



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE TANGARÁ DA SERRA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Missão da UNEMAT: “Garantir a produção e a difusão do conhecimento através do ensino, pesquisa e extensão, visando o desenvolvimento sustentável.”

Tangará da Serra, 24 de abril de 2019

A/C Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Venho por meio deste solicitar a avaliação do Relatório Final do projeto de pesquisa institucionalizado **“Compostos bioativos da própolis na morfofisiologia do trato gastrointestinal de frangos de corte”** (portaria 3032/2017 e 350/2018).

Profa. Dra. Cristiane Regina do Amaral Duarte
Coordenadora do projeto
Curso de Ciências Biológicas – Tangará da Serra



RELATÓRIO FINAL - PROJETO DE PESQUISA

1 IDENTIFICAÇÃO

- 1.1 Título do Projeto:** Compostos bioativos da própolis na morfofisiologia do trato gastrointestinal de frangos de corte
- 1.2 Nome do Coordenador:** Cristiane Regina do Amaral Duarte
- 1.3 Membros do Projeto:** Cristiane Regina do Amaral Duarte
- 1.4 Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas
- 1.4.1 Subárea do Conhecimento:** Fisiologia
- 1.5 Campus Universitário:** Tangará da Serra
- 1.6 Início:** 26/01/2015
- 1.7 Término:** 31/01/2019
- 1.8 Portaria n°:** 3032/2017 (25/01/2015 a 26/01/2018) e 350/2018 (até 31/01/2019)



2 RELATÓRIO

2.1 Apresentação do trabalho

(Objetivos e Resultados Esperados – máximo de 10 linhas)

A meta deste projeto foi a produção de conhecimento científico sobre os efeitos da suplementação das rações de frangos de corte com os principais compostos bioativos presentes na própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) na morfofisiologia do trato gastrointestinal. Propôs-se a identificação do composto que promovesse melhores resultados na saúde intestinal e processos digestivos e absorptivos, além do nível adequado de inclusão e como consequência, a melhora dos índices produtivos de frangos de corte em diferentes idades.

Assim, esperava-se compreender a interferência desses compostos nos processos fisiológicos que ocorrem no intestino para melhor aproveitamento dos nutrientes.

2.2 Resultados alcançados: (Máximo 01 uma lauda)

(Justificar caso os Resultados Esperados não tenham sido alcançados)

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a inclusão de aproximadamente 225 ppm de ácido cafeico e níveis de até 500 ppm de ácido cinâmico promovem melhor desempenho que em animais alimentados sem inclusão desses ingredientes. Além disso, a inclusão dos produtos testados na ração de frangos de corte modulou a morfologia do trato gastrointestinal e expressão gênica de transportadores e enzimas intestinais, principalmente os relacionados à digestão e absorção de carboidratos pelos animais, o que provavelmente possibilitaria melhor aproveitamento deste nutriente. Considerando que esses componentes estão presentes em vários produtos de origem natural, como a própolis, os resultados são importantes para compreender os vários efeitos já descritos na literatura sobre a inclusão desses produtos e resíduos, por exemplo.

Algumas análises laboratoriais previstas no projeto não foram realizadas conforme ofício (datado de 29/06/2018 e enviado para a PRPPG, em anexo) relatando o desligamento do freezer onde as amostras estavam armazenadas.



2.3 Conclusões (Máximo de 10 linhas)

A partir dos resultados do projeto, pode-se propor novos produtos para nutrição animal, visto que o projeto mostrou que a inclusão dos produtos utilizados pode melhorar o desempenho dos animais e modular a digestão e absorção de carboidratos. Como mencionado, os produtos utilizados ainda possuem alto custo para serem utilizados na produção animal, mas a partir do interesse das empresas do setor, novas tecnologias podem ser criadas e testadas para baratear os custos para uso em larga escala na produção animal. Ou até mesmo, produtos de origem natural que contenham altos níveis desses compostos podem ser utilizados na forma de extratos para potencializar os efeitos.

2.4 Produção gerada (Tecnico-científico) (Quando houver)

Apresentações de Trabalhos: 2018 Poultry Science Association Latin American Scientific Conference

DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; NUNES, K. C.; Hirata, A. K. . DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; NUNES, K. C.; Hirata, A. K. . Quercetin dietary supplementation affects expression of genes involved in carbohydrate digestion and absorption in the broiler small intestine, 2018.

DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M. I.; KHATLAB, A. S.; PICOLI, K. P.. DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M. I.; KHATLAB, A. S.; PICOLI, K. P.. Performance and gene expression of intestinal enzymes and nutrient transporters in chickens fed caffeic acid, 2018.

Trabalho resumidos publicados em anais de eventos: 2018 Poultry Science Association Latin American Scientific Conference

DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; NUNES, K. C.; Hirata, A. K. . DUARTE, C. R. A.; OSPINA-ROJAS, I. C.; MURAKAMI, A.E.; NUNES, K. C.; Hirata,



A. K. . Quercetin dietary supplementation affects expression of genes involved in carbohydrate digestion and absorption in the broiler small intestine, v. 97, p. 49-49, 2018.

DUARTE, C. R. A.; Rojas, I.C.O.; MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M. I.; KHATLAB, A. S.; Picoli, K.P.. DUARTE, C. R. A.; Rojas, I.C.O.; MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M. I.; KHATLAB, A. S.; Picoli, K.P.. Performance and gene expression of intestinal enzymes and nutrient transporters in chickens fed caffeic acid, v. 97, 49 p., 2018.

3. LOCAL, DATA E ASSINATURA

Tangará da Serra, 24 de abril de 2019

Coordenadora do Projeto



PARA PREENCHIMENTO DO AVALIADOR

Resultado da avaliação:

- ☐ Aprovado
- ☐ Aprovado com ressalva
- ☐ Reprovado

Comentários do avaliador

Clique ou toque aqui para inserir o texto.

Título: Compostos bioativos da própolis na expressão gênica de enzimas digestivas e transportadores intestinais de nutrientes e na microbiota intestinal de frangos de corte

Coordenadora: Profa. Dra. Cristiane Regina do Amaral Duarte (UNEMAT/Tangará da Serra)

Equipe: Dra. Alice Eiko Murakami (UEM)
Dr. Iván Camilo Ospina Rojas (UEM)
Dra. Cinthia Eyng (UNIOESTE)

Processo: 449463/2014-1

Período de execução do projeto: 26/01/2015 a 31/01/2019 (pedido de prorrogação efetuado em 27/12/2017)

JUSTIFICATIVA DO PEDIDO DO PRORROGAÇÃO E JUSTIFICATIVA PARA AS ALTERAÇÕES NO PROJETO

O presente projeto foi aprovado em novembro de 2014 e começou a vigência em 26/01/2015. Os recursos aprovados (R\$25.000,00, sendo R\$ 22.000,00 de material de consumo e R\$ 3.000,00 de material permanente) começaram a ser liberados em 19/08/2016, com R\$ 2.886,40 para material de custeio e R\$ 3.000,00 para material permanente. O restante do valor para compra de material de consumo (R\$ 19.113,60) foi liberado em 24/11/2016.

