TABELA 8: Comparação entre os pesos médios em gramas e erro padrão da média, por quinzena, dos ovos das codornas do grupo controle e do grupo orégano.

Quinzena	Grupo controle	Grupo orégano	Comparação entre as médias (bicaudal)
1	10,3 ± 0,2	10,2 ± 0,1	t=0,33; p=0,75
2	11,0 ± 0,4	10,7 ± 0,2	t=1,45; p=0,18
3	11,3 ± 0,3	11,2 ± 0,2	t=0,53; p=0,61
4	12,2 ± 0,7	11,5 ± 0,1	t=1,80; p=0,11
5	11,6 ± 0,3	11,5 ± 0,1	t=0,41; p=0,70

TABELA 9: Comparação entre os diâmetros longitudinais médios em milímetros e erro padrão da média, por quinzena, dos ovos das codornas do grupo controle e grupo orégano.

Diâmetro	Quinzena	Grupo controle	Grupo orégano	Comparação entre as médias (bicaudal)
Longitudinal	1	30,8 ± 0,3	31,0 ± 0,4	t=-0,47; p=0,65
	2	31,6 ± 0,2	31,2 ± 0,2	t=1,39; p=0,20
	3	32,0 ± 0,2	31,8 ± 0,1	t=0,89; p=0,39
	4	33,1 ± 0,5	32,3 ± 0,2	t=1,42; p=0,19
	5	32,4 ± 0,2	32,3 ± 0,2	t=0,12; p=0,90
Transversal	1	24,7 ± 0,2	24,6 ± 0,1	t=0,45; p=0,66
	2	25,2 ± 0,1	25,0 ± 0,1	t=1,40; p=0,19
	3	25,4 ± 0,1	25,3 ± 0,1	t=0,45; p=0,66
	4	25,7 ± 0,1	25,5 ± 0,1	t=1,69; p=0,13
	5	25,6 ± 0,1	25,5 ± 0,1	t=0,36; p=0,73

Uma análise global da dimensão dos ovos revelou que os ovos dos grupos controle e orégano, possuíam pesos (11,2 ± 0,2g do controle *versus* 11,0 ± 0,1g do grupo orégano),

diâmetros longitudinais ($32,0 \pm 0,3\text{mm}$ do controle *versus* $31,7 \pm 0,2\text{mm}$ do grupo orégano) e transversais ($25,3 \pm 0,1\text{mm}$ do controle *versus* $25,2 \pm 0,1\text{mm}$ do grupo orégano) semelhantes. (Figuras 7, 8 e 9) (Teste Mann Whitney, valores de Z e p estão na legenda dos gráficos)

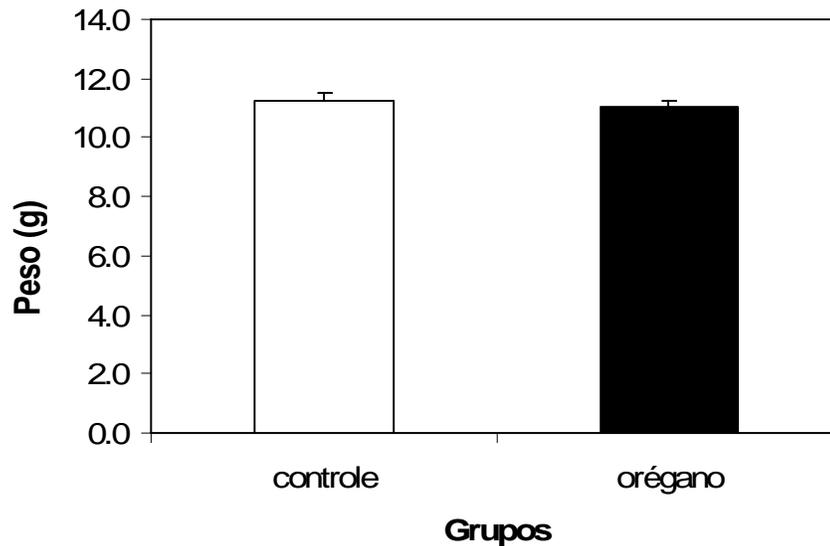


FIGURA 7: Peso médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barras escuras). Não houve diferença estatística entre os grupos analisados (Teste Mann Whitney, $Z = -0,912$, $p = 0,36$, bicaudal)

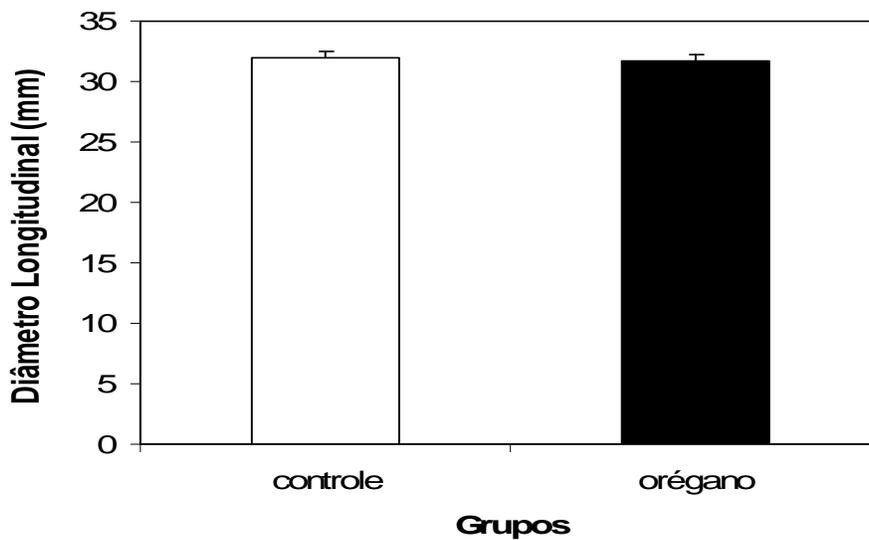


FIGURA 8: Diâmetro longitudinal médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura). Não houve diferença estatística entre os grupos analisados (Teste Mann Whitney, $Z = -0,893$, $p = 0,37$, bicaudal)

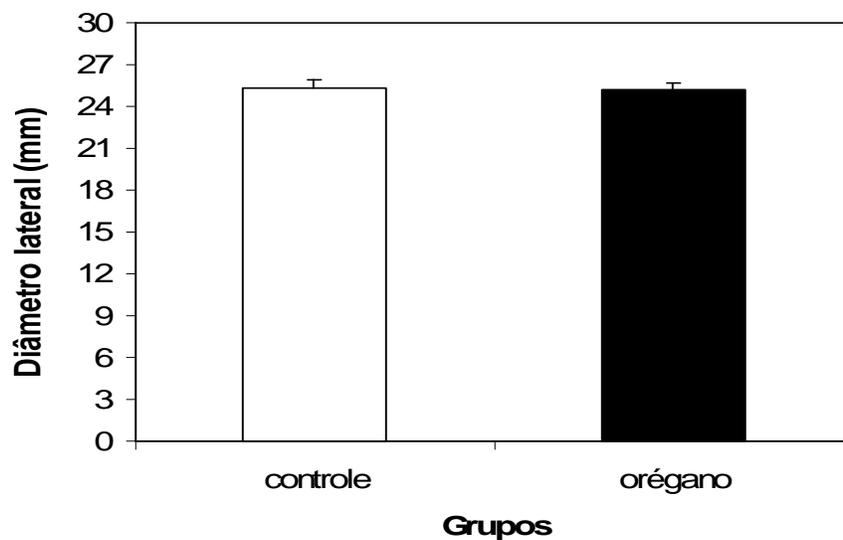


FIGURA 9: Diâmetro lateral/transversal médio dos ovos e erro padrão da média, durante todo o experimento, das codornas do grupo controle (barra branca) em relação às codornas do grupo orégano (barra escura). Não houve diferença estatística entre os grupos analisados (Teste Mann Whitney, $Z = -1,067$, $p = 0,28$, bicaudal)

Com relação a carga parasitológica das fezes, a quantidade de oocistos/ou ovos por grama (OPG) de *Eimeria* sp. nas excretas dos animais pertencentes ao grupo controle foi de $3045 \pm 938,7$ OPG versus $6920 \pm 3848,1$ OPG do grupo orégano. Apesar do grupo controle ser numericamente inferior ao grupo orégano, estes valores não se diferiram estatisticamente (teste t, $t = -0,978$, $gl=38$, $p=0,33$;) (Figura 10).

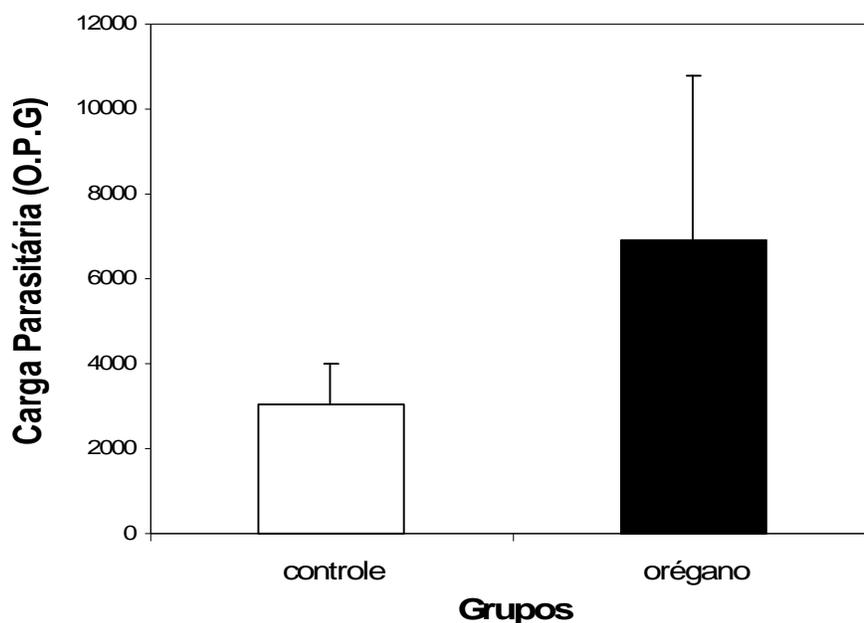


FIGURA 10: Carga parasitária média (ovos de *Eimeria* sp.) durante o experimento com codornas, do grupo controle (1) em relação ao grupo orégano (2). Não há diferenças significativas (Teste de Student, $t = -0,978$, $gl=38$, $p = 0,33$, bicaudal).

Tratando-se, por fim, dos valores bioquímicos e hematológicos obtidos dos animais sacrificados mensalmente de ambos os grupos, obteve-se que estes parâmetros também não diferiram entre os tratamentos durante os três meses de experimento (Tabela 10).

TABELA 10: Comparação das médias (\bar{x}) \pm erro padrão da média (EPM) das concentrações celulares e bioquímicas sanguíneas das codornas do grupo controle e do grupo orégano, pelo teste de Mann-Whitney, ao longo do experimento. O número de animais é representado pelo N.

Concentração celular ou bioquímica	Grupo controle $\bar{X} \pm \text{EPM}$ (N=6)	Grupo orégano $\bar{X} \pm \text{EPM}$ (N=7)	Comparação entre as médias (bicaudal)
Hematócrito	32,1 \pm 1,5%	29,4 \pm 1,8%	Z= -0,935; p= 0,35
Leucócitos	4,4 \pm 0,6%	5,3 \pm 0,1%	Z= -1,578; p= 0,35
Bastonetes	2,8 \pm 0,4%	8,2 \pm 4,9%	Z= -0,851; p= 0,39
Eosinófilos	1,5 \pm 0,4%	2,1 \pm 0,5%	Z= -1,057; p= 0,29
Linfócitos	31,0 \pm 7,8%	29,0 \pm 7,1%	Z=-0,358; p= 0,72
Monócitos	3,0 \pm 2,1%	2,1 \pm 0,8%	Z= -0,301; p=0,76
Heterófilos	62,3 \pm 9,6%	64,6 \pm 7,2%	Z= -0,286; p= 0,77
Razão Monócitos:Linfócitos	0,6 \pm 0,3	0,8 \pm 0,3	Z= -0,498; p=0,62
Glicose (mg/dl)	163,8 \pm 7,3	150,9 \pm 16,5	Z= -0,463; p=0,64
AGL (mEq/l)	1,3 \pm 0,2	1,24 \pm 0,2	Z= -0,347; p= 0,72

AGL= ácidos graxos livres

DISCUSSÃO

O crescimento das aves obtido para o grupo controle e grupo orégano, apesar de não terem sido diferentes estatisticamente, se situou dentro do esperado ($167,9 \pm 7,9\text{g}$ e $162,9 \pm 7,7\text{g}$, respectivamente), visto que na literatura cita-se que estes animais pesam em torno de 120 a 180g, após alcançar a idade de 30 dias (Albino, 2003). Portanto o consumo de ração adicionado de óleo de canola ou de óleo essencial de orégano não alterou o desenvolvimento das codornas.

Com relação ao consumo per capita de ração, verificou-se também que não ocorreram diferenças significantes na quantidade ingerida pelo grupo controle e o grupo que recebeu a suplementação do óleo essencial de orégano. A média de consumo conseguida para os dois tratamentos se localizou um pouco abaixo daquele citado por Murakami e colaboradores (1998), que é na faixa de 25 a 30g. Este reduzido valor pode ser justificado pelas temperaturas relativamente altas registradas durante o período experimental (média de 26°C), situadas acima da faixa de conforto térmico destas aves (18 e 25°C segundo Souza-Soares e Siewerdt (2005) e 18 e 22°C , de acordo com Murakami *et al.*, 1998). A alteração do consumo de alimento, em função da temperatura ambiental, é um dos mecanismos que possibilitam ao animal regular sua temperatura corporal dentro de um limite térmico compatível com sua atividade metabólica. Assim, o animal diminui o consumo de alimento quando a temperatura ambiental é alta, e aumenta quando é baixa. Esse comportamento alimentar está associado aos mecanismos de produção e perda de calor (Macari *et al.*, 1994). Mesmo assim, ambos os tratamentos, o controle e o orégano, não alteraram o peso final e a produção de ovos, indicando alguma economia para o produtor.

Similarmente aos outros parâmetros avaliados, a postura das codornas não foi modificada com a adição do extrato natural de orégano, permanecendo dentro de um padrão aceitável de produção (1 ovo por ave/dia – ver Albino, 2003). O número de ovos por ave, peso e diâmetros longitudinais alcançados entre os tratamentos controle e experimental não se diferiram estatisticamente ao longo do experimento. O peso médio dos ovos do grupo controle e do grupo experimental estavam em concordância com o valor referido por Albino (2003) – aproximadamente 10g.

A ação antiparasitária citada por Giannenas e colaboradores (2003), os quais verificaram que o óleo essencial de orégano exibiu atividade coccidiostática contra *Eimeria tenella* quando

incorporado a dietas de frangos de corte em níveis de 300 mg/kg de ração, não foi confirmada no presente estudo. A carga parasitológica dos animais pertencentes ao grupo não suplementado foi estatisticamente semelhante ao valor obtido para o grupo orégano. A falta de efeito antiparasitário pode ter muitas causas, como a susceptibilidade da cepa do parasito, a carga infectante ambiental, concentração de agentes coccidiostáticos no óleo e a dose utilizada. Não foi objetivo principal de o presente estudo avaliar o efeito antiparasitário, de forma que o desenho experimental deixava muitas variáveis sem controle. O objetivo secundário foi apenas verificar se havia alterações na produtividade associadas à carga parasitária, em função do efeito do óleo essencial de orégano. As variáveis acima não foram controladas e não se pode descartar o efeito do orégano como um coccidiostático, em consideração aos trabalhos já publicados (Giannenas *et al.*, 2003; Force *et al.* 2000).