Os reagentes/ingredientes da ração para início do experimento de campo custaram aproximadamente R\$ 3.200,00. Os 350 pintinhos comprados para os experimentos custaram R\$ 801,50. Soma-se a isso, a compra de itens como bebedouros, comedouros e outros materiais necessários para a execução do experimento e coleta de material biológico para as análises. O total gasto apenas com os experimentos a campo e coleta aos 21 dias de idade foi de aproximadamente R\$ 6.000,00, assim, os experimentos só puderam ser iniciados apenas após a segunda liberação de recurso (24/11/2016), com 22 meses de atraso, devido à falta de recurso para início dos experimentos.

Na proposta inicial do projeto, seriam realizados quatro experimentos com utilização de ácido cafeico e quercetina na alimentação de frangos de corte, sendo dois experimentos na fase inicial e dois na fase final de crescimento para cada um dos ingredientes. Devido ao corte de R\$ 5.000,00 no orçamento solicitado, atraso no repasse do dinheiro e aumento no preço dos ingredientes e grande consumo de ração das aves na fase final do desenvolvimento, houve uma alteração no projeto. Ao invés de dois produtos (quercetina e ácido cafeico), o ácido cinâmico foi incluído no projeto, com execução de três experimentos na fase inicial. A alteração do projeto para a fase inicial da criação de frangos de corte também se justifica do ponto de vista fisiológico, pois na fase inicial as aves apresentam um rápido crescimento do trato gastrointestinal e grandes alterações nas funções absorptivas e digestivas, o que é de fundamental importância para o desenvolvimento ao longo de todo o período de criação.

Além disso, quando do pedido do projeto, a proponente atuava como pós-doutoranda na Universidade Estadual de Maringá, sendo nomeada em março de 2016 para vaga de docente da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), campus de Tangará da Serra. Quando o restante do recurso foi liberado, os experimentos tiveram que ser replanejados para execução na Universidade Estadual de Maringá de acordo com o calendário acadêmico da UNEMAT para que não houvesse comprometimento das atividades docentes da proponente. Além disso, as análises de expressão gênica foram realizadas na Universidade Estadual de Maringá em agosto de 2017. Para as demais análises laboratoriais previstas no projeto, a UNEMAT de Tangará da Serra possuía a infraestrutura adequada, sendo assim, em janeiro de 2018, em retorno do recesso de Natal e Ano Novo, as amostras foram trazidas da UEM para a UNEMAT de Tangará da Serra, com os devidos cuidados para evitar o descongelamento das amostras. A compra de gelo seco foi planejada de modo a ser retirado em Maringá e para que durasse de todo o trajeto da viagem de 2 dias via rodoviária, com todos os custos por conta própria. As amostras foram armazenadas no freezer do Laboratório de Solos até a compra do freezer e da geladeira para armazenamento de amostras e reagentes do projeto previstos no orçamento.

Em março de 2018, o freezer e a geladeira foram comprados, conforme recurso liberado pelo CNPq (R\$ 3.000,00), e as amostras foram transferidas para o mesmo com o devido cuidado para evitar o descongelamento.

No dia 21 de junho de 2018, fui informada pela técnica de laboratório que o freezer estava desligado da tomada e que todas as amostras estavam completamente descongeladas e em estado de decomposição.

Com o desligamento do freezer, foram perdidas amostras do projeto financiado, cujas análises seriam realizadas a partir de agosto. Assim, as análises para mensuração da atividade das dissacaridases intestinais e das enzimas digestivas pancreáticas, e da caracterização da microbiota intestinal dos frangos de corte alimentados com quercetina, ácido caféico e ácido cinâmico, que seriam realizadas a partir de agosto de 2018 no laboratório de microbiologia, não puderam ser realizadas, pois as amostras se descongelaram completamente. O campus de Tangará da Serra e o Pró-reitor foram notificados (ofício em anexo) quanto ao desligamento e as perdas de amostras, no entanto, quando houve resposta ao ofício, nada foi apurado, até porque a universidade não conta com câmeras de vigilância.

INTRODUÇÃO

A produção brasileira de frangos de corte encontra-se em destaque no mercado nacional e internacional, com produção aproximada de 13,5 milhões de toneladas de carne (AVISITE, 2017a) e exportação de 32% desse montante (AVISITE, 2017b), consolidando-se como maior exportador mundial de carne de frango e com papel determinante no resultado das exportações do agronegócio brasileiro. Para que o crescimento da produção continue a ocorrer nos próximos anos, são necessários estudos que enfoquem os efeitos da nutrição na morfofisiologia do trato gastrointestinal, principalmente nos processos digestivos e absorptivos e modulação da microbiota intestinal, viabilizando, assim, a melhora dos índices produtivos.

A utilização de produtos naturais na alimentação de aves tem sido foco de pesquisas com o intuito de reduzir a utilização de antibióticos e promover melhorias na saúde intestinal dos animais. Neste sentido, a própolis, substância resinosa e balsâmica produzida pelas abelhas pela combinação de substratos retirados de exsudatos vegetais, cera, pólen e secreções salivares (Salatino *et al.*, 2005) tem se mostrado como uma alternativa devido às suas propriedades terapêuticas e biológicas que podem promover a saúde dos animais e manter o ambiente intestinal saudável. As suas principais atividades terapêuticas estão associadas às suas ações como antibacteriana, antioxidante (Cabral *et al.*, 2009), antiviral, antiinflamatória (Marcucci, 1996), antifúngica (Longhini *et al.*, 2007), imunoestimulante (Taheri *et al.*, 2005), entre outras.

Estas propriedades são atribuídas aos 300 compostos isolados, que incluem ácidos fenólicos, flavonóides, ésteres, aldeídos aromáticos, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas e minerais (Bankova *et al.*, 2000; Menezes, 2005; Lotfy, 2006). O grupo dos

flavonoides tem sido o mais estudado como potente antioxidante, e também por interferir em diversos processos fisiológicos, como no metabolismo de carboidratos, com propriedade antihiperglicêmica em ratos (Matsui *et al.* 2004).

A ação destes importantes compostos da própolis incluídos na ração de frangos de corte poderia aumentar a eficiência produtiva por melhorar a saúde intestinal. A saúde intestinal pode ser modulada pelo controle do crescimento de microorganismos patogênicos no trato gastrointestinal, o que beneficiaria as funções absorptivas e digestivas, com consequente aumento do desempenho.