Somente doses mais altas, que ultrapassem o efeito zootécnico, são suficientes para um efeito coccidiostático (Lee *et al.*, 2003). A dose que utilizamos, foi 1/3 inferior à dose que Giannenas e colaboradores (2003) utilizaram. A preocupação foi utilizar a dose menos tóxica possível, pois o ganho zootécnico (peso e produção) é economicamente e clinicamente viável, quando esta for segura e distante da dose tóxica. A dose utilizada foi a mínima possível e que pudesse garantir aumento na produtividade. Verifica-se, desta forma, que o óleo essencial de orégano não conseguiu melhorar os índices de desempenho avaliados quando adicionado em uma concentração de 200mg/kg de ração para codornas japonesas. Resultados semelhantes foram obtidos por Fukayama e colaboradores (2005), os quais não verificaram efeito significativo de níveis crescentes do extrato de orégano (0,025, 0,050, 0,075 e 0,100%) sobre o consumo de ração, o ganho de peso, conversão alimentar e parâmetros de imunidade de frangos de corte com 1 a 42 dias de idade.

Similarmente Botsoglou e colaboradores (2002) não encontraram efeito positivo no desempenho de frangos de corte suplementados com 50 e 100mg de óleo essencial de orégano / kg de ração. Esses dados podem indicar que as condições experimentais talvez não tenham permitido observar as conseqüências do uso do extrato de orégano, um antimicrobiano natural, uma vez que, segundo Menten (2001), há a necessidade de um desafio sanitário de campo suficiente para que os promotores passem a produzir efeitos sobre o desempenho de aves. Estes autores explicaram que a falta de efeito pode ser devido ao alto desempenho já conseguido pelas aves e, portanto, não haveria mais “espaço” para os promotores de crescimento. Em

concordância, Allen *et al.* (1997) reportaram que dois componentes de óleos essenciais, cânfora e 1,8-cineole, acrescentados ao nível de 119 ppm na dieta, não mostraram efeitos visíveis no ganho de peso quando as aves foram criadas sem o desafio coccidiano, mas promoveu significantes ganhos de peso quando os animais foram infectados com o coccidia. Outro estudo demonstrou que a adição de óleo essencial de *Cuminum cyminum* manteve a integridade leucocitária de pombos (*Columba livia*) que foram tratados com oxitetraciclina (Al-Ankari, 2005). Este efeito foi caracterizado como imunoestimulante, pois a oxitetraciclina causa uma diminuição da contagem leucocitária, resultando em um aumento da taxa heterofilo:linfócito devido a redução linfocitária em aves.

Estes resultados prévios e os obtidos na presente pesquisa podem indicar que os efeitos do óleo essencial de orégano no desempenho produtivo das aves somente se tornam aparentes quando os animais estão sujeitos a condições subótimas tais como dietas de baixa digestibilidade e/ou ambiente menos limpo (Lee *et al.*, 2003).

Além disso, sabe-se que em aves, o controle da microflora intestinal pode influenciar positivamente o seu desempenho. Com base na atividade *in vitro* do óleo essencial de orégano (Sartoratto *et al.*, 2004), é plausível considerar a aplicação deste produto como agente profilático e terapêutico na produção animal. Entretanto, o óleo essencial de orégano pode não ter exercido atividade antimicrobiana sobre a microflora intestinal das aves tratadas e com isso não promoveu efeito promotor de crescimento. As diferenças encontradas com os estudos anteriormente citados podem ser atribuídas à heterogeneidade dos óleos essenciais, muitas vezes composto por misturas complexas de substâncias orgânicas. A qualidade e quantidade dos componentes dos óleos essenciais podem variar com o estágio de crescimento, variedade, condições ambientais, fatores ecológicos e outros fatores da planta (Amzallag *et al.*, 2005). O método de extração também pode alterar a composição do óleo essencial e, portanto os efeitos biológicos deste óleo podem diferir grandemente (Amzallag *et al.*, 2005).

Neste estudo, o óleo essencial de orégano foi adquirido de uma empresa do ramo da aromaterapia situada em Belo Horizonte, a qual forneceu um laudo técnico da sua composição. Entretanto, não foi realizada análise para certificar a porção qualitativa e quantitativa de seus principais compostos (carvacrol e timol), porque tais análises não são exequíveis a um custo razoável no Brasil. Por não termos obtido a esperada atividade antimicrobiana e antiparasitária no estudo executado, isto nos leva a questionar se a concentração de carvacrol (principal composto

ativo) fornecida pelo fabricante (superior a 59 %) é realmente fidedigna. Por outro lado, os resultados obtidos no teste de estresse agudo de contenção (ver no capítulo seguinte) evidenciam que, se as concentrações não são totalmente corretas conforme o laudo fornecido, para causar um efeito anti-parasitário e promotor do crescimento, em parte elas foram suficientes para causar efeitos substanciais entre o grupo tratado com óleo essencial de orégano e o grupo controle.

Adicionalmente, Brugalli (2003) recomenda, na formulação de rações, a utilização de uma combinação de diferentes extratos herbais reforçados com seus princípios ativos, para atingir resultados técnicos satisfatórios. Desta forma, resultados positivos poderiam ser obtidos se utilizássemos o óleo essencial de orégano em conjunto com concentrações conhecidas de carvacrol e timol.

O perfil hematológico e bioquímico entre o grupo tratado com orégano e o grupo controle, não foi diferente e ambos mantiveram-se dentro de limites clínicos aceitáveis. Curiosamente há uma escassez de valores de referência na literatura especializada sobre alguns dos padrões hematológicos de codornas japonesas. Talvez a explicação esteja na grande variabilidade destes padrões encontrados nos poucos trabalhos disponíveis, desestimulando que se estabeleçam tais valores. Por exemplo, há a menção no Brasil de valores do hematócrito médio de 41,52% (Butkeraitis *et al.*, 2006), no Irã de 42% (Nazifi e Asasi, 2001) enquanto que o grupo controle apresentou 32,16 % e o grupo tratado com orégano 29,42%. Há menção do nível de linfócitos de 62,5% no Brasil (Butkeraitis *et al.*, 2006), de 44,64% no Irã (Nazifi e Asaisi, 2001), enquanto o grupo controle apresentou 31% e o grupo tratado com orégano 29%. No Brasil, os níveis de monócitos e heterófilos foram mencionados em 4% e 34%, respectivamente (Butkeraitis *et al.*, 2006). No Irã, os índices de monócitos e heterófilos foram de 2,25% e 53%, respectivamente (Nazifi e Asaisi, 2001). Estes números contrastam com as concentrações de monócitos (3%) e heterófilos (62,3%) do grupo controle. Da mesma maneira com o grupo tratado com orégano com concentrações de monócitos de 2,14% e de heterófilos de 64,57%. Estes números são o resultado de diferenças de linhagens, clima, dieta, manejo e técnicas laboratoriais (Cardoso *et al.*, 2003). Uma comparação direta é difícil, podendo levar a falsa conclusão. Considerando, entretanto, que os óbitos foram baixos (12 animais: 4 do grupo controle e 8 do grupo orégano), ocasionados por impactação de ovo e por eutanásia devido aos ferimentos causados por bicadas de outras codornas, interpretamos que os níveis foram clinicamente aceitáveis.

Os valores do perfil bioquímico se situaram dentro dos índices referidos na literatura (ver tabela 11). Desta forma, o tratamento com orégano não estimulou e nem inibiu os parâmetros hematológicos celulares e bioquímicos basais. Não houve um efeito imunoestimulante e nem tampouco um efeito imunossupressor. O hematócrito não indicou nem uma anemia e nem uma hemocitose, em ambos os grupos. A glicemia e os níveis de ácidos graxos semelhantes são sugestivos de que a ação do óleo essencial de orégano não alterou o metabolismo basal em qualquer dos pontos de regulação destes componentes bioquímicos, seja em células secretoras, receptores, em cadeias enzimáticas ou hormônios. Houve uma aparente estabilidade das aves a dose atóxica de óleo essencial de orégano ministrado na concentração de 200 mg/Kg.

TABELA 11: Comparação dos valores bioquímicos obtidos no experimento com os valores encontrados na literatura.

Parâmetro	Valores obtidos no experimento	Valores citados na literatura
Glicose	163,8 ± 7,3 mg/dl (gp.controle) 150,9 ± 16,5 mg/dl (gp.orégano)	181 mg/dl(Niezgoda, 2005) 215 mg/dl (Sahin, 2002) 170 mg/dl (Sartori, 1995)
AGL (mEq/l)	1,3 ± 0,2 mEq/l (gp.controle) 1,24 ± 0,2 (gp.orégano)	0,8 mEq/l (Buyse, 2002)

Nossa hipótese sobre os efeitos do óleo essencial de orégano não se confirmaram pelo presente estudo. Este achado não é surpreendente, pois a adição de óleo essencial de extratos de ervas não alterou parâmetros fisiológicos como a produção de anticorpos contra a doença de New Castle em frangos de corte suplementados com uma erva chinesa (*Astragalan – Astragalus membranaceus*) (Chen *et al.*, 2003), ou a contagem de células B e T de ratos tratados com extrato de 5 ervas (*Boerhavia diffusa, Tinospora cordifolia, Berberis aristata, Terminalia chebula* and *Zingiber officinale*) quando comparados com o grupo controle (Sohni e Bhatt *et al.*, 1996).

Em galinhas poedeiras a adição de óleo essencial de *Mentha longifolia* melhorou o ganho de peso e conversão alimentar, mas não foi suficiente para melhorar o desempenho imunológico quando vacinadas com vírus vivo para Newcastle (Al-Ankari *et al.*, 2004). Um estudo em galinhas poedeiras utilizando timol, cinamaldeído e uma preparação comercial de componentes de óleos essenciais (CRINA® Poultry), demonstrou que o efeito no ganho de peso é somente

observável nos primeiros 21 dias de tratamento, e desaparecem após isso, até os 40 dias (Lee *et al.*, 2003). Em nosso estudo, dirigido para a produção de codornas poedeiras, é importante que o resultado final seja vantajoso para o produtor e para o animal. Por isso, não apresentamos análises detalhadas, por períodos que fossem intencionalmente manipulados para uma melhor demonstração dos efeitos. A análise de todos os parâmetros foi quinzenal e/ou reunidos pelo tempo total do experimento.

Um interessante estudo lança uma explicação plausível sobre esta diversidade de efeitos da adição óleos essenciais na resposta imunológica de aves. Neste estudo conduzido por Korver e Klasing (1997) há a demonstração de que os efeitos são o resultado da interação do tipo de aditivo lipídico, da composição da dieta e da espécie de patógeno. Os autores trataram frangos com óleo de peixe, óleo de milho e óleo de linhaça, sob dois tipos de dieta: grãos de cereais ou com milho como fonte de carboidratos. Após injetarem vacinas do vírus de bronquite infecciosa (VBI), fragmentos de lipopolissacarídeo de *Salmonella typhimurium*, estafilococos inativados pelo calor, os autores observaram que as melhores respostas imunológicas foram obtidas com a interação de óleo de peixe e grãos de cereais, em contraposição ao óleo de milho e/ou grãos de milho na dieta. Mesmo assim, a resposta vacinal de IBV não foi detectada por titulação sanguínea (ao contrário dos outros desafios imunológicos), mas apenas pelo aumento de hemoaglutininas. Esta resumida apresentação dos resultados de Korver e Klasing (1997) parecem ser suficientes para se observar que a interação entre óleos essenciais e a defesa imunológica, em nosso caso, a resposta anti-parasitária, é muito mais complexa, envolvendo variáveis que interagem em diversos níveis da resposta imunológica.

A ação dos óleos essenciais no ganho de peso está na capacidade de inibir patógenos espoliativos e estimular a formação de tecido epitelial para a maior absorção de nutrientes (Tsinas, 1998b). Nenhuma destas ações esperadas pôde ser observada em nosso estudo, pois as codornas não ganharam peso e nem aumentaram a produção de ovos. Ação sobre patógenos parece não ter sido efetiva em nosso estudo, por razões já explicitadas acima.

Como veremos no capítulo seguinte, esta aparente estabilidade não significa que as concentrações não foram suficientes para causar efeitos; os efeitos é que não foram aparentes na dosagem aplicada. Isto pode ser o resultado de vários fatores, como a observação de parâmetros equivocados ou a ausência de refinamento laboratorial para a detecção de diferenças mais sutis. Os parâmetros observados são característicos para a avaliação de uma substância utilizada em

pequenas doses na culinária humana (ver, por exemplo, Lee *et al.*, 2003), extrapolada para a produção animal. Esperava-se que as variáveis fornecessem (e o fizeram) uma visão macroscópica dos efeitos do orégano em codornas, como era o objetivo do estudo. A abordagem realizada neste estudo foi conservadora, pioneira e cautelosa. Esta prudência está consoante com uma primeira abordagem do fenômeno em codornas, para que os resultados fossem suficientemente robustos para subsidiar um aporte de tempo e de recursos em técnicas mais elaboradas *a posteriori* para estudar o fenômeno.

CONCLUSÃO

A adição de 200mg de óleo essencial de orégano por quilograma de ração não alterou os índices de desempenho avaliados: ganho de peso, consumo de ração, postura e dimensão dos ovos. Estes parâmetros se situaram dentro da normalidade e, desta forma, o extrato herbal não piorou nem exerceu efeito como promotor de crescimento. Similarmente, não foram observadas diferenças significantes entre a carga parasitária fecal das aves suplementadas e das codornas pertencentes ao grupo controle.

Possivelmente, a dose utilizada não tenha sido eficiente para que as propriedades do orégano se pronunciassem. A principal preocupação foi a de utilizar a menor dose teoricamente eficiente, para que esta fosse atóxica (como foi), clinicamente segura e economicamente viável. As diferenças encontradas com os estudos nos quais o orégano melhorou a sanidade e produtividade de aves e suínos podem ser atribuídas, em parte, à heterogeneidade dos óleos essenciais, visto que, sua composição qualitativa e quantitativa pode variar com o estágio de crescimento da planta, variedade, condições ambientais e com o método de extração aplicado. Além disso, a concentração de carvacrol (principal composto ativo) fornecida pelo fabricante (superior a 59 %) deveria ser confirmada por análise bioquímica por espectrofotometria de massa para maior confiabilidade nos resultados; infelizmente este tipo de análise não é rotina em laboratórios de instituições acadêmicas que foram contatadas, impedindo a determinação exata do princípio ativo. Por isso, alternativamente, uma combinação de diferentes extratos herbais reforçados com seus princípios ativos (carvacrol e timol, por exemplo), poderia ser utilizada para atingir resultados técnicos satisfatórios.

Adicionalmente, a ausência de resultados positivos pode ser devido às condições ótimas em que as aves foram criadas, alcançando, um alto desempenho *per se*. Este estado limite de melhoramento pode não ter permitido que os efeitos do óleo essencial de orégano fossem revelados. Algumas modificações das condições experimentais seriam necessárias para que um desafio sanitário fosse imposto para que as propriedades do óleo fossem detectáveis.

Similarmente às outras variáveis estudadas, não foram encontradas distinções significantes nos parâmetros bioquímicos e hematológicos das codornas japonesas tratadas com o óleo de orégano, em noventa dias de administração crônica. Devido à grande variabilidade nos padrões encontrados na literatura, uma comparação direta é difícil, podendo levar a falsa

conclusão. Entretanto, como a taxa de mortalidade foi baixa, inferiu-se que os níveis atingidos foram clinicamente aceitáveis. Além disso, o efeito da adição de óleos essenciais na resposta imunológica de aves pode ser o resultado de uma interação complexa entre o tipo de aditivo lipídico, a composição da ração e a espécie de patógenos e, portanto, envolveria variáveis que interagem em diversos níveis da resposta imunológica.