Alguns autores relatam que a inclusão da própolis melhora o status imunitário de aves (Ziaraan *et al.*, 2005; Freitas *et al.*, 2011), o desempenho de poedeiras e frangos de corte (Shalmany & Shivazad, 2006; Tatli Seven *et al.*, 2008; Cetin *et al.*, 2010; Tekeli *et al.*, 2011), a atividade antioxidante de frangos expostos a estresse oxidativo (Tatli-Seven *et al.*, 2008; Tatli-Seven *et al.*, 2009; Seven *et al.*, 2010) e atua na morfologia do fígado prevenindo lesões em decorrência de obesidade em frangos (Babinska *et al.*, 2013). Em contrapartida, outros estudos afirmam que a inclusão de própolis bruta e extrato etanólico da própolis não é recomendada para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade (Duarte *et al.*, 2014; Eyng *et al.*, 2014). Apesar das observações relatadas por Eyng *et al.* (2014) não serem positivas quanto ao desempenho, o trabalho foi pioneiro ao correlacionar os efeitos da própolis sobre a morfofisiologia intestinal de frangos de corte com melhora na morfologia intestinal e na atividade de enzimas digestivas. Embora os efeitos da própolis já tenham sido relatados por vários autores, alguns deles são contraditórios devido à grande variação na composição da própolis e nos níveis de inclusão estudados. Assim, estudos que avaliem os efeitos dos seus principais compostos bioativos isoladamente no desempenho são de grande interesse para se estabelecer os níveis ideais dos mesmos e, também, quais compostos são responsáveis pelos principais efeitos da própolis no trato gastrointestinal e, conseqüentemente, no desempenho produtivo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os antibióticos promotores de crescimento foram amplamente utilizados nas rações de aves nos últimos anos. Foi bem estabelecido que a sua utilização controla a colonização de microorganismos patogênicos no trato gastrointestinal, com consequente melhora do desempenho produtivo. No entanto, recentemente, houve uma grande

preocupação com a possibilidade de que resíduos destes medicamentos permanecessem na carne e que pudessem ocasionar resistência cruzada em humanos. Assim, diversos países proibiram o uso dos antibióticos na criação de aves. Esta proibição fez com que houvesse grande interesse na comunidade científica em encontrar substitutos naturais, que não comprometessem a saúde humana e que melhorassem o desempenho dos animais assim como os antibióticos promotores de crescimento.

Dentre as alternativas naturais, a própolis, substância resinosa e balsâmica produzida pelas abelhas pela combinação de extratos extraídos de plantas, cera, pólen e secreções salivares, despertou grande interesse para ser utilizada nas rações devido aos seus compostos bioativos e à sua interferência em diversos processos fisiológicos.

A própolis bruta é composta basicamente por resinas e bálsamos, ceras, óleos essenciais e grãos de pólen (Funari & Ferro, 2006). Além destes compostos, elementos como minerais (Cu, Mn, Fe, Ca, Al, V, Si) e vitaminas do complexo B (B1, B2 e B6), C e E também podem ser encontrados (Menezes, 2005; Marcucci, 1996). No entanto, a composição da própolis varia muito de acordo com a flora local, características climáticas e geográficas e a genética das abelhas (Bankova, 2005; Sousa *et al.*, 2007).

A própolis é utilizada desde a Grécia Antiga como cicatrizante (Pereira *et al.*, 2002). Atualmente, sabe-se que a própolis atua nos organismos como potente antimicrobiano (Fernandes Júnior *et al.*, 2006), antioxidante (Cabral *et al.*, 2009), imunomodulador (Fischer *et al.*, 2008), anti-inflamatório (Almeida & Menezes, 2002) e antiviral (Marcucci, 1996). Estas propriedades biológicas são atribuídas à complexa composição química da própolis, que possui mais de 300 compostos isolados, entre eles, ácidos fenólicos, flavonóides, ésteres, aldeídos aromáticos, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas e minerais (Bankova *et al.*, 2000; Menezes, 2005; Lotfy, 2006). Dentre os flavonóides da própolis, são encontrados a quercetina, galangina, tectocrisina, pinocembrina, campferol. Os ácidos fenólicos geralmente encontrados na composição da própolis são o ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cinâmico e ácido cumárico.

A utilização da própolis nas rações de aves, principalmente em frangos de corte, já tem sido estudada, no entanto, os resultados ainda são controversos. Alguns resultados positivos da própolis na alimentação de frangos de corte foram publicados por Shalmany & Shivazad (2006), que mostraram que a utilização de extrato da própolis até o nível de 250 ppm melhora o desempenho de frangos de corte. Similarmente, foi mostrado que a ingestão de própolis melhora os índices produtivos de frangos de corte em condição de estresse calórico (Tatli Seven *et al.*, 2008). No entanto, outros autores mostraram que a

utilização de própolis bruta e extrato da própolis não é recomendada para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade (Duarte *et al.*, 2014; Eyng *et al.*, 2014). Eyng *et al.* (2014) também avaliaram a morfometria intestinal e a atividade de enzimas digestivas e mostraram que a utilização de extrato da própolis melhora os parâmetros de morfometria intestinal e modula a atividade das dissacaridases intestinais. De modo similar, a inclusão de própolis bruta nas dietas de frangos de corte de 1 a 21 dias alterou a morfofisiologia do trato gastrointestinal de frangos de corte (Duarte *et al.*, 2014).

O efeito da própolis e de seus compostos bioativos na morfofisiologia do trato gastrointestinal é esperado, visto que a própolis e alguns de seus compostos bioativos atuam como inibidores das α -glicosidades no intestino delgado promovendo diminuição na digestão de carboidratos a monossacarídeos absorvíveis e, consequentemente decréscimo ou retardo na absorção destes (Matsui *et al.*, 2004). Estes autores sugerem ainda que a família de compostos do ácido cafeoilquínico pode ser a responsável por este efeito. Além disso, grande quantidade de compostos fenólicos presentes na própolis afetam o metabolismo da glicose, através da inibição da absorção no intestino, estimulação da secreção de insulina entre outros mecanismos (Hanhineva *et al.*, 2010).

Além disso, os efeitos benéficos da própolis na morfometria intestinal podem ser devido ao controle da proliferação de bactérias patogênicas no intestino, que podem causar danos à mucosa e reduzir as dimensões das vilosidades, evitando assim, que funções digestivas e absorptivas sejam prejudicadas (Sayrafi *et al.*, 2011). De fato, Eyng (2017) mostrou que a suplementação de própolis bruta de 100 a 500 ppm na alimentação de frango de corte modula a composição da microbiota sem afetar o desempenho.

Do mesmo modo, espera-se que a inclusão da própolis apresente efeito modulador de crescimento, devido à sua alta concentração de flavonoides, que possuem um grupamento hidroxil da aglicona posicionado similarmente aos estrógenos (Havsteen, 2002).

Embora os efeitos da própolis na alimentação de aves tenham sido amplamente estudados, são escassos os estudos que tenham indicado quais dos seus 300 compostos são os principais responsáveis por esses efeitos. Matsui *et al.* (2004) atribuíram os efeitos da própolis na atividade de dissacaridases intestinais à família de compostos do ácido cafeoilquínico.

Alguns compostos dessa família, como o ácido 5-cafeoilquínico, parecem não ser totalmente absorvidos no trato gastrointestinal, permanecendo intactos no intestino delgado, com uma parte hidrolisada pelas estearases da microflora do intestino grosso em

ácido cafeico antes de ser absorvido (Azuma *et al.*, 2000). O ácido cafeico parece ser um importante modulador da atividade das dissacaridasas no intestino, e aparentemente sem efeito sobre a amilase pancreática (Adisakwattana *et al.*, 2009). No entanto, os efeitos do ácido cafeico na atividade dessas enzimas são controversos (Matsui *et al.*, 2004). O ácido cafeico também é produto da metabolização do ester de fenetil do ácido cafeico (CAPE), um dos principais componentes da própolis que previne injúrias intestinais pela redução de processos inflamatórios, peroxidação lipídica e estresse oxidativo (Tayman *et al.*, 2011).

Devido à interação da microbiota com esses compostos, participando da hidrólise desses compostos, espera-se que a composição bacteriana do intestino seja modulada com a suplementação com o ácido cafeico, com possível melhora nos índices produtivos de frangos. De fato, o ácido cafeico apresenta efeito inibitório no crescimento de bactérias patogênicas como *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* entre outras (Rodriguez-Vaquero *et al.*, 2007). Estes autores mostraram ainda que o ácido cafeico não inibe o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* provavelmente devido à sua capacidade de metabolizar ácidos fenólicos.

Outro composto presente na própolis com possíveis efeitos no desempenho e morfofisiologia do trato gastrointestinal é a quercetina. A quercetina é um flavonóide pertencente à classe dos flavonóis e é potencialmente benéfico à saúde humana devido às suas propriedades antioxidantes (Arts *et al.*, 2004) e antibacteriano (Waage & Hedin, 1985). Embora seja mostrado que os flavonóides são pouco absorvidos no trato gastrointestinal (Lorrain *et al.*, 2010), Kahle *et al.* (2011) mostraram que a quercetina foi recuperada no soro e urina de ratos. Em frangos, foi mostrado que a quercetina é metabolizada e absorvida, com detecção dos seus metabólitos no plasma, fígado, carne da coxa e sobrecoxa e duodeno (Rupasinghe *et al.* 2010). Liu *et al.* (2014) mostraram que a suplementação de quercetina na dieta de poedeiras melhora o desempenho produtivo pela modulação do ambiente intestinal. Segundo esses autores, os resultados indicam que a quercetina pode agir como um metabólico prebiótico e que aliado com suas propriedades antibacterianas pode afetar positivamente a microbiota intestinal do ceco. A suplementação de quercetina apropriada para poedeiras, segundo este estudo, é de 0,367 a 0,369 g/kg de ração.

Recentemente, Goliomytis *et al.* (2014) avaliaram o efeito da inclusão de 0,05 e 0,1% de quercetina no desempenho de frangos de corte, qualidade da carne e estabilidade oxidativa e mostraram que houve uma piora na conversão alimentar com o aumento dos

níveis de inclusão, a qual os autores atribuem à metodologia empregada na confecção das rações, com diluição das dietas com quercetina. No entanto, houve redução na taxa de oxidação lipídica da carne, aumentando o tempo de prateleira.

Diante do exposto, observa-se que é de grande valia estudar os efeitos isolados dos compostos bioativos da própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) na alimentação de frangos de corte, e determinar qual possui maior eficácia sobre o desempenho produtivo e na morfofisiologia do trato gastrointestinal. Além disso, este estudo leva em consideração as diferenças na morfofisiologia do trato gastrointestinal e principalmente da microbiota intestinal durante o período de criação, por isso os compostos foram avaliados na fase inicial. Durante os primeiros 21 dias de idade, há um rápido desenvolvimento do trato gastrointestinal, que é de suma importância para o desenvolvimento do animal e desempenho. Após a eclosão, o trato gastrointestinal é rapidamente colonizado por populações microbianas que podem ou não ser benéficas (Gong *et al.*, 2008), sendo que esta colonização é estável a partir dos 14 dias de idade no intestino delgado e entre 14 e 25 dias no ceco (Amit-Romach *et al.*, 2014).

OBJETIVOS E METAS ALCANÇADOS:

Avaliar a utilização dos compostos bioativos da própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) na alimentação de frangos de corte nas fases inicial e seus efeitos na morfofisiologia do trato gastrointestinal.

Objetivos Específicos:

- Avaliar os efeitos dos compostos bioativos da própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) no desempenho produtivo de frangos de corte;
- Analisar os efeitos da suplementação de compostos bioativos da própolis no peso dos órgãos do trato gastrointestinal e morfometria intestinal de frangos de corte;
- Avaliar os efeitos da suplementação de compostos bioativos da própolis na expressão gênica de enzimas digestivas e transportadores intestinais de nutrientes;
- Estabelecer o melhor nível de suplementação para cada um dos compostos bioativos da própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) nas rações de frangos de corte;

- Estabelecer dentre os compostos bioativos da própolis (quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico) quais são responsáveis pelos efeitos da própolis no desempenho e morfofisiologia do trato gastrointestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá.

Experimento I: Utilização da quercetina na alimentação de frangos de corte na fase inicial

Experimento II: Utilização do ácido cafeico na alimentação de frangos de corte na fase inicial

Experimento III: Utilização do ácido cinâmico na alimentação de frangos de corte na fase inicial

Para cada um dos experimentos foram utilizados 100 frangos de corte Cobb-Vantress provenientes de matrizes de 40 semanas, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos (controle + 4 níveis de suplementação), com 5 repetições e 4 aves por unidade experimental. Os níveis de suplementação na dieta foram 50, 200, 350 e 500 ppm.

As aves foram alojadas em gaiolas (80 × 60 cm) em um galpão convencional, com cobertura de telha fibrocimento, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 0,40 metros de altura. Os pisos das gaiolas foram forrados com papel pardo e maravalha, sendo revolvidos e substituídos semanalmente ou de acordo com a necessidade. As gaiolas foram equipadas com comedouros de cano de PVC e bebedouros infantis, os quais tiveram suas alturas ajustadas durante o experimento de modo a garantir o acesso à água. Para o aquecimento inicial dos pintos foram utilizadas lâmpadas infravermelhas dispostas em um suporte de madeira posicionado na parte superior das gaiolas.

As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas a base de milho e farelo de soja de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as recomendações nutricionais para frangos de corte machos de desempenho médio propostas por Rostagno *et al.* (2011) de 1 a 21 dias de idade.

Aos 21 dias de idade, duas aves por gaiola foram selecionadas aleatoriamente

representando cada tratamento, com peso representativo (média±5%), para avaliação da morfofisiologia intestinal.

Tabela 1- Composição percentual e calculada das rações experimentais para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.