Por fim, a aparente estabilidade encontrada pode ter ser o resultado da observação de parâmetros que mereceriam um refinamento laboratorial para a detecção de diferenças mais sutis. As variáveis mensuradas, entretanto, forneceram uma visão macroscópica dos efeitos do orégano em codornas, como era o objetivo do estudo. O desenho experimental e o tipo de abordagem do fenômeno foram conservadores e cautelosos. A intenção primária do estudo foi subsidiar elementos para um maior investimento de tempo e de recursos, empregando técnicas mais elaboradas, em um estudo *a posteriori* do fenômeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-ANKARI, A.S. Immunomodulating effects of black seed and oxytetracycline in pigeons. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v.27, n.3, p.515-520, 2005.

ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S.L.T. **Criação de Codornas para a Produção de Ovos e Carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 290p.

ALLEN, P.C.; LYDON, J.; DANFORTH, H. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidian infections in chickens. **Poultry Science**, v. 76, p.1156–1163, 1997.

ALLEN, P.C.; FETTERER, R.H. Recent advances in biology and immunology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clinical Microbiology Reviews**, v.15, n.1, p.58-65, 2002.

ALMA, M. H.; MAVI, A.; YILDIRIM, A.; DIGRAK, M.; HIRATA, T. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. Growing in Turkey. **Biological Pharmacological Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 1725-1729, 2003.

AMZALLAG, G. N.; LARKOV, O.; BEN HUR, M.; DUDAI, N. Soil microvariations as a source of variability in the wild: the case of secondary metabolism in *Origanum dayi* Post. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6., p. 1235-1254, 2005.

BAMPIDIS, V.A.; CHRISTODOULOU, V; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A.B.; CHATZOPOULOU, P.S. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, p. 1-11, 2005.

BELO, M.T.S; COTTA, J.T.B.; OLIVEIRA, A.I.G. **Níveis de energia metabolizável em rações de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) na fase inicial de postura**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.24, n.3, p.782-793. 2000.

BOTSOGLOU, N.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; SPAIS, A.B. Effect of dietary Oregano essential oil on performance of chickens and iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British Poultry Science**, v.42, p. 223–230, 2002.

BRUGALI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p.167-182.

BUTKERAITIS, P.; OLIVEIRA, C.A.F.; LEDOUX, D.R.; ROTTINGHAUS, G. Effects of Fumonisin B₁ on hematology and serum biochemistry of laying Japanese quail, *Coturnix japonica*. **The Journal of Poultry Science**, v.43, p.310-306, 2006.

BUYSE, J.; JANSSENS, K.; GEYTEN, S.V.; VAN-AS, P.; DECUYPERE, E.; DARRAS, V. M. Pre- and postprandial changes in plasma hormone and metabolite levels and hepatic deiodinase activities in meal-fed broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.88, p.641–653, 2002.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n.4, p.419-424, 2003.

CHEN, H.L.; LI, D.F.; CHANG, B.Y.; GONG, L.M.; DAÍ, J.G.; YI, G.F. Effects of Chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broilers. **Poultry Science**, v.82, p.364–370, 2003.

CHRISTAKI, E.; FLOROU-PANERI, P.; GIANNENAS, I.; PAPAZHARIADOU, M.; BOTSOGLOU, N.A.; SPAIS, A.B. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. **Animal Research**, v. 53, p.137-144, 2004.

CITARASU, T.; SIVARAM, V.; IMMANUEL, G.; ROUT, N.; MURUGAN, V. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. **Fish & Shellfish Immunology**, v,21, p.372-384, 2006.

COTTA, T. **Alimentação de Aves**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 238p.

DE KONING, W.; DING HONG BIAO, W.U.; XIAN, F.; RONG, Y. **Chinese herbs in animal nutrition**. Nottingham University Press. p. 7–83, 1999.

DIDRY, N.; DUBREUIL, L.; PINKAS, M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyd and eugenol on oral bacteria. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**. v.64, n.1, p. 25-28, 1994.

DORHOI, A.; DOBREAN, V.; VIRAG, P. Modulatory effects of several herbal extracts on avian peripheral blood cell immune. **Phytotherapy Research**, v.20, p.352-358, 2006.

FAICHAK, I. **Codorna: Criação, Instalação e Manejo**. São Paulo: Nobel, 1987, 72p.

FORCE, M.; SPARKS, W. S.; RONZIO, R. A. Inhibition of enteric parasites by emulsified oil of oregano in vivo. **Phytotherapy Research**. v. 14, n. 3, p. 213-14, 2000.

FREITAS, A.C.; FUENTES, M.F.F.; FREITAS, E.R.; SUCUPIRA, F.S.; OLIVEIRA, B.C.M. Efeito de níveis de proteína bruta e de energia metabolizável na dieta sobre o desempenho de codornas de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.838-846, 2005.

FUKAYAMA, E.H.; BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A.; KATO, R.K.; MURGAS, L.D.S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2316-2326, 2005 (supl.).

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A.B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 99-106, 2003.

GÜNTER, K.D.; BOSSOW, H. The effect of etheric oil from *Origanum vulgare* (Ropadiar®) in the feed ration of weaned pigs on their daily feed intake, daily gains and food utilization. In: **Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham**, p.223, 1998.

JEURISSEN, S.H.M.; JANSE, E.M.; VERMEULEN, A.N.; VERVELDE, L. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite:interaction. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.54, p.231-238, 1996.

KHAJARERN, J.; KHAJARERN, S. The efficacy of *Origanum* essential oils in sow feed. **International Pig Topics**, v.17, n.17, 2002.

KORVER, D.R.; KLASING, K.C. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.10, p.2039-2046, 1997.

LEE, K.W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H.J.; FREHNER, M.; LOSA, R.; BEYNEN, A.C. Effects of dietary essential oil components on grow performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**, v.44, n.3, p.450-457, 2003.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. 296p.

MC DOUGALD, L.R. Intestinal protozoa important to poultry. **Poultry Science**, v.77, p. 1156–1158, 1998.

MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Sonopress, [2001].

MORRIS, G.M.; GASSER, R.B. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in *Eimeria*. **Biotechnology Advances**, v. 24, p.590-603, 2006.

MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: Funep-Unesp, 1998. 79p

NAZIFI, S.; ASASI, K. Hematological and serum biochemical studies on Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) fed different levels of furazolidone. **Revue de Medecine Veterinaire**, v.152, n.10, p.705-708, 2001.

NRC - National Research Council. **Nutrient Requirement of Poultry**. Ninth Revised Edition, 1994. 155p. Washington, D.C. 1994.

OETTING, L.L.; UTIYAMA, C.E.; GIANI, P.A.; RUIZ, U.S.; MIYADA, V.S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1389-1397, 2006.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B.F.; METZGER, F.L.; POLLOCK, R.V.H.; ROCHE J. **A Guide to Hematology in Dogs and Cats**. _ (Eds.). Teton NewMedia, Jackson, 1204 p. 2004.

REHMAN, J.; DILLOW, J.M.; CARTER, S.M.; CHOU, J.; LE, B.; MAISEL, A.S. Increased production of antigen-specific immunoglobulins G and M following in vivo treatment with the medicinal plants *Echinacea angustifolia* and *Hydrastis Canadensis*. **Immunology Letters**, v. 68, p.391-395, 1999.

RÓZSA, L.; REICZIGEL, J.; MAJOROS, G. Quantifying parasites in samples of hosts. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 228-232, 2000.

RUFF, M.D. Important parasites in poultry production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.337-347, 1999.

SAHIN, K.; OZBEY, O.; ONDERCI, M.; CIKIM, G.; AYSONDU, M. H. Chromium supplementation can alleviate negative effects of heat stress on egg production, egg quality and some serum metabolites of laying Japanese quail. **The Journal of Nutrition**, v.132, p.1265–1268, 2002.

SANTOS, L.C. **Laboratório Ambiental**. Editora Universitária – Edunioeste, Cascavel. 1999. p183.

SARTORI, D. R. S.; MIGLIORINI, R. H.; VEIGA, J. A. S.; MOURA, J. L.; KETTELHUT, I. C.; LINDER, C. Metabolic adaptations induced by long-term fasting in quails. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.111A, n.3, p. 487-493, 1995.

SCHNEITZ, C. Competitive exclusion in poultry - 30 years of research. **Food Control**, v.16, p.657-667, 2005.

SHAN, B.E.; YOSHIDA, Y.; SUGIURA, T.; YAMASHITA, U. Stimulating activity of Chinese medicinal herbs on human lymphocytes in vitro. **International Journal of Immunopharmacology**, v.21, p.149-159, 1999.

SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.44, p. 1202 – 1205, 1996.

SOHNI, Y.R.; BHATT, R.M. Activity of a crude extract formulation in experimental hepatic amoebiasis and in immunomodulation studies. **Journal of Ethnopharmacology** , v.54, p.119-124, 1996.

SOUZA-SOARES, L.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas : Editora da Universidade Federal de Pelotas, 2005. 138p.

TAN, B.K.H.; VANITHA, J. Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional Chinese medicinal herbs: a review. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, p.1423-1430, 2004.

TICE, G. Antibiotic use and food safety in Europe. **Poultry Digest Online**, v.3, n.1, p.1-4, 2002.

TSINAS, A.C.; GIANNAKOPOULOS, C.G.; PAPASTERIADES, A.; ALEXOPOULOS, C; MAVROMATIS, J.; KYRIASKI, S.C. Use of origanum essential oils as growth promoters in pigs. **Proceedings of the 15th IPVS Congress**. v.3, p.221, 1998a.

TSINAS, A.C, KYRIAKIS, S.C, BOURTZI-CHATZOPOULOU, E., ARSENAKIS, M., SARRIS, K.,PAPASTERIADES, ^a, LEKKAS, S. Control of porcine proliferative enteropathy by in-feed application of origanum essential oils. **Proceedings of the 15th IPVS Congress**. v.3, p.106, 1998b.

TSINAS, A.C. The art of oregano. **Grain Feed & Milling Technology**. p. 25-26, 1999.

VAN DEN BOGAARD, A.E.; LONDON, N.; DRIESSEN, C.; STOBBERINGH, E.E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.47, p.763–771, 2001.

WILLIAMS, R.B. Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chickens. **International Journal of Parasitology**, v.28, p1089–1098., 1998.

YOUN, H.J.; NOH, J.W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. **Veterinary Parasitology**, v.96, p. 257–263, 2001.

YUN, C.H; LILLEHOJ, H.S.; LILLEHOJ, E.P. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental and Comparative Immunology**, v.24, p.303-324, 2000.

CAPÍTULO 2

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) NOS PADRÕES HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E ANTIOXIDANTES DE CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*) SUBMETIDAS AO ESTRESSE AGUDO DE CONTENÇÃO.

RESUMO

O estresse de imobilização induz a formação de espécies reativas de oxigênio e conduz a peroxidação lipídica plasmática. Nesse contexto, extratos de plantas poderiam auxiliar no aumento da capacidade antioxidante total de um organismo e protegê-lo contra os danos causados pelo estresse oxidativo. No presente estudo, foi avaliado o efeito da adição do óleo essencial de orégano nos padrões antioxidantes, hematológicos e bioquímicos e de codornas japonesas submetidas ao estresse de imobilização. Para isso, cem codornas japonesas foram distribuídas em 2 grupos (controle e experimental) de 50 animais e alojadas em gaiolas. Cada gaiola possuía um lote de 10 animais do grupo controle e outro do grupo experimental. Durante 90 dias, o grupo controle recebeu ração padrão para codornas, adicionada de óleo vegetal de canola na proporção de 20g/kg de ração. O grupo experimental recebeu para cada quilograma de ração, 20g da mistura de óleo de canola adicionada de óleo essencial de orégano a uma concentração de 1%, visando fornecer 200mg de óleo essencial de orégano por quilograma de alimento. No último dia do experimento trinta animais (quinze de cada grupo) foram submetidos ao estresse de contenção por 60, 120 ou 180 minutos e, outras trinta aves (quinze de cada tratamento) não sofreram esta intervenção, permanecendo as mesmas nas gaiolas (aves não estressadas). Após a contenção, todas as aves foram decapitadas para coleta de sangue (para análise hematológica e bioquímica) e fígado (para mensuração de TBARS e proteínas carboniladas). As aves do grupo experimental obtiveram menores valores de monócitos, bastonetes, taxa monócitos/linfócitos e glicose, quando comparadas ao grupo controle. Não houve diferenças significativas nos índices que medem os danos oxidativos teciduais (TBARS e proteínas carboniladas). Os resultados obtidos permitiram sugerir que o óleo essencial de orégano promoveu um efeito protetor nos animais suplementados quando estes foram submetidos à imobilização.

Palavras-chave: codornas, orégano, estresse, imobilização, antioxidante.

ABSTRACT

The immobilization stress induces the formation of reactive oxygen species and leads to lipid peroxidation in plasma. Extracts of plants could assist in the increase of the total antioxidant capacity of the organism and to protect it against the damages oxidative stress. In the present study, the effect of the addition of oregano essential oil on the antioxidative, biochemistry and hematological standards of the Japanese quails was evaluated when they were submitted to immobilization stress. One hundred quails had been divided in 2 groups (experimental and control) of 50 animals. Every group had been divided in five lots with 10 quails each. Each cage possessed one lot of animals of the group has control and another one of the experimental group. The control group had received ration standard for quails, added of canola vegetal oil in the ratio of 20g/kg of ration. The experimental group had received for each kilogram of ration, 20g of the oil mixture of canola added of oregano essential oil (in the concentration of 1%), aiming at to supply 200mg of oregano essential oil for kilogram of food. In the last day of the experiment, thirty animals (fifteen of each group) had been submitted to containment stress and others thirty birds (fifteen of each treatment) remained in the cages (birds were not stressed). The animals of the experimental group had gotten lowers values of monocytes, band neutrophil, monocytes/lymphocytes ratio and glucose, when compared with the control group. It did not have significant differences in the carbonyl proteins and TBARS concentration. The results suggest that the oregano essential oil promoted a protective effect in the supplemented animals when they had been submitted to immobilization.

Key-words: quails, oregano, stress, immobilization, antioxidant.

INTRODUÇÃO

Os leucócitos das aves constituem o sistema imune e operam de acordo com os mesmos princípios dos mamíferos, possuindo três diferentes linhagens com funções especializadas: granulócitos, linfócitos e monócitos. Os granulócitos, por sua vez, são subdivididos em três linhas celulares: heterófilos (equivalente aos neutrófilos dos mamíferos) que são responsáveis pela defesa do hospedeiro contra a bactéria; eosinófilos os quais também exercem papel defensivo contra parasitas e, basófilos que agem como mediador na resposta prematura inflamatória (Cardoso *et al.*, 2003). Os linfócitos assistem no reconhecimento e destruição de muitos tipos de patógenos enquanto os monócitos (os quais amadurecem para se tornar macrófagos tissulares) são cruciais na defesa contra parasitas intracelulares tais como vírus e certas bactérias. (Maxwell, 1993)

A taxa heterófilo:linfócito (H/L) é grandemente aceita como um indicador fisiológico confiável e acurado da resposta ao estresse em aves. Valores de referência para esta taxa de cerca de 0,20, 0,50 e 0,80 são características de baixo, ótimo e alto grau de estresse, respectivamente (Maxwell e Robertson, 1998).

Em mamíferos também tem se observado que a taxa monócito:linfócito é um importante indicador de estresse. Dhabhar (2002), baseado nos estudos de Sapolsky e colaboradores com primatas (1999), propôs e comprovou em ratos que o estresse agudo de contenção durante três horas, fazia com que a concentração de linfócitos diminuísse e a concentração de monócitos aumentasse no sangue periférico, nos primeiros 90 minutos de contenção. Após esse período há uma gradual redução desta diferença até atingir níveis pré-estresse. Este mecanismo é mediado por glicocorticóides, pois bloqueando a liberação destes hormônios, esta discrepância monócitos:linfócitos não ocorre (Dhabhar *et al.*, 1996). Portanto, tem se utilizado a razão monócito:linfócito para avaliar o nível de estresse pela intermediação dos glicocorticóides.