¹Suplemento vitamínico e mineral Inicial (Conteúdo por kg de ração): Vit. A (acetato de retinol), 2167 UI; Vit. D3 (colecalfiferol), 1233 UI; Vit. E (acetato de dl- α -tocoferol), 3500 UI; Vit. K3 (menadiona

Ingredientes	Controle
Milho Grão	57,69
Farelo de soja (45%)	36,17
Óleo de Soja	2,043
Fosfato Bicálcico	1,709
Calcário	0,816
Sal comum	0,494
L-Lys HCL 78,5%	0,262
DL-Met 99%	0,325
L-Thr 98%	0,086
Suplemento mineral/vitamínico ¹	0,400
Composição calculada	
EM, kcal/kg	2.975
Proteína Bruta, %	21,77
Cálcio, %	0,870
Fósforo disponível, %	0,431
Sódio, , %	0,215
Lisina digestível, %	1,242
Met+Cis digestível, %	0,895
Treonina digestível, %	0,808

dimetilpirimidinol), 1,7 mg; Vit. B1 (tiamina mononitrato), 1,6 mg; Vit. B12 (cianocobalamina), 16,7 μ g; riboflavina, 5,3 mg; piridoxina, 4 mg; niacina (niacinamida), 36 mg; ácido pantotênico, 13 mg; ácido fólico, 0,8 mg; d-biotina, 0,1 mg; cloreto de colina, 270; BHT (hidroxitolueno butilado), 5,8 mg; Fe (ferro sulfato de mono-hidrato), 50 mg; Cu (sulfato de cobre penta-hidratado), 12 mg; I (iodato de cálcio), 0,9 mg; Zn (óxido de zinco), 50 mg; Mn (óxido de manganês), 60 mg; Se (Selenito de sódio), 0,2 mg; Co (sulfato de cobalto), 0,2 mg.

VARIÁVEIS AVALIADAS

1 - Desempenho

Foram avaliados ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade. As pesagens das aves e das rações experimentais foram realizadas semanalmente para determinação do consumo de ração e conversão alimentar.

A mortalidade das aves foi registrada diariamente para cálculo do consumo de ração corrigido.

2 - Análise da morfofisiologia do trato gastrointestinal

Para a avaliação da morfofisiologia do trato gastrointestinal através das análises citadas abaixo, foram coletados fragmentos de mucosa do jejuno e o pâncreas de duas aves por unidade experimental.

2.1. Peso relativo dos órgãos do trato gastrointestinal

Os órgãos do trato gastrointestinal (proventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, pâncreas e fígado) de duas aves por gaiola (10 aves por tratamento) foram coletados para determinação do peso relativo (% do peso vivo) dos órgãos e comprimento do intestino delgado.

2.2. Análise morfométrica

Os fragmentos da região medial do jejuno foram coletados e lavados em solução salina, fixadas em formol 10%, e em seguida desidratadas em uma série de concentrações crescentes de alcoóis, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram feitos cortes histológicos transversais e semi-seriados, com cinco micrômetros de espessura corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. A captura de imagens para análise morfométrica foi realizada através de câmera digital de alta resolução, acoplada à microscópio. Para a leitura das imagens foi utilizado um analisador de imagem computadorizado.

Foram analisadas 60 lâminas por colheita (cinco tratamento x 12 aves), sendo realizadas 60 medidas (30 medidas para altura de vilo e 30 para profundidade de cripta). As alturas dos vilos foram medidas a partir da região basal do vilo, coincidente com a porção superior das criptas, até seu ápice. As criptas foram medidas da sua base até a região de transição cripta:vilo.

2.3. Expressão gênica de transportadores de nutrientes

Após o sacrifício, uma porção do jejuno, de 5 aves dos tratamentos controle e com inclusão de 200 e 500 ppm de cada um dos ingredientes, totalizando 15 aves por ingrediente, foi coletada para análise da expressão gênica de enzimas (aminopeptidase, maltase e complexo sacarase-isomaltase) e transportadores intestinais (SGLT1, GLUT2, PEPT1). A mucosa foi raspada e congelada em freezer -80° C até o momento das análises. A mucosa foi submetida ao protocolo Trizol (Invitrogen®) de extração de RNA total e a expressão gênica investigada por PCR em tempo real.

Extração de RNA (Protocolo Trizol – Invitrogen®) e reação de transcrição reversa (Protocolo Superscript III - Invitrogen®)

A extração de RNA foi realizada segundo o protocolo Trizol Invitrogen®. Ao final da extração, as amostras de RNA total foram solubilizadas em água ultra-pura (Invitrogen), de acordo com o tamanho do pellet de RNA. As concentrações das amostras de RNA total foram mensuradas no equipamento Nanodrop 2000.

As amostras de RNA total foram tratadas com DNase antes de serem submetidas ao RT-PCR. Conforme as instruções do protocolo DNase I – Amplification Grade (Invitrogen®), o volume da solução de RNA total tratado com DNase foi calculado a fim de conter 1µg de RNA total. A este volume, foi adicionado 1µl de tampão DNase, 1µl de DNase I (1unidade/µl) e água ultrapura suficiente para completar 10µl.

Essa solução permaneceu em temperatura ambiente durante 15 minutos e, em seguida, foi acrescido 1µl de EDTA (25mM) e incubada a 65°C por 10 minutos para inativação da enzima. Após esse procedimento, as amostras foram transferidas para o gelo e imediatamente submetidas à reação de transcrição reversa. Para a reação de transcrição reversa (RT), foi utilizado o “kit” SuperScript™ III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen®), de acordo com o protocolo do kit. As amostras foram armazenadas em freezer (-20° C) até o momento das análises.

Investigação da expressão gênica por PCR em tempo real

A expressão dos genes alvo foi investigada por ensaio de PCR em tempo real a partir de RNAm proveniente da mucosa raspada de fragmentos de jejuno. Para a amplificação dos genes foi utilizado o sistema Power Sybr®Green PCR Master Mix (Applied Biosystem) no aparelho StepOnePlus (Applied Biosystem), juntamente com os oligonucleotídeos iniciadores correspondentes (Tabela 2).

Análise dos dados de PCR em tempo real

Um “pool” de todas as amostras foi feito para construção de uma curva padrão com 5 pontos (200, 100, 50, 25 e 12,5 ng de cdna) para cálculo da eficiência de cada oligonucleotídeo iniciador. Diferenças na taxa de expressão dos genes foram normalizadas pela frequência de expressão β -actina (gene constitutivo). A expressão relativa dos genes analisados foi determinada pelo método de Pfaffl.

Tabela 2. Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores (S: oligonucleotídeo iniciador “sense” A: oligonucleotídeo iniciador “antisense”).