Em geral, as aves são confrontadas diariamente com uma variedade de fatores adversos intrínsecos (desafios imunológicos) e extrínsecos (estresse calórico, manipulação, barulhos) alterando o seu sistema imune. A partir de estudos nas relações entre parâmetros imunológicos e fatores estressores, tem se tornando evidente que diferentes estressores podem ter efeitos distintos nos parâmetros imunes dependendo da natureza, intensidade e o tempo de ação do estressor (Oishi *et al.*, 2003).

De acordo com Von Borell (1995), estresse é um termo geral que implica uma ameaça à qual determinado organismo precisa se ajustar. Para Fraser e colaboradores (1975), diz-se que um animal está em estado de estresse quando é necessário que se faça ajustes em sua fisiologia ou em seu comportamento, para ajustar-se aos aspectos adversos decorrentes do manejo. Naturalmente que para os desafios imunológicos haverá ajustes celulares e humorais nas aves.

O estresse está associado com alterações das funções humorais e das células imunes em animais, muitas vezes interrompendo a cadeia homeostática e regulando para baixo o sistema imune ou levando a uma exacerbação da resposta (Kushima *et al.*, 2004). Os mecanismos específicos que mediam estes efeitos do estresse não têm sido completamente elucidados (Oishi *et al.*, 2003). Não somente o estresse físico (choques elétricos), mas também o estresse psicológico (isolamento e confronto social) podem enfraquecer as defesas do hospedeiro contra patógenos externos ou estimular e desenvolver tumores internos pela danificação das respostas imunes tais como produção de anticorpos, atividade de células “natural killers” e resposta dos linfócitos à mitogênese. (Oishi *et al.*, 2003)

Respostas ao estresse em aves domésticas são excitadas principalmente pela ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e do sistema nervoso ortosimpático (Lin *et al.*, 2006) com conseqüente produção de catecolaminas e glicocorticóides, que participam no controle e na resposta do organismo ao estresse (Von Borell, 1995), além de exercerem um efeito modulatório (no curto prazo) ou inibitório (no longo prazo) no sistema imune (Kushima *et al.*, 2004).

As concentrações de corticosteróides no sangue têm sido usadas como uma medida do estresse ambiental em aves (Altan *et al.*, 2000). As alterações dos leucócitos em aves em resposta ao estresse, por sua vez, parecem ser menos variáveis e, aparentemente seria um indicador seguro alternativo aos valores de corticosterona plasmáticos. Em vários estudos, determinou-se que estressores físicos e psicológicos tais como calor, frio jejum, frustração, privação de água superpopulação, manipulação, barulho e contenção modificam a função imune, elevando a taxa heterófilo / linfócito (H/L). A taxa H/L tem sido mostrada ser altamente herdável e um índice confiável para determinação de estresse em aves domésticas (Altan *et al.*, 2000).

A respeito da contenção, o estresse de imobilização é um método fácil e conveniente de induzir tanto estresse psicológico (reação de escape) e físico (trabalho muscular) resultando em mobilidade restrita e agressão (Singh *et al.*, 1993). Tem sido reportado que níveis plasmáticos de

corticosterona são elevados em resposta ao estresse de contenção, indicando que essa prática como estressor para a ave modifica o seu o sistema imune (Kushima *et al.*, 2004)

Dhabhar e colaboradores (1995) sugeriram que hormônios liberados pela glândula adrenal em resposta ao estresse são os maiores mediadores de alterações no número de leucócitos. O aumento da concentração de corticosterona plasmática devido ao estresse induzido é acompanhado por uma elevação no número e porcentagem de neutrófilos, a qual acarreta em um acréscimo na produção de O_2^- durante o estresse psicológico em ratos e humanos (Oishi *et al.*, 1999). Também foi reportado que o estresse de imobilização eleva os níveis de interleucinas plasmáticas – 6 (IL-6) via catecolaminas central e periféricas (Takaki *et al.*, 1994).

Kushima e colaboradores (2004) verificaram o efeito de seis horas de imobilização nas células do sistema imune de aves. Estes autores obtiveram que a magnitude deste estresse foi suficiente para aumentar brevemente os níveis de corticosterona e catecolaminas, com conseqüente redução na proporção de células linfóides $CD3^+CD4^-CD8^-$ no sangue periférico . Quando as aves foram liberadas no final de seis horas, os níveis destes indicadores sofreram redução.

Adicionalmente, foi reportado que o a imobilização, um típico estresse psicológico e físico, induz a formação de espécies reativas de oxigênio (tais como ânions superóxido, radicais hidroxil e peróxido de hidrogênio), os quais são gerados quando o oxigênio é produzido em excesso ou quando sua redução é insuficiente (Aruoma *et al.*, 1998). Estes compostos podem atacar ácidos graxos altamente insaturados de membranas de eritrócitos, induzindo a peroxidação lipídica e eventualmente causando hemólise (Kuang *et al.*, 1994), além provocar danos oxidativos em proteínas e no DNA (Oishi *et al.*, 1999). Portanto, o balanço entre a produção de pro-oxidantes e defesas antioxidantes tem importantes implicações relacionadas à saúde e é considerado o melhor indicador do nível de estresse oxidativo individual (Costantini *et al.*, 2006; Sies, 1991; Dröge, 2002).

Organismos aeróbicos são protegidos da toxicidade do oxigênio por um sistema de defesa antioxidante natural envolvendo mecanismos enzimáticos e não enzimáticos *ex-vivo* (vitaminas A, E e C) e, *in vivo* (superóxido dismutase - SOD, glutathiona S-transferase - GST, catalase e glutathiona) (Ames *et al.*, 1993; Kashif *et al.*, 2004). Entretanto, o mecanismo antioxidante está sujeito a falhas devido a superprodução de radicais livres, ou a reduzida atividade de enzimas neutralizadoras, ou ambos, causando a peroxidação lipídica. Desde que a peroxidação lipídica é

uma reação de cadeia auto-propagadora, a oxidação inicial de poucas moléculas de lipídeos podem resultar em danos tissulares significantes e doença, especialmente em tecidos cerebrais ricos em ácidos graxos polinsaturados (Kashif *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo e sua influência nas características de vida das aves é um tópico de pesquisa relativamente novo e, a maioria das pesquisas relacionadas ao estresse oxidativo se refere à exposição dos animais a altas temperaturas (estresse calórico). Nesse contexto, Lin e colaboradores (2006) verificaram que a temperatura do corpo elevada pode induzir alterações metabólicas que estão envolvidas no estresse oxidativo. As concentrações de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) no plasma e no fígado de aves expostas a altas temperaturas, comparadas ao nível basal e aves controles, foram elevadas, indicando um distúrbio do equilíbrio entre a geração e redução de oxidantes e, portanto, estresse oxidativo elevado. Concentrações elevadas de TBARS no fígado, mas não no coração, indicaram que o fígado é mais suscetível ao estresse oxidativo durante a exposição ao calor. A possível razão poderia estar relacionada ao seu alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados e alterações relativas no sistema antioxidante (Lin *et al.*, 2006).

No estudo citado, o estresse aplicado nos animais foi o de contenção, e desta forma, trabalhos relacionados a essa abordagem se tornam mais relevantes. Porém, dados dos danos oxidativos oriundos do estresse de imobilização em aves são bastante escassos, portanto, serão citados resultados do estresse de imobilização encontrados em mamíferos.

Davydov e colaboradores (2004) mediram o conteúdo de produtos da peroxidação lipídica por radicais livres, intensidade da peroxidação lipídica e a concentração de proteínas carboniladas no fígado de ratos adultos (10-12 meses) e idosos (22-25 meses) sujeitos a 30 minutos de imobilização. Alterações na intensidade da peroxidação lipídica induzida em homogenatos e acumulação de proteínas carboniladas em frações subcelulares do fígado indicaram que a imobilização estimulou a geração de radicais livres no fígado, tanto em ratos adultos como senis. Entretanto, a intensidade desse processo em ratos mais velhos superou ao dos animais adultos, evidenciando que variações relacionadas a idade na atividade funcional do sistema redox de membrana e mudanças nas propriedades catalíticas de enzimas antioxidantes de primeiro nível exercem um importante papel nesse processo .

Em concordância, Oishi e colaboradores (2003) observaram os efeitos do estresse de imobilização na distribuição das células periféricas, nível plasmático de substâncias reativas ao

ácido tiobarbitúrico (TBARS) e atividades de enzimas antioxidantes em eritrócitos em ratos machos. Estes autores verificaram um aumento significativo nos níveis de TBARS plasmático durante e após o estresse. Um decréscimo dramático nos neutrófilos e monócitos implicou que a formação de espécies reativas de oxigênio resultaram de suas ativações. Além disso, a atividade antioxidante da catalase e superóxido dismutase nos eritrócitos foram drasticamente elevadas durante e após o estresse, enquanto uma forte queda nos números de eritrócitos foi observada. Estes achados sugerem que a ativação de células imunes pode ser uma fonte de espécies reativas de oxigênio induzidas pela imobilização, e que as enzimas antioxidantes dos eritrócitos exercem um importante papel na prevenção de injúrias induzidas por estes radicais.

Similarmente, estudos efetuados por Kashif e colaboradores (2004) revelaram que ratos submetidos a seis horas de estresse de contenção causaram significativo decréscimo na atividade cerebral de superóxido dismutase (SOD), glutatona S-transferase (GSH), catalase e nos níveis de glutatona, com um significativo acréscimo nos níveis de TBARS, quando comparados com ratos controles não estressados. Estas medidas são índices da peroxidação lipídica e, desta forma, o estresse de imobilização foi capaz de gerar estresse oxidativo em cérebros de ratos.

Liu e colaboradores (1996) sugeriram que, de todos os órgãos do corpo, o cérebro possui maior vulnerabilidade a danos oxidativos devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados nas membranas e aos baixos níveis de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

A glicose plasmática também parece ter uma ligação direta com a geração de superóxidos. Um aporte excessivo de glicose tem um efeito na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) que danifica o DNA (Berstein *et al.*, 2006). Estes autores observaram que em subgrupos experimentais humanos, com superexposição oral de glicose, houve um acentuado aumento nas ROS mononucleares, o que poderia sugerir um possível papel carcinogênico ou mutagênico (Bernstein *et al.*, 2006).

Em contrapartida, Liu e colaboradores (1996) verificaram que a administração de Yizhiyishou, um produto natural de ervas medicinais, mostrou um efeito protetor contra mudanças anormais nas defesas antioxidantes e neurotransmissores monoamina no córtex cerebral ou no plasma, agindo efetivamente como um antioxidante. A parte, polifenóis, especialmente tocoferóis, carotenóides e ácido ascórbico também têm sido associados com propriedades antioxidativas (Kosar *et al.*, 2005).

Neste contexto, o orégano, uma erva mundialmente usada como condimento e, com reconhecidas atividades antioxidantes (ver tabela 12) poderia ser também utilizado para auxiliar na limitação dos danos oxidativos do estresse. Esta característica se deve a presença de compostos com anel fenólico e substituintes hidroxilas (carvacrol e timol), que podem funcionar como antioxidantes efetivos devido a sua habilidade de conter elétrons livres. Sugere-se então que, os antioxidantes fenólicos oriundos de uma dieta rica em tais compostos possam neutralizar os radicais livres nocivos e então inibir suas reações oxidativas com moléculas biológicas vitais, suavizando os efeitos do estresse e prevenindo o desenvolvimento de muitas condições fisiológicas, as quais podem se manifestar em doenças (Vattem *et al.*, 2005).

TABELA 12 – Trabalhos que comprovam a atividade antioxidante do orégano e seus principais compostos.

Composto químico / Produto	Propriedade avaliada	Concentração	Resultados	Autor (es)
Carvacrol	Efeitos dos danos oxidativos no DNA induzidos por H ₂ O ₂	0,00005mM a 0,005nM	Proteção nos linfócitos de danos oxidativos do DNA induzidos pelo H ₂ O ₂ .	Aydin <i>et al.</i> . (2005)
Timol	Efeitos dos danos oxidativos no DNA induzidos por H ₂ O ₂	0,005mM a 0,1nM	Proteção nos linfócitos de danos oxidativos do DNA induzidos pelo H ₂ O ₂ .	Aydin <i>et al.</i> . (2005)
Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> L.	Atividade antioxidante (capacidade de neutralização de radicais livres DPPH e, inibição da peroxidação lipídica)	IC ₅₀ =0,17µg/ml 0,425 a 2,13µg/ml	50% de neutralização do DPPH 74,54% a 85,46% de inibição da peroxidação lipídica	Bozin <i>et al.</i> . (2006)
Porção solúvel do <i>Origanum vulgare</i>	Atividade antioxidante	>2mM TEAC	Forte atividade no teste de descolorização do radical ABTS	Ivanova <i>et al.</i> . (2005)

DPPH = radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

TEAC = capacidade equivalente ao Trolox (marca registrada de Hoffman-LaRoche, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrameticroman-2-carboxílico)

IC₅₀= concentração de óleo essencial que causou 50% de neutralização

Radical ABTS = (2,2-azinobis(3- etilbenzothiazoline-6- ácido sulfônico))

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da adição do óleo essencial de orégano nos padrões hematológicos, bioquímicos e antioxidantes de codornas japonesas submetidas ao estresse de imobilização.

HIPÓTESES

Os animais do grupo experimental terão melhores padrões bioquímicos e hematológicos que as aves do grupo controle após imobilização;

As aves do grupo orégano submetidas ao estresse sofrerão menores danos oxidativos que as aves não suplementadas com o óleo essencial.

MATERIAIS E MÉTODOS

As codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) foram adquiridas da Granja Santa Rosa, localizada no município de Brazlândia - DF. Os animais, todos de um mesmo lote de incubação, foram vacinados contra as doenças de New Castle e Marek com um e sete dias de idade, conforme manejo do produtor, e criadas em piso até os 20 dias de idade. No estudo, utilizou-se 100 codornas fêmeas, com 20 dias de vida.

As codornas foram distribuídas em dois grupos (controle e experimental) de 50 animais, os quais foram subdivididos em cinco lotes com 10 codornas cada. As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado 0,50 m x 0,50 m, com bandeja coletora de excretas e aparato para os ovos. Cada gaiola (Figura 1) possuía duas repartições iguais de 0,25m, com capacidade total para 20 aves (dois lotes de 10 animais / gaiola). A distribuição dos lotes de aves foi aleatória, mas de forma que cada gaiola possuísse um lote de animais do grupo controle e outro do grupo experimental, em uma densidade caracteristicamente utilizada por produtores no Distrito Federal. O comedouro e o bebedouro utilizados foram do tipo calha, em chapa metálica galvanizada, localizados na parte frontal e posterior da gaiola, respectivamente. As gaiolas permaneceram no Biotério do Laboratório Integrado do Instituto de Biologia / Departamento de Ciências Fisiológicas da UnB, a 90 cm do solo. O biotério é um recinto fechado, com programas de luz (segundo o recomendado por Albino, 2003) e ventilação por exaustor, criando condições microclimáticas padrões. Diariamente foram mensurados os valores máximos e mínimos de temperatura e umidade do ambiente (temperatura média máxima de $27,4 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ e mínima de $26,4 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$; umidade relativa do ar máxima de $60,7 \pm 9,6\%$ e mínima de $47,4 \pm 11,8\%$), com o uso de um termohigrômetro (Extech, China). A duração do experimento foi de 95 dias (26 de agosto a 01 de dezembro de 2005).

A partir do segundo dia de experimento, em cada fase de criação (crescimento e postura), os lotes do grupo controle (1, 2, 3, 4 e 5) receberam ração padrão para codornas (Fri-ribe, Anápolis), adicionada, de forma homogênea (por aspersão) de 20g de óleo vegetal de canola por quilograma de ração. Similarmente, para os lotes do grupo experimental (6, 7, 8, 9 e 10) foi aspergido, para cada quilograma de ração, 20g da mistura óleo de canola e óleo essencial de orégano a uma concentração de 1%, visando fornecer 200mg do extrato por cada quilograma de alimento. Esta concentração de óleo essencial de orégano segue a literatura sobre as

concentrações médias para que se observe os efeitos em aves (Giannenas *et al.*, 2003; Bampidis *et al.*, 2005). O óleo essencial de orégano possuía acima de 59% de carvacrol (dado fornecido pelo fabricante) e foi adquirido de uma empresa especializada (Aromalândia, Belo Horizonte – MG), a qual importa o produto da Turquia. A composição do óleo vegetal (canola) e óleo de essencial de orégano estão descritas nas tabelas (Tabelas 4 e 5).

Todos os grupos receberam água mineral à vontade. A ração e a água foram fornecidas e/ou renovadas às 08h30min e às 17hs. As excretas eram removidas uma vez ao dia, pela manhã. A composição das rações fornecidas (crescimento e postura) estão descritas nas tabelas 6 e 7. A quantidade de ração consumida foi calculada, diariamente, a partir da diferença entre o peso do total oferecido às aves e o peso do total retirado e caído ao chão e/ou na bandeja de excretas.

Visando avaliar a ação antioxidante do orégano, no último dia do experimento 60 animais (30 de cada grupo) foram decapitados para coleta de sangue e tecidos. O fornecimento de água e ração foi interrompido cerca de 8 horas antes. Trinta animais (quinze de cada grupo) foram submetidos ao estresse de contenção e outras trinta aves (quinze de cada tratamento) não sofreram esta intervenção, permanecendo as mesmas nas gaiolas (aves não estressadas). Aproximadamente a cada 15 minutos, cinco aves do grupo controle e cinco do grupo experimental foram escolhidas alternadamente e contidas através da amarração das patas e asas com fita adesiva. Cada grupo foi colocado em recipiente plástico, permanecendo nesta condição por cerca de 1 hora. Em seguida, outros 10 animais (cinco de cada grupo) foram contidos por 2 horas e 3 horas. Esgotado o tempo de contenção, os animais foram decapitados, sempre em uma mesma seqüência: um animal do grupo controle sem estresse, um animal do grupo experimental sem estresse, um animal do grupo controle com estresse e um animal do grupo experimental com estresse. De cada animal abatido, foi retirado o sangue e fragmentos do fígado. O sangue foi coletado em dois tubetes contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético): o primeiro destinado para análise de hemograma; e o segundo centrifugado a 1500 rpm por dez minutos (centrífuga Excelsa Baby, Fanem LTDA) e armazenado somente o plasma em congelador, para posterior análise bioquímica (glicemia e ácidos graxos livres). Os fragmentos de fígado foram colocados em um tubo plástico com tampa de rosca, armazenado em nitrogênio líquido e, em seguida, transferido para um freezer a -80°C, para análise da atividade antioxidante do óleo essencial de orégano sobre proteínas e lipídeos (proteínas carboniladas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico- TBARS).

A exposição protéica ao ataque de radicais livres na presença de oxigênio resulta em múltiplas mudanças na molécula alvo, entre elas, a formação de novos grupos reativos, tais como as carboniladas. Desta forma, este composto é considerado um dos marcadores do nível da oxidação de proteínas. Para mensurar este produto, seguiu-se o método descrito por Ramos-Vasconcelos (2003). Os fragmentos de fígado de cada animal foram previamente pesados e homogeneizados com solução tampão 50mM (1:15 peso/volume). Em seguida, foram transferidas duas alíquotas de 0,2ml para dois *ependdorfs* previamente identificados (branco e teste). Adicionou-se 0,4 ml de ácido tricloroacético (TCA) 15% para precipitação das proteínas e centrifugou-se a 13.000 rpm por 6 minutos (Micro Centaur MSE - Sanyo) para formação do *precipitado*. O sobrenadante dos dois *ependdorffs* foi colocado em um terceiro *ependdorff* e armazenado em congelador a -80°C. Posteriormente, adicionou-se 0,5ml de HCl 2M no tubo branco e 0,5 ml de dinitrofenil-hidrasina (DNPH) 10mM no tubo teste. Este último reagente tem como função ligar-se às proteínas carboniladas. Dissolveu-se o *precipitado* com auxílio do bastão de vidro, agitou-se por 40 segundos em Vortex e aguardou-se uma hora, no escuro, agitando a cada 15 minutos. Adicionou-se novamente TCA 20%, centrifugou-se, descartou-se o sobrenadante e realizou-se a lavagem do *precipitado* por três vezes com 1ml de etanol:acetato de etila (1:1). Após descartar o sobrenadante, foi acrescentado 1ml de cloreto de guanidina 6M para dissolução do precipitado. Por fim, centrifugou-se os *ependdorfs* e realizou-se a leitura do sobrenadante a 370nm (Spectronic Genesys 2 – Milton Roy), comprimento em que se obtém leitura máxima. Os valores finais de proteínas carboniladas foram expressos usando o coeficiente de extinção de 22mmol.l-1.

Como os resultados das proteínas carboniladas são fornecidos em função da concentração protéica total, efetuou-se a dosagem de proteína total, utilizando-se o método de Lowry, modificado por Hartree (1972). Os ensaios foram realizados em tubos de vidro de 13 mm. Para obtenção da curva padrão, utilizou-se uma solução de BSA de concentração conhecida. A partir do homogenato 1:15 (peso/volume), realizou-se uma nova diluição de 1:1800, a fim de se obter uma quantidade de 15 a 110µg de proteína, faixa na qual pode-se obter uma proporcionalidade direta entre a concentração de proteína e a leitura da absorbância a 650 nm. As amostras de proteínas foram diluídas para 1 ml com água milli Q e tratadas com 0,9 ml de reagente A (2g de tartarato sódio de potássio e 100 g de Na₂CO₃ foram dissolvidos em 500ml de NaOH 1N e diluído para 1 litro). O branco e o padrão foram tratados da mesma maneira. Os tubos foram

colocados em um banho de água a 50° por 10 minutos, resfriados a temperatura ambiente (21 – 25°) e tratadas com 0,1ml de reagente B (2 g de tartarato sódio de potássio e 1 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foram dissolvidos com 90ml de água e 10ml de NaOH 1N foi adicionado). As soluções foram deixadas a temperatura ambiente no mínimo por 10 minutos, e em seguida, 3 ml de reagente C (1 volume de reagente Folin-Ciocalteu foi diluído com 15 vezes o volume de água) foi acrescentado rapidamente, assegurando a mistura dentro de 1 segundo. Os tubos foram novamente aquecidos a 50° por 10 minutos e resfriados a temperatura ambiente. As absorvâncias foram lidas em cubetas com o comprimento de onda de 650nm (Spectronic Genesys 2 – Milton Roy).

Para avaliar os danos oxidativos sobre os lipídeos foi mensurada a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo o método descrito por Ramos-Vasconcelos (2002). O malondialdeído (MDA), um produto secundário da oxidação de ácidos graxos insaturados, reage com duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) produzindo uma coloração avermelhada com absorvância máxima a 532nm.

A partir do homogenato 1:15 (peso/volume), foram transferidas duas alíquotas de 0,3ml para dois ependorffs (branco e teste) e adicionados 0,15ml de H_3PO_4 7%. Após, adicionou-se 0,3ml de TBA + BHT ao tubo teste e 0,3ml de HCl 3mM ao tubo branco. Vortexou-se os tubos por 40 segundos e colocou-se em banho de água fervente por 15 minutos. Posteriormente, foi adicionado 0,75ml de butanol, centrifugou-se e realizou-se a leitura do sobrenadante a 532 e 600nm (Spectronic Genesys 2 – Milton Roy). Os resultados foram calculados de forma a minimizar interferências: amostra ($A_{532} - A_{600}$) – branco ($A_{532} - A_{600}$). Os valores finais de TBARS foram expressos usando o coeficiente de extinção de 156mmol.l^{-1} .

Análise estatística

Para verificar as possíveis diferenças entre as codornas do grupo controle (com e sem estresse) e orégano (estressados ou não), as médias dos valores hematológicos e bioquímicos foram primeiramente submetidas a um teste de análise de variância Kruskal-Wallis, bicaudal, com nível de significância $p \leq 0,05$. Este teste é 95% tão preciso quanto a ANOVA, um teste paramétrico. As possíveis diferenças detectadas foram analisadas *post hoc* por um teste Mann-Whitney, bicaudal, com nível de significância $p \leq 0,05$.

As médias de proteínas carboniladas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram analisadas utilizando-se o teste de análise de variância (ANOVA), com distribuição bicaudal e nível de significância $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Após submeter as aves ao estresse agudo de contenção por até 3 horas, verificou-se que houveram diferenças significativas dos valores hematológicos e bioquímicos nos quatro grupos analisados (Tabela 13).

TABELA 13: Comparação das médias (\bar{X}) \pm erro padrão da média (EPM) das concentrações celulares e bioquímicas sanguíneas das codornas do grupo 1 (controle sem estresse), 2 (controle com estresse), 3 (órégano sem estresse) e 4 (órégano com estresse), pelo teste de Kruskal Wallis. O número de animais é representado pelo N.

Concentração celular ou bioquímica	Grupo CSE $\bar{X} \pm$ EPM (N=13)	Grupo CCE $\bar{X} \pm$ EPM (N=15)	Grupo OSE $\bar{X} \pm$ EPM (N=12)	Grupo OCE $\bar{X} \pm$ EPM (N=13)	Comparação entre as médias
Hematócrito	35,1 \pm 1,0%	35,3 \pm 0,6%	34,4 \pm 1,1%	36,4 \pm 1,0%	p=0,50
Leucócitos	5,6 \pm 0,2%	5,4 \pm 0,1%	5,5 \pm 0,3%	5,6 \pm 0,3%	p=0,76
Bastonetes	4,7 \pm 0,6%	3,2 \pm 0,3%	3,3 \pm 0,6%	3,1 \pm 0,6%	p=0,07
Eosinófilos	2,1 \pm 0,2%	2,1 \pm 0,3%	2,4 \pm 0,4%	2,1 \pm 1,3%	p=0,83
Linfócitos	30,9 \pm 1,2%	30,7 \pm 1,1%	30,9 \pm 0,8%	30,7 \pm 1,5%	p=0,97
Monócitos	2,5 \pm 0,3%	3,5 \pm 0,3%	2,7 \pm 0,3%	2,2 \pm 0,3%	p=0,04**
Heterófilos	62,0 \pm 1,8%	59,5 \pm 1,5%	60,4 \pm 0,9%	61,7 \pm 1,9%	p=0,87
Razão Monócitos: Linfócitos	0,08 \pm 0,0%	0,11 \pm 0,0%	0,09 \pm 0,01%	0,07 \pm 0,01%	p=0,05*
Razão Heterófilos: Linfócitos	1,16 \pm 0,06%	1,17 \pm 0,06%	1,11 \pm 0,04%	1,24 \pm 0,10%	p=0,98
Glicose (mg/dl)	250,9 \pm 11,4	228,0 \pm 10,5	193,9 \pm 17,3	173,9 \pm 10,3	p=0,001**
AGL (mEq/l)	1,7 \pm 0,2%	1,1 \pm 0,1%	1,5 \pm 0,2%	1,2 \pm 0,1%	p=0,18

AGL= ácidos graxos livres

Submetendo os valores de monócitos, glicose, razão monócitos:linfócitos (índices onde foram detectados diferenças significativas) e bastonetes (parâmetro que obteve uma forte tendência para diferenciação) ao teste Mann Whitney, foi possível revelar entre quais grupos estas distinções, de fato, ocorreram (Figuras 11, 12 e 13). Os demais valores hematológicos (hematócrito, leucócitos, eosinófilos, heterófilos, razão heterófilo/linfócitos) e bioquímico (ácidos graxos livres – AGL) não se diferiram estatisticamente nos quatro grupos avaliados.

Avaliando a concentração dos monócitos (Figura 11), observou-se que os animais do grupo controle submetidos ao estresse (grupo 2) alcançaram níveis significativamente maiores do que o grupo controle sem estresse – grupo 1 ($p=0,018$) ($3,47 \pm 0,29$ versus $2,46 \pm 0,27$, respectivamente; $p=0,018$) e em relação ao grupo orégano com estresse – grupo 4 ($2,75 \pm 0,16$; $p=0,012$). Não houve diferenças entre os grupos controle sem estresse e orégano sem e com estresse (1, 3 e 4, respectivamente), e animais pertencentes ao grupo controle com estresse e grupo orégano sem estresse (2 e 3, respectivamente).

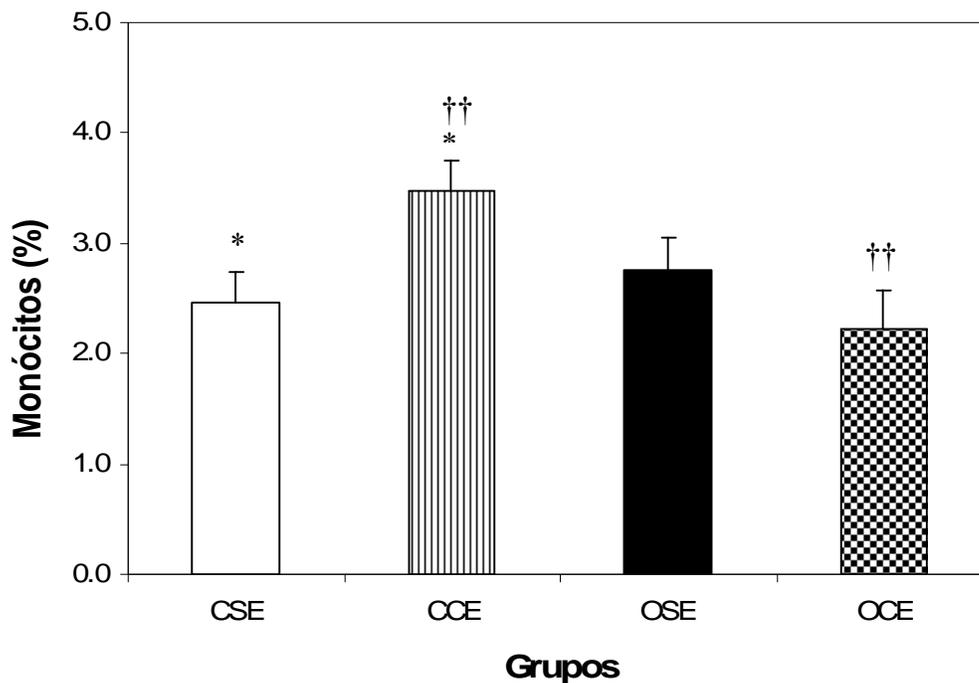


FIGURA 11: Concentração média de monócitos (valores relativos e erro padrão) das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4). Os sinais gráficos indicam quais grupos

diferiram entre si. O grupo 1 teve concentrações significativamente menores em relação ao grupo 2 (*, $Z = -2,358$, $p = 0,018$, bicaudal). O grupo 2 teve concentrações significativamente maiores do que o grupo 4 (††, $Z = -2,514$, $p = 0,012$, bicaudal). O teste foi o Mann-Whitney para amostras independentes.

Para a concentração de bastonetes, as aves não estressadas e não suplementadas com o óleo de orégano (grupo 1) obtiveram valores estatisticamente mais elevados que os outros três grupos avaliados ($4,69 \pm 0,57$ para o grupo 1, $3,20 \pm 0,28$ para o grupo controle com estresse, $3,33 \pm 0,59$ para o grupo orégano sem estresse e, $3,15 \pm 0,60$ do grupo orégano com estresse). Os valores de p estão na legenda do gráfico. Entretanto, este índice não se diferiu para os grupos 2, 3 e 4 (12).