Gene	Sequência	Tamanho fragmento (pb)
β -actina*	S 5' CACAGATCATGTTTGAGACTT 3' A 5' CATCACAATACCAGTGGTACG 3'	101
Maltase**	S 5' TTGCCTCCCGGATACTCAGTGTTT 3' A 5' TTAGCAGCGCATCCAGGAAGTT 3'	113
Complexo sacarase- isomaltase **	S 5' ACAGCAAATCGCTTCCGGTT 3' A 5' AAAGCACTTTCCCGCTCACT 3'	175
Aminopeptidase *	S 5' AATACGCGCTCGAGAAAACC 3' A 5' AGCGGGTACGCCGTGTT 3'	70
SGLT1*	S 5' GCCGTGGCCAGGGCTTA 3' A 5' CAATAACCTGATCGTTGCACCAGTA 3'	66
GLUT2*	S 5' CACACTATGGGCGCATGCT 3' A 5' ATTGTCCCTGGAGGTGTTGGT 3'	68
PEPT1*	S 5' CCCCTGAGGAGGATCACTGTTGGCATGTT 3' A 5' CAAAAGAGCAGCAGCAACGA 3'	66

* Sequência de oligonucleotídeos publicadas por Gilbert *et al.*, 2007.

** Sequência de oligonucleotídeos publicadas por Duarte *et al.*, 2011.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Como procedimento estatístico, para os dados obtidos em cada parâmetro, que apresentarem distribuição normal, foi aplicado o teste de Dunnett ao nível de 5% de

significância para comparar os níveis de inclusão com o tratamento controle, com exceção dos dados de expressão gênica que foi utilizado $p < 0,10$. Para avaliar o melhor nível de inclusão, os parâmetros avaliados foram desdobrados em polinômios ortogonais permitindo a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG®.

RESULTADOS

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade alimentados com diferentes níveis de ácido cafeico na dieta (média \pm ep).

Ácido cafeico (ppm)	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar
1 a 7 dias				1 a 21 dias			
0	45,60 \pm 0,19	136,03 \pm 2,57	157,00 \pm 8,31	1,156 \pm 0,069	710,97 \pm 4,53	1027,50 \pm 20,68	1,445 \pm 0,027
50	45,70 \pm 0,20	133,50 \pm 1,36	161,90 \pm 8,84	1,212 \pm 0,063	758,70 \pm 21,47*	1014,47 \pm 20,24	1,338 \pm 0,013*
200	45,20 \pm 0,12	133,70 \pm 3,98	155,80 \pm 3,23	1,169 \pm 0,038	743,33 \pm 14,78	1008,43 \pm 22,14	1,358 \pm 0,027*
350	45,25 \pm 0,14	130,42 \pm 1,51	146,75 \pm 8,24	1,125 \pm 0,064	759,54 \pm 3,51*	1030,88 \pm 10,65	1,357 \pm 0,020*
500	45,40 \pm 0,19	132,80 \pm 0,72	151,80 \pm 1,15	1,143 \pm 0,009	706,57 \pm 9,31	986,97 \pm 8,46	1,397 \pm 0,015
CV (%)	0,89	3,82	9,10	9,40	4,51	3,86	4,20
ANOVA	Ns	ns	ns	ns	0,02	ns	0,01
Linear	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrática	Ns	ns	ns	ns	0,003 ¹	ns	0,002 ²

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

¹y=-0,0007x²+0,3136x+723,43; r²=0,79; Ponto de máximo: 224ppm.

²y=+0,000001x²-0,0005x+1,4112; r²=0,82; Ponto de mínimo: 250ppm.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade alimentados com diferentes níveis de ácido cinâmico na dieta (média \pm ep).

Ácido cinâmico (ppm)	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar
1 a 7 dias				1 a 21 dias			
0	45,60 \pm 0,19	136,03 \pm 2,57	157,00 \pm 8,31	1,156 \pm 0,069	710,97 \pm 4,53	1027,50 \pm 20,68	1,445 \pm 0,027
50	45,50 \pm 0,16	141,40 \pm 2,35	156,80 \pm 2,59	1,109 \pm 0,016	739,13 \pm 18,49	1042,20 \pm 34,16	1,409 \pm 0,020
200	45,20 \pm 0,12	137,30 \pm 2,29	149,70 \pm 2,63	1,092 \pm 0,029	753,10 \pm 14,47	1026,97 \pm 18,24	1,364 \pm 0,006*
350	45,63 \pm 0,24	134,00 \pm 2,30	160,25 \pm 6,43	1,196 \pm 0,042	777,42 \pm 23,19*	1084,37 \pm 25,65	1,396 \pm 0,023
500	45,70 \pm 0,12	135,10 \pm 3,16	147,20 \pm 3,18	1,090 \pm 0,011	775,37 \pm 5,21*	1041,27 \pm 22,19	1,343 \pm 0,025*
CV (%)	0,82	4,22	7,31	7,86	5,04	5,12	4,07
ANOVA	Ns	ns	ns	ns	0,02	ns	0,02
Linear	Ns	ns	ns	ns	0,001 ³	ns	0,004 ⁴
Quadrática	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

³y=0,12x+724,36; r²=0,92.

⁴y=-0,0002x+1,4261; r²=0,77.

Tabela 5. Desempenho de frangos de corte de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade alimentados com diferentes níveis de quercetina na dieta (média \pm ep).

Quercetina (ppm)	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar
1 a 7 dias				1 a 21 dias			
0	45,60 \pm 0,19	136,03 \pm 2,57	157,00 \pm 8,31	1,156 \pm 0,069	710,97 \pm 4,53	1027,50 \pm 20,68	1,445 \pm 0,027
50	45,40 \pm 0,10	145,10 \pm 3,30	158,60 \pm 4,79	1,093 \pm 0,013	724,60 \pm 14,05	1025,80 \pm 4,09	1,418 \pm 0,031
200	45,60 \pm 0,19	136,10 \pm 1,78	154,20 \pm 1,72	1,133 \pm 0,007	732,27 \pm 8,71	1026,50 \pm 8,27	1,403 \pm 0,022
350	45,50 \pm 0,00	132,71 \pm 4,43	142,62 \pm 4,07	1,075 \pm 0,008	754,75 \pm 18,07	1019,63 \pm 7,76	1,353 \pm 0,024
500	45,70 \pm 0,12	136,30 \pm 4,28	154,90 \pm 4,84	1,137 \pm 0,016	737,47 \pm 25,18	1038,27 \pm 37,02	1,408 \pm 0,013
CV (%)	0,67	5,72	7,71	6,63	4,70	4,02	4,00
ANOVA	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Linear	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrática	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tabela 6. Comprimento do intestino delgado (CID) e peso relativo (%) dos órgãos do trato gastrointestinal (proventrículo, moela, intestino delgado e intestino grosso) e glândulas anexas (fígado e pâncreas) de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cafeico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cafeico (ppm)	CID	Proventrículo	Moela	ID	IG	Pâncreas	Fígado
0	142,40 \pm 3,11	0,53 \pm 0,02	2,48 \pm 0,11	4,28 \pm 0,15	0,19 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	2,35 \pm 0,06
50	146,20 \pm 4,49	0,56 \pm 0,01	2,03 \pm 0,13*	4,52 \pm 0,08	0,20 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	2,62 \pm 0,18
200	147,20 \pm 3,73	0,57 \pm 0,03	2,31 \pm 0,05	3,90 \pm 0,26	0,19 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	2,55 \pm 0,12
350	159,00 \pm 5,30	0,49 \pm 0,01	2,44 \pm 0,08	4,16 \pm 0,05	0,15 \pm 0,01	0,27 \pm 0,02	2,24 \pm 0,14
500	144,00 \pm 5,83	0,49 \pm 0,02	2,51 \pm 0,04	4,47 \pm 0,18	0,18 \pm 0,01	0,30 \pm 0,03	2,11 \pm 0,12
CV (%)	7,82	10,04	11,06	10,33	16,00	14,39	14,54
ANOVA	Ns	ns	0,008	ns	ns	ns	ns
Linear	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrática	Ns	ns	0,01 ⁵	ns	ns	ns	0,05 ⁶

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

⁵y=0,000002x²-0,0007x+2,3209; r²=0,52; Ponto de mínimo: 175ppm.