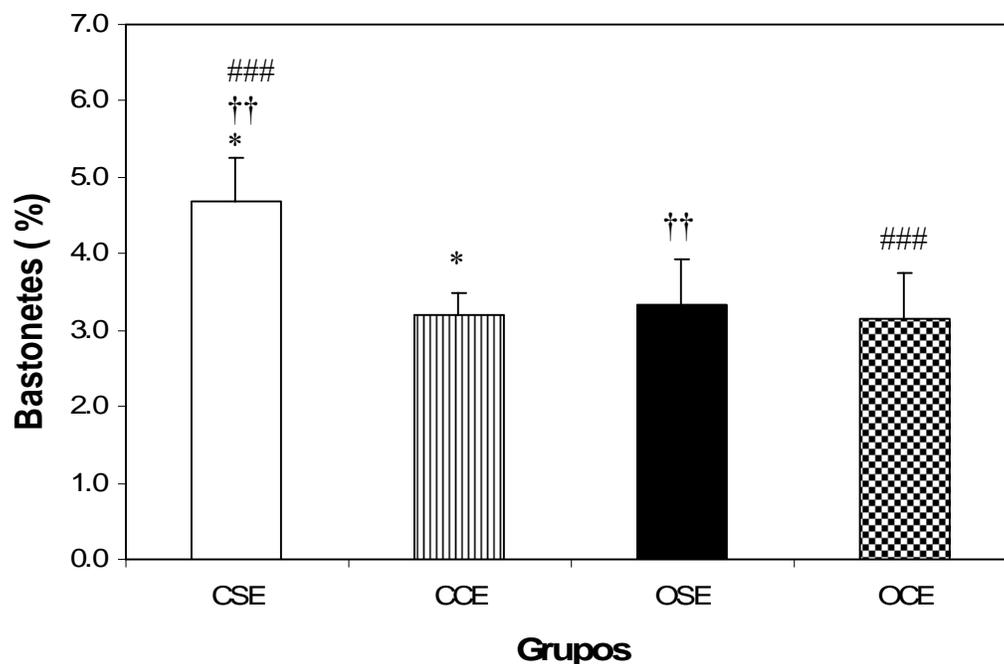


FIGURA 12: Concentração média de bastonetes (valores relativos e erro padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4). Os sinais gráficos indicam quais grupos diferiram entre si. O grupo 1 teve concentrações significativamente maiores em relação ao grupo

2 (*, $Z = -2,132$, $p = 0,033$, bicaudal), ao grupo 3 (††, $Z = -2,145$, $p = 0,032$, bicaudal) e ao grupo 4 (###, $Z = -2,028$, $p = 0,043$, bicaudal). O teste foi o Mann-Whitney para amostras independentes.

Foram também detectadas diferenças significantes na razão monócitos:linfócitos (M/L) entre os quatro grupos avaliados. Como pode ser visto na figura 13, as codornas do grupo 2 (controle com estresse) alcançaram valores significativamente mais elevados para a taxa M/L ($0,11 \pm 0,01$) que as aves dos grupos 1 (controle sem estresse) e grupo 4 (orégano com estresse) ($0,08 \pm 0,01$, $p = 0,02$; $0,07 \pm 0,01$, $p = 0,017$), respectivamente. Nenhuma diferença foi encontrada quando este parâmetro foi comparado entre os grupos 1 e 3, 1 e 4, 2 e 3 e 3 e 4 (Figura 13).

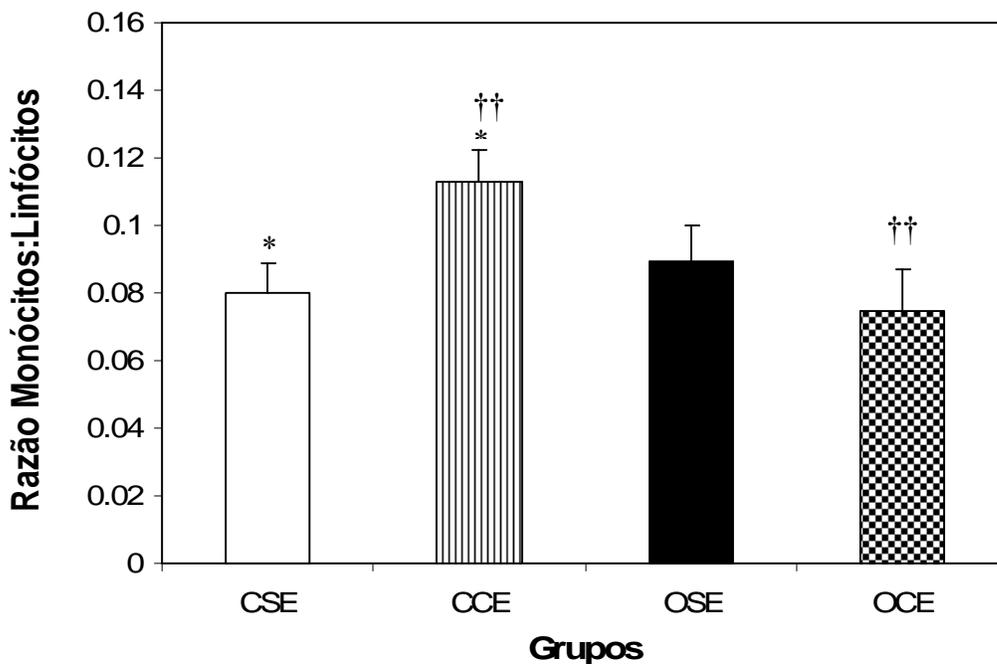


FIGURA 13: Razão entre a concentração média de monócito para a concentração média de linfócitos e desvio padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4). Os sinais gráficos indicam quais grupos diferiram entre si. O grupo 1 teve uma razão significativamente menor em relação ao grupo 2 (*, $Z = -2,330$, $p = 0,02$, bicaudal). O grupo 2 teve uma razão significativamente maior do que o grupo 4 (††, $Z = -2,397$, $p = 0,017$, bicaudal). O teste foi o de Mann-Whitney para amostras independentes.

Para o índice glicêmico das aves analisadas, foram reveladas distinções significativas entre os grupos. Os animais do grupo controle sem estresse alcançaram concentrações de glicose significativamente mais elevadas do que aqueles pertencentes aos grupos orégano sem estresse e orégano com estresse ($250,9 \pm 11,4$ versus $193,7 \pm 17,3$ e $211,9 \pm 7,3$). Além disso, codornas que não receberam suplementação e que foram submetidas ao estresse obtiveram níveis glicêmicos estatisticamente superiores às aves suplementadas e estressadas ($228,0 \pm 10,5$ versus $173,9 \pm 10,3$). Entretanto as concentrações de glicose, em mg/dl, foram iguais para as codornas dos grupos 1 e 2, 2 e 3, 3 e 4 (Figura 14).

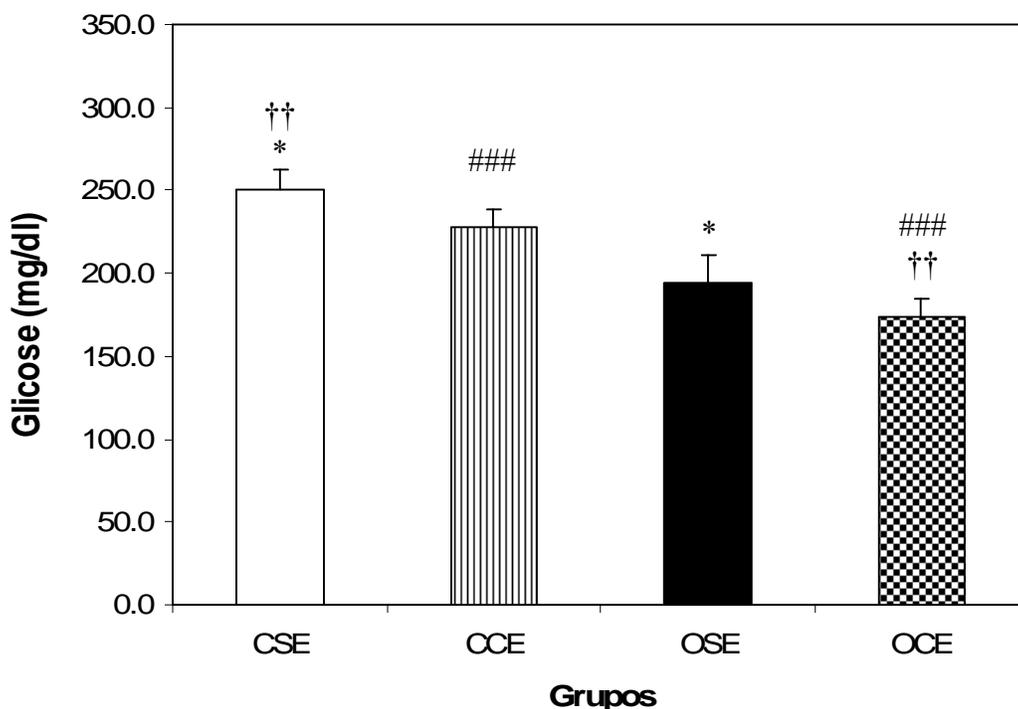


FIGURA 14: Glicemia média (mg/dl) e erro padrão, das codornas do grupo controle sem estresse (1), controle com estresse agudo (2), grupo orégano sem estresse (3) e grupo orégano com estresse agudo (4). Os sinais gráficos indicam quais grupos diferiram entre si. O grupo 1 teve concentrações significativamente maiores em relação ao grupo 3 (*, $Z = -2,40$, $p = 0,016$, bicaudal) e altamente significativa em relação ao grupo 4 (††, $Z = -3,372$, $p = 0,001$, bicaudal). O grupo 2 teve concentração significativa maior do que o grupo 4 (###, $Z = -3,203$, $p = 0,001$, bicaudal). O teste foi o Mann-Whitney para amostras independentes.

A análise intergrupos verificou que não houve diferenças significativas entre as aves dos quatro grupos avaliados

A exposição protéica ao ataque de radicais livres, produzidos pelo estresse de imobilização, na presença de oxigênio resulta em múltiplas mudanças na molécula alvo, entre elas, a formação de novos grupos reativos, tais como as proteínas carboniladas. Desta forma, este composto é considerado um dos marcadores do grau da oxidação de proteínas. No presente estudo, a concentração de proteínas carboniladas, em nmol/g de tecido, no fígado das 60 aves abatidas não se diferiu entre os quatro grupos avaliados (Figura 15). Os valores de proteínas carboniladas, em nmol/g de proteínas também não se distinguiram nos quatro grupos analisados (dados não mostrados).

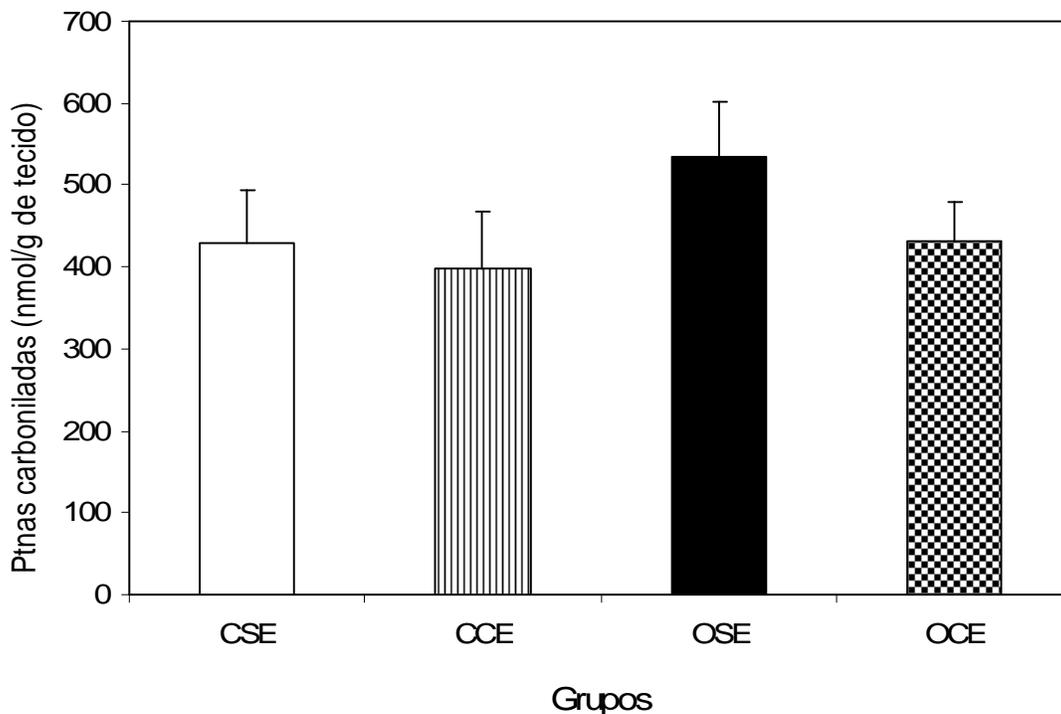


FIGURA 15: Teor médio e erro padrão das proteínas carboniladas hepáticas das codornas do grupo controle sem estresse (1), do grupo controle com estresse (2), do grupo orégano sem estresse (3) e do grupo orégano com estresse (4). Não houve diferença entre os grupos (ANOVA, $F= 0,92$, $gl= 3$, $p= 0,43$, bicaudal).

Similarmente, a quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) hepáticas, índice que avalia os danos oxidativos sobre os lipídeos, foi estatisticamente semelhante entre todos os grupos avaliados (Figura 16).

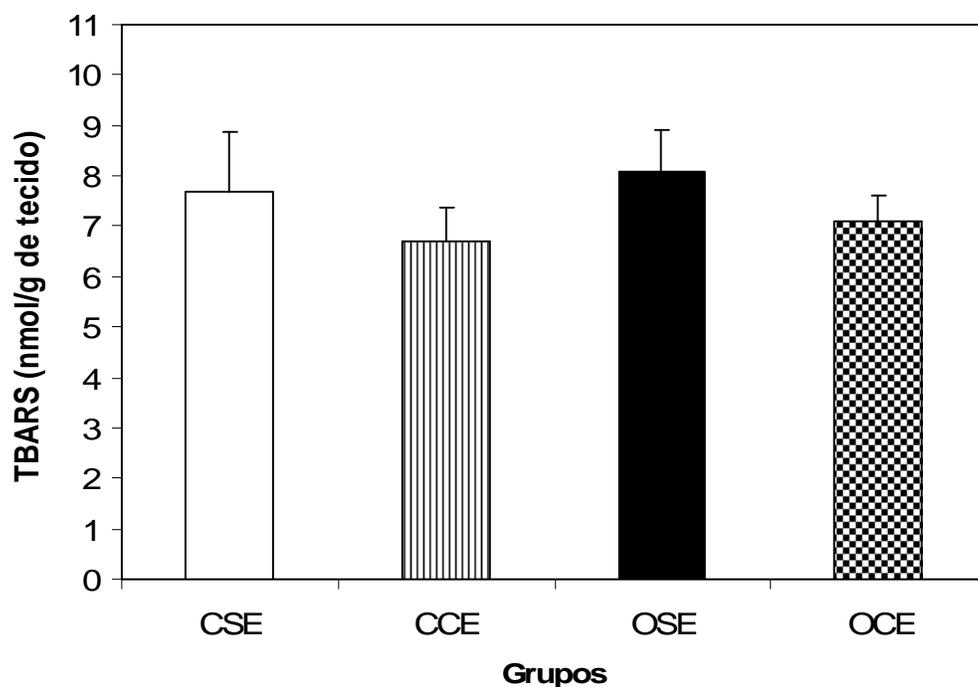


FIGURA 16: Teor médio e erro padrão de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) hepáticas das codornas do grupo controle sem estresse (1), do grupo controle com estresse (2), do grupo orégano sem estresse (3) e do grupo orégano com estresse (4). Não houve diferença entre os grupos (ANOVA, $F=0,48$, $gl=3$, $p=0,69$, bicaudal).