⁶y=-0,000003x²+0,0008x+2,4751; r²=0,84; Ponto de máximo: 133ppm.

Tabela 7. Comprimento do intestino delgado (CID) e peso relativo (%) dos órgãos do trato gastrointestinal (proventrículo, moela, intestino delgado e intestino grosso) e glândulas anexas (fígado e pâncreas) de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cinâmico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cinâmico (ppm)	CID	Proventrículo	Moela	ID	IG	Pâncreas	Fígado
0	142,40 \pm 3,11	0,53 \pm 0,02	2,48 \pm 0,11	4,28 \pm 0,15	0,19 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	2,35 \pm 0,06
50	152,60 \pm 2,80	0,55 \pm 0,04	2,12 \pm 0,09*	4,23 \pm 0,22	0,19 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	2,44 \pm 0,05
200	149,67 \pm 5,30	0,51 \pm 0,02	2,21 \pm 0,07*	4,34 \pm 0,20	0,19 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	2,70 \pm 0,08
350	146,00 \pm 2,88	0,57 \pm 0,01	2,23 \pm 0,07	4,56 \pm 0,13	0,18 \pm 0,01	0,28 \pm 0,02	2,41 \pm 0,12
500	155,60 \pm 6,89	0,57 \pm 0,04	2,44 \pm 0,04	3,84 \pm 0,13	0,20 \pm 0,00	0,30 \pm 0,02	2,58 \pm 0,13
CV (%)	7,16	11,11	9,93	10,09	9,54	11,61	9,68
ANOVA	Ns	ns	0,03	ns	ns	ns	ns
Linear	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Quadrática	Ns	ns	0,003 ⁷	ns	ns	ns	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

⁷y=-0,000004x²+0,002+2,3815; r²=0,85; Ponto de máximo: 250ppm.

Tabela 8. Comprimento do intestino delgado (CID) e peso relativo (%) dos órgãos do trato gastrointestinal (proventrículo, moela, intestino delgado e intestino grosso) e glândulas anexas (fígado e pâncreas) de frangos alimentados com diferentes níveis de quercetina na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Quercetina (ppm)	CID	Proventrículo	Moela	ID	IG	Pâncreas	Fígado
0	142,40 \pm 3,11	0,53 \pm 0,02	2,48 \pm 0,11	4,28 \pm 0,15	0,19 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	2,35 \pm 0,06
50	146,33 \pm 6,40	0,52 \pm 0,04	2,31 \pm 0,09	4,23 \pm 0,11	0,19 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	2,26 \pm 0,12
200	157,67 \pm 2,60	0,56 \pm 0,04	2,35 \pm 0,07	4,95 \pm 0,28	0,19 \pm 0,00	0,29 \pm 0,02	2,53 \pm 0,13
350	148,00 \pm 4,20	0,50 \pm 0,03	2,44 \pm 0,15	4,37 \pm 0,11	0,20 \pm 0,01	0,27 \pm 0,03	2,52 \pm 0,12
500	150,20 \pm 2,62	0,55 \pm 0,04	2,18 \pm 0,08	3,89 \pm 0,14	0,15 \pm 0,01*	0,29 \pm 0,01	2,54 \pm 0,13
CV (%)	7,00	15,49	10,44	11,31	13,59	11,58	11,17
ANOVA	Ns	ns	ns	0,005	0,006	ns	ns
Linear	Ns	ns	ns	ns	0,005 ⁹	ns	ns
Quadrática	Ns	ns	ns	0,002 ⁸	ns	ns	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

⁸y=-0,00001x²+0,0049+4,2018; r²=0,64; Ponto de máximo: 245ppm.

⁹y=-0,00007x+0,1962; r²=0,50.

Tabela 9. Comprimento de vilo, profundidade de cripta e razão vilo/cripta do jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cafeico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cafeico (ppm)	Comprimento de vilo	Profundidade de cripta	Razão vilo/cripta
0	426,25 \pm 10,03	56,32 \pm 4,06	7,69 \pm 0,46
50	427,31 \pm 29,32	53,01 \pm 3,70	8,21 \pm 0,77
200	497,71 \pm 38,40	51,60 \pm 5,62	9,75 \pm 0,47
350	488,70 \pm 3,96	55,80 \pm 4,21	8,93 \pm 0,79
500	440,04 \pm 28,71	51,63 \pm 4,35	8,60 \pm 0,31
CV (%)	12,84	16,22	15,47
ANOVA	ns	ns	ns
Linear	ns	ns	ns
Quadrática	ns	ns	ns

Tabela 10. Comprimento de vilo, profundidade de cripta e razão vilo/cripta do jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cinâmico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cinâmico (ppm)	Comprimento de vilo	Profundidade de cripta	Razão vilo/cripta
0	426,25 \pm 10,03	56,32 \pm 4,06	7,69 \pm 0,46
50	448,50 \pm 14,99	50,31 \pm 7,11	9,05 \pm 0,98
200	469,21 \pm 50,95	55,09 \pm 4,01	8,49 \pm 0,31
350	514,32 \pm 40,15	57,60 \pm 4,23	9,51 \pm 1,07
500	462,22 \pm 46,05	47,14 \pm 3,31	9,98 \pm 1,24
CV (%)	14,52	15,14	19,56
ANOVA	ns	ns	ns
Linear	ns	ns	ns
Quadrática	ns	ns	ns

Tabela 11. Comprimento de vilo, profundidade de cripta e razão vilo/cripta do jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de quercetina na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Quercetina (ppm)	Comprimento de vilo	Profundidade de cripta	Razão vilo/cripta
0	426,25 \pm 10,03	56,32 \pm 4,06	7,69 \pm 0,46
50	419,00 \pm 41,42	57,75 \pm 9,09	7,32 \pm 0,44
200	506,81 \pm 86,81	54,03 \pm 5,83	9,20 \pm 0,78
350	471,63 \pm 64,03	59,27 \pm 6,82	7,91 \pm 0,24
500	580,58 \pm 52,45	58,05 \pm 3,58	9,96 \pm 0,32*
CV (%)	22,44	16,45	15,75
ANOVA	ns	ns	0,04
Linear	ns	ns	0,02 ¹⁰
Quadrática	ns	ns	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

¹⁰y=-0,0044x+7,3851; r²=0,51.