DISCUSSÃO

O estresse de imobilização é um método fácil e conveniente de induzir estresse psicológico (reação de escape) e físico (trabalho muscular) nos animais resultando em mobilidade restrita e agressão defensiva (Singh *et al.*, 1993), com a conseqüente elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona, indicando que, essa prática como estressor para a ave, modifica o seu o sistema imune (Kushima *et al.*, 2004).

No presente trabalho a imobilização das codornas por até três horas foi suficiente para causar alterações nos seus padrões hematológicos e bioquímicos, em especial na contagem de monócitos e bastonetes, taxa monócitos/linfócitos e concentração de glicose.

As aves imobilizadas que não receberam suplementação (grupo 2) apresentaram contagens relativas de monócitos significativamente superiores àquelas não estressadas (grupo 1) ($3,47 \pm 0,29$ versus $2,46 \pm 0,27$). Este resultado está de acordo com aquele obtido por Dhabhar e colaboradores (1995), os quais observaram que o estresse agudo de imobilização por três horas em ratos induziu uma elevação no número e porcentagem de monócitos no sangue periférico.

Adicionalmente, as codornas pertencentes ao grupo 4 (orégano com estresse) apresentaram menor índice de monócitos do que aquelas imobilizadas não suplementadas com orégano (grupo 2) ($2,75 \pm 0,16$ versus $3,47 \pm 0,29$) e, foram estatisticamente iguais aos animais não suplementados e não estressados (grupo 1). Estes resultados sugerem que a suplementação com o óleo de orégano foi capaz de limitar o aumento destas células em animais estressados, igualando aos valores obtidos pelas aves não estressadas do grupo controle.

Além disso, a comparação entre os grupos controle sem estresse (1) e orégano sem estresse (3) permitiu constatar que a administração do óleo, em si, não eleva os níveis de monócitos no sangue de codornas (grupos 1 e 3 foram estatisticamente iguais).

A taxa monócito/ linfócito é também um bom indicador de estresse e, neste estudo foram alcançadas diferenças significantes entre os quatro grupos analisados. Estas distinções seguiram a mesma tendência da contagem de monócitos, descrita acima. Ou seja, as codornas controle submetidas ao estresse de imobilização (2) obtiveram maiores contagens relativas quando comparadas àquelas não estressadas (1). Este aumento já era esperado, visto que a imobilização forçada é um fator estressor que eleva as contagens de monócitos e reduz os níveis de linfócitos (segundo Dhabhar e colaboradores -1995) elevando, conseqüentemente esta razão. A taxa M/L

das codornas do grupo 2 foi estatisticamente também superior às aves estressadas que receberam o óleo essencial de orégano na dieta (4), sugerindo novamente um efeito limitante do extrato herbal na elevação deste parâmetro.

Similarmente, comparando-se os grupos controle sem estresse (1) e orégano sem estresse (3) obteve-se que a adição do óleo essencial de orégano, em si, não eleva a razão M/L no sangue de codornas (grupos 1 e 3 foram estatisticamente iguais). Este efeito na contenção da elevação da taxa M/L foi observado em animais que estão habituados ao estresse ou que tiveram um bloqueio no sistema glicocorticoide-receptor (Dhabhar *et al.*, 1995). A resposta imunológica segue um caráter defensivo e adaptativo. O aumento da taxa M/L deve-se a uma migração dos monócitos às áreas periféricas (por isso a presença no sangue periférico) com concomitante recolhimento dos linfócitos aos tecidos mais profundos, particularmente aos linfonodos (resultando em taxas menores no sangue periférico) (Dhabhar *et al.*, 1995). Acredita-se que este efeito tem por objetivo fazer com que os monócitos, potenciais macrófagos, migrem para áreas do corpo que possam estar vulneráveis à invasão de patógenos, exercendo a sua atividade fagocitária e emitindo citocinas para mobilizar a resposta humoral. Os linfócitos entrariam na segunda fase da defesa ao serem mobilizados mais especificamente e com grande potencial proteolítico (Berne *et al.*, 2000).

Esta resposta deve ser bem equilibrada e específica para que uma vez desencadeada consiga debelar o agente agressor (patógeno ou alérgeno), lesionar os tecidos minimamente, reconstituir os tecidos e manter a memória imunológica. Um desafino na orquestração desta resposta pode tanto aumentar a suscetibilidade e permitir a infecção, ou exarcebar na resposta criando grandes áreas inflamatórias, lesões teciduais, algumas vezes acarretando a morte do indivíduo (Berne *et al.*, 2000).

Uma resposta imunológica seguindo a lógica do aumento da razão M/L é sumamente importante para a adaptação em indivíduos que estão submetidos a um ambiente selvagem e hostil. As codornas foram domesticadas e selecionadas para uma vida em cativeiro. Recebem proteção contra predadores, contra a ação de patógenos, vivendo com alimentação abundante e sem desafios maiores. Talvez o maior desafio seja o manejo diário, em ambiente muitas vezes sem controle pelos animais. Na prática do manejo está a manipulação para exames e a transferência de lotes de animais. Estas modificações podem significar grandes desafios para animais que vivem em um ambiente bastante constante e monótono. Sob esta perspectiva, a ação

do óleo de orégano trouxe benefícios aos animais ao manter a razão M/L mais baixa, em um desafio eminentemente psicológico, em que não havia a ação de patógenos para serem debelados e nem lesões de tecidos para serem fagocitados.

Nós não analisamos se a resposta de monócitos e linfócitos foi dependente do tempo. Em ratos, Dhabhar (1995) observou que a taxa M/L é grande nos primeiros 30 minutos e decai após isto, até a normalidade após 180 min. A possibilidade do óleo essencial de orégano ter acelerado esta volta à normalidade, em contraposição ao maior tempo de permanência da razão M/L nos animais controle, é algo fascinante. Neste caso é interessante abordar o fenômeno em um desenho experimental diferenciado no futuro, como continuidade ao presente estudo.

Tratando-se das contagens relativas de bastonetes, as aves do grupo controle sem estresse (1) alcançaram níveis significativamente mais elevados do que as codornas provenientes dos grupos controle com estresse (2), orégano sem estresse (3) e orégano com estresse (4). A presença de grande quantidade de bastonetes no primeiro grupo pode ser indicativo de uma infecção atuante (por bactérias, por exemplo) e, a tentativa do organismo de produzir aceleradamente células para a defesa imunológica (Berne *et al.*, 2000). Após a submissão dos animais do grupo controle ao estresse de imobilização (2), verificou-se que houve uma redução da contagem destas células. Esta diminuição na defesa imunológica das aves após a contenção, pode ser devido à migração tecidual dos bastonetes, em resposta à ação de níveis elevados de corticosterona no sangue (El-Lethey *et al.*, 2003). Em contrapartida, os valores basais dos animais suplementados (grupo 3) foram inferiores aos do grupo 1, indicando que os primeiros estavam mais saudáveis, ou seja, não tinham infecção latente. Isto pode sugerir que o extrato de orégano proporcionou alguma proteção dos animais contra infecção, talvez, devido a sua reconhecida propriedade antibacteriana (Alma *et al.*, 2003; Peñalver *et al.*, 2005; Bozin *et al.*, 2006). Mesmo após o estresse, as codornas do grupo experimental não sofreram alterações da contagem de basófilos, evidenciando que esta resposta não era necessária pois, os animais não estavam com infecção.

Outra resposta do organismo ao estresse é a alteração no metabolismo de carboidratos, que inclui o estímulo a gliconeogênese, redução da captação da glicose por inibição da insulina, com conseqüente aumento dos níveis glicêmicos (hiperglicemia) (Weissman, 1990). A concentração de glicose das codornas não imobilizadas do grupo controle (1) apresentou níveis

significativamente mais elevados do que as aves do grupo orégano sem estresse (3), sugerindo que o óleo essencial de orégano pode reduzir os níveis glicêmicos destes animais.

Neste contexto, Lemhadri e colaboradores (2004) estudaram o efeito da administração oral do orégano (20mg/kg) em ratos diabéticos e, concluíram que esta erva exerceu atividade hipoglicemiante nestes animais devido a redução dos níveis deste carboidrato após o segunda dose administrada. Os autores observaram que esta atividade do orégano não estava relacionada com a elevação da insulina e que, portanto, este resultado poderia ser devido a inibição da síntese de glicose hepática ou estimulação da utilização da glicose pelos tecidos periféricos – músculo e tecido adiposo. Esta propriedade foi associada a ação sinérgica dos principais compostos fenólicos do orégano, o carvacrol e o timol.

Os níveis glicêmicos das aves do grupo orégano com estresse (4) foram inferiores àquelas pertencentes ao grupo controle sem estresse (1) e controle com estresse (2) e, foram significativamente iguais aos animais do grupo 3 (orégano sem estresse). Este resultado sugere que o óleo de orégano além de reduzir os níveis glicêmicos basais das codornas, impediu que a sua concentração fosse aumentada após submetê-las os estresse de contenção. Se por um lado esta redução pode ser vantajosa para a economia e a produção animal, por outro, uma redução glicêmica acentuada pode predispor o tecido cerebral a danos (Berstein *et al.*, 2006). Uma investigação mais pontual sobre as vantagens e desvantagens desta ação seria muito bem adequada para elucidar o fenômeno.

Sob um ponto de vista mais atual, os resultados obtidos neste experimento podem ser mais bem compreendidos sob o conceito de alostasia e carga alostática. Alostasia quer dizer “equilíbrio através de troca” (McEwen e Wingfield, 2003a). Em outras palavras, é o ajustamento contínuo que ocorre na fisiologia e no comportamento de um indivíduo, para enfrentar eventos potencialmente danosos. A alostasia serve para que o organismo obtenha ou mantenha um estado fisiológico apropriado para as circunstâncias (Schulkin, 2003). Sugere-se que os mecanismos que compõem a alostasia mantém a homeostasia ao promover a adaptação à algum desafio extremo, protegendo o organismo e seus sistemas básicos de manutenção da vida (pressão arterial, pH, temperatura, etc) (McEwen, 1998). A alostasia como mecanismo de ajustamento em situações emergenciais, é iniciada pela clássica resposta do sistema simpático-adrenal e do eixo límbico-HPA (Schulkin, 2003). Apesar desta convergência com a homeostasia, conceitualmente alostasia difere em que (McEwen, 1998):

- a. Não existe um ponto ótimo de equilíbrio pré-definido;
- b. O ajustamento não pode ser visto como local, mas deve envolver vários sistemas;
- c. Conforme a assunção “b”, deve haver o envolvimento do Sistema Nervoso Central;
- d. As respostas fisiológicas são antecipatórias;
- e. Há um limite de suporte se refletindo em maior ou menor vulnerabilidade;
- f. Não está diretamente ligada às funções vitais;

Alostasia enfatiza um controle integrado entre o sistema neural, endócrino e imunológico. A homeostasia é definida mais localmente e não prediz um controle integrado, em sua formulação tradicional, embora se reconheça uma amplitude implicitamente maior na definição do termo. Portanto, se o princípio de homeostasia prediz que haveria equilíbrio através de ações mais locais, a alostasia enfatiza o controle do SNC, a integração entre vários sistemas e o comportamento (McEwen e Wingfield, 2003a).

Na recente conceituação do termo, McEwen e Wingfield (2003b) restringiram alostasia para o mecanismo de adaptação no curto prazo, que apóia alguns sistemas essenciais a vida, como pH, temperatura do corpo, glicemia, tensão de oxigênio e calcemia, por exemplo. Alostasia é um conjunto de mecanismos que são acionados para manter estes parâmetros essenciais, ao apoiar sistemas que são mais importantes na ecologia dos indivíduos como reprodução, migração, hibernação, exploração de ambientes, memória espacial, territorialidade, agressão e outros (McEwen, 1998).

Como mecanismos de defesa, alostasia é enfatizada pela regulação mediada pelo eixo límbico-hpa, simpato-adrenal e imunológico. Como mediadores químicos primários de adaptação foram propostos os glicocorticóides, as catecolaminas adrenais e as citocinas (McEwen e Wingfield, 2003b). Estes sistemas e moléculas não são únicos, mas preferencialmente são mobilizadas em qualquer emergência ou ativação neural.

A alostasia tem um custo denominado de carga alostática, a qual é entendida como um desregramento do balanço entre os mediadores químicos primários. Então, pode haver um custo excessivo de energia (glicose), de proteínas (na gliconeogênese de jejum), de alocação de comportamentos reparatórios e constitutivos (sono, reprodução, digestão, etc.) ou, um excesso de resposta imunológica a uma possível lesão – mesmo que o estímulo para a resposta seja eminentemente psicológico ou descontextualizado (McEwen e Wingfield, 2003a). Como uma das

características da alostase é o desencadeamento de respostas antecipatorias, a não ocorrência do desafio à homeostase ou à carga alostática pode ser uma perda metabólica e de comportamentos reparadores (sono, descanso, comer, digestão, etc).

Um estado alostático não pode permanecer por muito tempo, porque depende de um fluxo ótimo de energia e da capacidade de sustentação dos sistemas envolvidos (McEwen e Wingfield, 2003a). Quando a carga alostática compromete a higidez ou a homeostasia, diz-se que há sobrecarga alostática. Em outras palavras, a sobrecarga alostatica é o quadro de lesão e o desencadeamento de patologias.

Quatro mecanismos podem ser ilustrados para se entender como se estabelece a carga alostática (McEwen, 1998):

- a. Vários estressores seguidos estimulando respostas alostáticas freqüentes.
- b. Falha para o indivíduo habituar-se a um mesmo estressor repetido.
- c. Redução da eficiência dos mecanismos de retroalimentação negativa.
- d. Inadequação de uma resposta a um estressor agudo, levando a um efeito compensatório em outros sistemas ou comportamentos deslocados.

Em cada desafio o corpo mobiliza energia, ao ativar vias adrenérgicas e neuroendócrinas, que à custa de aminoácidos, enzimas e energia excedente, cria um ambiente favorável de fluidez de glicose em áreas onde a demanda é emergencialmente maior (cérebro, musculatura estriada esquelética, miocárdio, etc). Esta mobilização pode ser rápida e explosiva, alterando o metabolismo, as funções fisiológicas e a dinâmica de células imunes (Schulkin, 2003).

Os desafios das codornas criadas para produção animal são muito diferentes dos desafios que a maioria dos animais enfrenta em ambiente natural. A mobilização de células do sistema imune ou de glicose em situação de estresse agudo (transporte e contenção, por exemplo) tem um enorme dispêndio de energia que resulta em adiamento de funções como comer, termorregular e realizar a postura. Nesse contexto, o óleo essencial de orégano pode ser um atenuante na resposta ao estresse, aliviando a carga alostática do animal.

Se o estresse causa uma ativação do metabolismo e altera o comportamento, sabe-se que a gênese está na ativação de áreas do sistema límbico, especialmente da amígdala, do hipocampo e da matéria cinzenta periaquedutal. A ativação destas áreas pode ser em parte mediada pelas citocinas ou outras moléculas produzidas por monócitos e linfócitos (Maier e Watkins, 1998;

Sternberg e Licinio, 1995). Há uma ligação bidirecional entre o sistema imune e o sistema límbico; as interleucinas estão envolvidas diretamente na redução dos comportamentos apetitivos e no desenvolvimento de síndromes tipo-depressivas (Maier e Watkins, 1998).

Além disso, uma sobrecarga alostática do sistema imunológico causa medo e ansiedade nos animais. O óleo essencial de orégano parece ter atenuado a resposta imunológica do estresse de contenção e conseqüentemente, parece ter aliviado estados emocionais de medo e ansiedade na intervenção aguda. Sob o ponto de vista da ave, parece razoável acreditar que o estresse (ou a carga alostática) foi menor nos grupos tratados com orégano em relação ao controle.

Por fim, conforme citado por Kashif e colaboradores (2004), o estresse de imobilização foi capaz de gerar estresse oxidativo. A quantificação dos principais índices de danos em lipídeos e proteínas (TBARS e proteínas carboniladas, respectivamente), permite um estudo mais aprofundado sobre os possíveis prejuízos oxidativos que ocorrem nos tecidos de animais submetidos ao estresse físico e psicológico de contenção.

Neste estudo, os níveis de proteínas carboniladas (nmol/g de tecido) e TBARS (nmol/g de tecido) não sofreram mudanças significativas quando as codornas do grupo controle e orégano foram contidas por um período de até três horas. Em outras palavras, os quatro grupos avaliados (controle sem estresse, controle com estresse, orégano sem estresse e orégano com estresse) obtiveram os mesmo índices oxidativos. Este resultado vai contra à maioria dos trabalhos existentes na literatura (Gumuslu *et al.*, 2002; Ricart-Jane *et al.*, 2002), onde comprovadamente, o estresse de imobilização foi encontrado ser capaz de gerar estresse oxidativo nos tecidos animais. Uma das justificativas plausíveis para tal resultado é que a contenção praticada neste trabalho pode não ter sido suficiente para causar danos mensuráveis nos fígados das codornas e, portanto o estresse agudo de contenção por três horas não ocasionaria prejuízos significativos nos tecidos. De fato, os trabalhos que envolvem imobilização, geralmente, este fator estressor é praticado por um tempo maior (cerca de 6 horas, Oishi *et al.*, 1999), ou em reduzidos tempos por um longo prazo (15 minutos de contenção por 60 dias - Ricart-Jane *et al.*, 2002), acarretando em um estresse crônico com importantes alterações no balanço antioxidante/oxidante.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na presente pesquisa revelaram que a imobilização de codornas por até três horas foi eficiente para causar alterações nos padrões hematológicos e bioquímicos dos animais. Entretanto as aves suplementadas com o óleo essencial de orégano obtiveram melhores respostas após o estresse agudo. Isto foi verificado, por exemplo, pelos menores valores de monócitos e taxa M/L. Desta forma, o orégano pode ter (1) inibido o aumento destes parâmetros e/ou (2) acelerado o retorno destas variáveis para níveis normais. Componentes dos óleos essenciais parecem agir tanto na membrana como nos passos enzimáticos para a síntese de moléculas mensageiras (interleucinas e esteróides) impedindo a elevação destas importantes moléculas. Além disso, a possibilidade do extrato ter estimulado o retorno nos níveis de monócitos e linfócitos aos valores de normalidade também é algo interessante e, portanto, poderia ser avaliado aplicando-se um desenho experimental diferenciado. Seja qual for a via de explicação, para aves domesticadas esta resposta é benéfica, visto que o desafio aplicado (contenção) não envolveu a infecção por patógenos e nem injúrias. Portanto, a elevação de monócitos (ou M:L) não era, de fato, essencial para a vida das aves.

A menor concentração de bastonetes para as aves que receberam a adição de 200 mg de óleo essencial de orégano por quilograma de ração, pode ser interpretada que estes animais estavam mais saudáveis e sem infecção aparente ou subclínica. A propriedade antimicrobiana do óleo pode ter favorecido este quadro. Em contraste, nas aves controle, o aumento dos bastonetes pode ser interpretado como um forte indício de uma afecção subclínica.

Adicionalmente, o extrato utilizado pareceu exercer atividade hipoglicêmica (os valores de glicose das aves suplementadas apresentaram menores índices do que aquelas pertencentes ao grupo controle) e, reduziu a mobilização de glicose pelas aves quando submetidas ao estresse agudo de contenção. Este resultado pode ser positivo, visto que, o consumo excessivo de energia para enfrentar um desafio pode adiar outras funções como comer, termorregular e realizar a postura. O seqüestro de energia diminui o potencial zootécnico do indivíduo.

Desta forma, o extrato herbal promoveu um alívio na carga alostática, isto é, teve um efeito protetor nos animais suplementados submetidos à imobilização. Em outras palavras, este extrato natural parece ter reduzido a susceptibilidade dos animais à infecção, atenuado a resposta

imunológica e, conseqüentemente, reduzido o estresse no grupo tratado, quando comparado ao grupo controle.

Por último, não foram detectadas diferenças significativas nos índices dos danos oxidativos teciduais (proteínas carboniladas e TBARS) entre as aves do grupo controle e experimental. Provavelmente a imobilização aplicada não foi suficiente para causar danos mensuráveis nos fígados coletados e, então, a atividade antioxidante do óleo não pôde ser revelada. A realização de um estresse de contenção mais prolongado (crônico), desta forma, talvez fosse necessária para uma melhor avaliação destes parâmetros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S.L.T. **Criação de Codornas para a Produção de Ovos e Carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 290p.

ALMA, M. H.; MAVI, A.; YILDIRIM, A.; DIGRAK, M.; HIRATA, T. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. Growing in Turkey. **Biological Pharmacological Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 1725-1729, 2003.

ALTAN, O.; ALTAN, A.; ÇABUK, M.; BAYRAKTAR, H. Effects of heat stress on some blood parameters in broilers. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 24, p.145-148, 2000.

AMES, B.N.; SHIGENAGA, M.S.; HAGEN, T. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of ageing. **Proceedings of the National Academy of Sciences. USA**, v.90, p.7915-7922, 1993.

ARUOMA, O.I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v.75, n.2, p.199-212, 1998.

AYDIN, S.; BASUARAN, A. A.; BASUARAN, N. Modulating effects of thyme and its major ingredients on oxidative dna damage in human lymphocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 1299-1305, 2005.

BAMPIDIS, V.A.; CHRISTODOULOU, V; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; SPAIS, A.B.; CHATZOPOULOU, P.S. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, p. 1-11, 2005.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

BERSTEIN, L.M.; VASILYEV, D.A.; POROSHINA, T.E.; KOVALENKO, I.G. Glucose-induced effects and joker function of glucose: endocrine or genotoxic prevalence? **Hormone and Metabolic Research**, v.38, n.10, p.650-655, 2006.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v.54, p.1822-1828, 2006.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n.4, p.419-424, 2003.

COSTANTINI, D.; DELL'OMO, G. Effects of T-cell-mediated immune response on avian oxidative stress. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.145, p.137-142, 2006.

DAVYDOV, V.V.; ZAKHARCHENKO, I.V.; OVSYANNIKOV, V.G. Free radical processes in the liver adults and olds rats during stress. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v.137, n.2, p. 139-142, 2004.

DHABHAR, F.S.; MILLER, A.H.; MCEWEN, B.S. Effects of stress on immune cell distribution – dynamics and hormonal mechanisms. **Journal of Immunology**, v.154, n.10, p.5511-5527, 1995.

DHABHAR, F.S.; MILLER, A.H.; MCEWEN, B.S. SPENCE, R.L. Stress-induced changes in blood leukocyte distribution – Role of adrenal steroid hormones. **Journal of Immunology**, v.157, n.4, p.1638-1644, 1996.

DHABHAR, F.S. Stress-induced augmentation of immune function—The role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.16, n.6, p. 785-798, 2002.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v. 82, p. 47-95, 2002.

EL-LETHEY, H.; HUBER-EICHER, B.; JUNGI, T.W. exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen response. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.95, n.3-4, p.91-101, 2003.

FRASER, D. Animal ethics and animal welfare science: Bridging the two cultures. **Applied Animal Behavior Science**, v.65, p. 71-79, 1999.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N. A.; SPAIS, A.B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**. v. 57, n. 2, p. 99-106, 2003.

GUMUSLU, S.; SARIKCIOGLU, S.B.; SAHIN, E.; YARGICOGU, P.; AGAR, A. Influences of different stress models on the antioxidant status and lipid peroxidation in rat erythrocytes. **Free Radical Research**, v.36, p.1277–1282, 2002.

HARTREE, E.F. Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v.48, n.2, p.422-427, 1972.

IVANOVA, D.; GEROVA, D.; CHERVENKOV, T.; Yankova, T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, p.145–150, 2005.

KASHIF, S.M; ZAIDI, R; BANU, N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. **Clinica Chimica Acta**, v.340, p.229-233, 2004.

KOSAR, M.; DORMAN, H.J.D.; HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v.91, p.525–533, 2005.

KUANG, Z.H.; WANG, P.F.; ZHENG, R.L.; LUI, Z.L.; LUI, Y.C. Making vitamin C liposoluble enhance its protective effect against radical induced hemolysis of erythrocytes. **Chemistry Physics of Lipids**, v.71, p.95-97, 1994.

KUSHIMA, K., YOSHIDA, K.; FUJITA, M.; SHIGETA, A.; HORIUCHI, H.; MATSUDA, H.; FURUSAWA, S. Chicken peripheral blood CD3⁺CD4⁺CD8⁻ cells are regulated by endocrine and nerve systems. **Journal Veterinary Medicinal Science**, v. 66, n. 2, p.143-148, 2004.

LEMHADRI, A.; ZEGGWAGH, N.-A.; MAGHRANI, M.; JOUAD, H.; EDDOUKS, M. Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region. **Journal of Ethnopharmacology**, v.92, p.251–256, 2004.

LIN, H.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.144, p.11-17, 2006.

LIU, J.; WANG, X.; SHIGENAGA, M.K.; YEO, H.C.; MORI, A.; AMES, B.N. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein and DNA in the brain of rats. **The FASEB Journal**, v. 10, p.1532-1538, 1996.

MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Cytokines for psychologists: implications of bi-directional immune to brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. **Psychological Reviews**, v. 105, n. 1, p. 83-107, 1998.

MAXWELL, M.H. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poultry Science**, v. 49, n.1, p.34 – 43, 1993.

MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W. The avian heterophil leucocyte: a review. **World's Poultry Science**, v. 54, n.1, p.155-178, 1998.

MCEWEN, B. S. Stress, adaptation, and disease: allostasis and allostatic load. **Annals of New York Academy of Sciences**, v. 840, p. 33-44, 1998.

MCEWEN, B. & WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 2-15, 2003a.

MCEWEN, B. & WINGFIELD, J. C. Response to commentaries on the concept of allostasis. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 28-30, 2003b.

OISHI, K.; YOKOI, M.; MAEKAWA, S.; SODEYAMA, C.; SHIRAISHI, T.; KONDO, R.; KURIYAMA, T.; MACHIDA, K. Oxidative stress and haematological changes in immobilized rats. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 165, p. 65-69, 1999.

OISHI, K.; NISHIO, N.; KONISHI, K.; SHIMOKAWA, M.; OKUDA, T.; KURIYAMA, T.; MACHIDA, K. Differential effects of physical and psychological stressors on immune functions of rats. **Stress**, v.6, n.1, p.33-40, 2003.

PEÑALVER, P.; HUERTA, B.; BORGE, C.; ASTORGA, R.; ROMERO, R.; PEREA, A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v.113, p.1-6, 2005.

RAMOS-VASCONCELOS, G.R.; HERMES-LIMA, M. Hypometabolism, antioxidant defenses and free radical metabolism in the pulmonate land snail *Helix aspersa*. **The Journal of Experimental Biology**, v.206, p.675-685, 2003.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B.F.; METZGER, F.L.; POLLOCK, R.V.H.; ROCHE, J. **A Guide to Hematology in Dogs and Cats**. _ (Eds.). Teton NewMedia, Jackson, 1204 p. 2004.

RICART-JANES, D.; RODRIGUEZ-SUREDA, V.; BENAVIDES, A. Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 51, n.7, p.925-931, 2002.

SAPOLSKY, R.; SULEMAN, M.A.; YOLE, D.; WANGO, E.; KITHOME, K.; CARLSSON, H.E.; HAU, J. Peripheral blood lymphocyte immunocompetence in wild African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) and the effects of capture and confinement. **In vivo**, v.13, n.1, p.25-27, 1999.

SCHULKIN, J. Allostasis: a neural behavioral perspective. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 21-27, 2003.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **The American Journal of the Medical Sciences**, v.91, p.31-38, 1991.

SINGH, L.K.; PANG, X.; ALEXACOS, N.; NETAUMEN, R.; THEOHARIDES, C. Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone neurotension and substance link to neurogenic skin disorders. **Brain Behavior and Immunity**, v.13, p.225-239, 1993.

STERNBERG, E. M. & LICINIO, J. Overview of neuroimmune stress interactions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 771, p. 364-371, 1995.

TAKAKI, A.; HUANG, Q.I.L.; SOMOGYVARI, V.A.; ARIMURA, A. Immobilization stress may increase plasma interleukin-6 via central and peripheral catecholamines. **Neuroimmunomodulation**, v.1, p.335-342, 1994.

VAN BORELL, E. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance to farm animals. **Applied Animal Behavior Science**, v.44, p.219-227, 1995.

VATTEM, D.A.; RANDHIR, R.; SHETTY, K. Cranberry phenolics-mediated antioxidant enzyme response in oxidatively stressed porcine muscle. **Process Biochemistry**, v.40, p.2225–2238, 2005.

WEISSMAN, C. The metabolic response to stress: an overview and update. **Anesthesiology**, v.73, p.308-327, 1990.

CONCLUSÃO GERAL

O uso de extratos de ervas como potenciais substituintes de antibióticos sintéticos na produção animal se torna cada vez mais atraente. Resultados positivos já têm sido alcançados em espécies animais (frangos, suínos, por exemplo) o que aumenta o interesse e a atenção de produtores que estão preocupados em se manter no mercado mundial de exportações, visto que a Comunidade Européia já começou a proibir a aquisição de produtos de origem animal, nos quais foram obtidos com o uso de quimioterápicos. Os produtores precisam se adequar a estas novas exigências, para não perder espaço no mercado e colocar um produto mais saudável. O óleo essencial de orégano surge como uma das alternativas para essa tendência, devido a suas reconhecidas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes, favorecendo seu uso na produção animal.

Na primeira etapa, os resultados dos índices de desempenho e carga parasitológica fecal obtida no experimento não sofreram diferenças com o uso deste extrato. Desta forma, se o óleo não foi efetivo em atuar como promotor de crescimento, ao menos, a dose administrada não acarretou em padrões de crescimento e produtividade abaixo dos níveis normalmente obtidos pelos produtores comerciais. O baixo índice de óbitos e os valores hematológicos e bioquímicos alcançados corroboram com este achado, visto que os valores obtidos, apesar de sofrer uma variabilidade quando comparados com padrões encontrados na literatura, permitem inferir que os animais estavam saudáveis.

Por outro lado, na segunda abordagem do experimento, verificou-se que as aves suplementadas obtiveram melhores respostas hematológicas e bioquímicas, quando submetidas ao estresse agudo de imobilização. Os menores valores de monócitos e taxa M/L, sugere que o óleo impediu sua elevação ou estimulou seu retorno aos níveis da normalidade. Este quadro sugere uma maior capacidade de adaptação ao estresse ao menor custo (metabólico). As reduzidas concentrações de glicose no sangue também reflete uma melhor resposta a contenção, otimizando o uso da energia para atividades importantes na economia do indivíduo (termorregulação, comer e ovogênese). Além disso, as aves submetidas à dieta com o óleo essencial de orégano pareceram mais saudáveis ao final do experimento, considerando os níveis de bastonetes mais baixos.

Desta forma, o fato do óleo ter protegido os animais da infecção e do estresse (imobilização) e, conseqüentemente reduzido o custo destes animais para enfrentá-lo (carga alostática), já constitui uma importante vantagem para o produtor que optar adicioná-lo à alimentação das codornas. Frequentemente aves são expostas a fatores estressores intrínsecos e extrínsecos (temperatura, transporte manejo, entre outros) que alteram sua homeostase. O óleo essencial de orégano poderia ser um importante adjuvante na manutenção do metabolismo das aves, sem, entretanto, demandar grande mobilização de energia, reduzindo os prejuízos no crescimento e na produção.

Contudo, outros estudos devem ser conduzidos com o intuito de estabelecer as melhores combinações, doses e forma de administração do óleo e/ou de seus principais componentes químicos na alimentação de animais de produção, para alcançar resultados mais consistentes e que possam ser extrapolados para a rotina do produtor.