Tabela 12. Expressão gênica das enzimas intestinais (complexo sacarase-isomaltase, aminopeptidase APN, maltase) e do transportador intestinal de glicose (SGLT1) no jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cafeico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cafeico (ppm)	Sacarase	Maltase	APN	SGLT1	PEPT1	GLUT2
0	0,38 \pm 0,11	0,24 \pm 0,05	0,88 \pm 0,10	0,93 \pm 0,16	1.39 \pm 0.25	1.00 \pm 0.25
200	0,56 \pm 0,11	0,48 \pm 0,12	1,42 \pm 0,35	0,90 \pm 0,27	1.27 \pm 0.27	0.82 \pm 0.32
500	1,20 \pm 0,32*	0,83 \pm 0,41	1,04 \pm 0,11	1,11 \pm 0,32	1.43 \pm 0.22	0.88 \pm 0.34
CV (%)	67,22	99,04	41,16	52,86	32,69	66,56
ANOVA	0,049	ns	ns	ns	ns	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

Tabela 13. Expressão gênica das enzimas intestinais (complexo sacarase-isomaltase, aminopeptidase APN, maltase) e do transportador intestinal de glicose (SGLT1) no jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de ácido cinâmico na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Ácido cinâmico (ppm)	Sacarase	Maltase	APN	SGLT1
0	1,26 \pm 0,88	0,24 \pm 0,05	0,88 \pm 0,10	0,93 \pm 0,16
200	1,29 \pm 0,60	1,34 \pm 0,72	1,71 \pm 0,39	1,20 \pm 0,42
500	1,18 \pm 0,34	1,48 \pm 0,61	0,93 \pm 0,36	0,73 \pm 0,26
CV (%)	93,99	106,96	59,01	60,93
ANOVA	ns	ns	ns	ns

Tabela 14. Expressão gênica das enzimas intestinais (complexo sacarase-isomaltase, aminopeptidase APN, maltase e do transportador intestinal de glicose (SGLT1) no jejuno de frangos alimentados com diferentes níveis de quercetina na dieta (média \pm ep) de 1 a 21 dias de idade.

Quercetina (ppm)	Sacarase	Maltase	APN	SGLT1	GLUT2	PEPT1
0	1,25 \pm 0,88	0,24 \pm 0,05	0,88 \pm 0,10	0,92 \pm 0,15	1,00 \pm 0,25	1,39 \pm 0,25
200	1,05 \pm 0,26	0,81 \pm 0,24	1,40 \pm 0,24	1,82 \pm 0,23*	1,64 \pm 0,35	1,16 \pm 0,23
500	1,35 \pm 0,48	1,53 \pm 0,38*	1,60 \pm 0,26	1,67 \pm 0,28*	2,20 \pm 0,24*	1,18 \pm 0,55
CV (%)	98,19	73,69	38,42	39,19	35,13	43,40
ANOVA	ns	0,053	ns	0,046	0,044	ns

*indica diferença estatística em relação ao grupo controle (0) pelo teste de Dunnett (P<0,05).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADISAKWATTANA, S; CHANTARASINLAPIN, P; THAMMARAT H et al. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, p. 1194-1200, 2009
- ALMEIDA, EC; MENEZES, H. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.8, n.2, p.191-212, 2002.
- AMIT-ROMACH, E, SKLAN, D; UNI, Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, v. 83, p. 1093-1098, 2004.
- ARTS, M JTJ; DALLINGA, SJ; VOSS, HP et al. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. **Food Chemistry**, v. 88, p. 567–570, 2004.
- AVISITE – Estatísticas e Preços. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/economia/index.php?acao=carnefrango>. Acesso em: 14/jun/2014.
- AVISITE – Estatísticas e Preços. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/index.php?page=estatisticaseprecos&acao=carnefrango>. Acesso em: 18/dez/2017a.
- AVISITE – Estatísticas e Preços. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/index.php?page=estatisticaseprecos&acao=exportacao>. Acesso em: 18/dez/2017b.
- AZUMA, K; IPPOUSHI, K; NAKAYAMA, M et al. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5496-5500, 2000. 39-46, 2010.
- BABIŃSKA, I; KLECZEK, K; MAKOWSKI, W et al. Effect of Feed Supplementation with Propolis on Liver and Kidney Morphology in Broiler Chickens. **Pakistan Veterinary Science**, v. 33, n.1, p.1-4, 2013.
- BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p. 29-32, 2005.
- BANKOVA, V; CASTRO, SL; MARCUCCI, MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3-15, 2000.
- CABRAL, ISR; OLDONI, TLC; PRADO, A et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

ÇETIN, E; SILICI, S; ÇETIN, N et al. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. **Poultry Science**, v.89, p.1703-1708, 2010.

DUARTE, CRA; EYNG, C; MURAKAMI, AE, SANTOS, TC. Intestinal morphology and activity of digestive enzymes in broilers fed crude propolis. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 94, p. 1-9, 2014

DUARTE, CRA; VICENTINI-PAULINO, MLM; BURATINI, J JR et al. Messenger ribonucleic acid abundance of intestinal enzymes and transporters in feed-restricted and refed chickens at different ages. **Poultry Science**, v. 90, p. 863-868, 2011.

EYNG, C; MURAKAMI, AE; DUARTE, CRA et al. Effect of dietary supplementation with an ethanolic extract of propolis on broiler intestinal morphology and digestive enzyme activity. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, p. 393-401, 2014.

EYNG, C; MURAKAMI, A; PEDROSO, AA.; DUARTE, CRA.; PICOLI, KP. Caecal microbiota of chickens fed diets containing propolis. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, p. 484-492, 2017.

FERNANDES JÚNIOR, A; LOPES, MMR; COLOMBARI, V et al. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.294-297, 2006.

FISCHER, G; HÜBNER, SO; VARGAS, GD et al. Imunomodulação pela própolis. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.2, p.247-253, 2008.

FRANKS, AH; HARMSSEN, HJM; RAANGS, GC et al. Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, n.9, p. 3336-3345, 1998.

FREITAS, JA; VANAT, N; PINHEIRO, JW et al. The effects of propolis on antibody production by laying hens. **Poultry Science**, v.90, p.1227-1233, 2011.

FUNARI, CS; FERRO, VO. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.171-178, 2006.

GILBERT ER; LI H; EMMERSON DA et al. Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 1739-1753, 2007.

GOLIOMYTIS, M; TSOUREKI, D; SIMITZIS, PE et al. The effects of quercetina dietary supplementarion on broiler growth performance, meat quality, and oxidative

stability. **Poultry Science**, doi: 10.3382/ps.2013-03585. Disponível em: <http://ps.oxfordjournals.org/content/early/2014/06/03/ps.2013-03585.abstract>.

GONG, J; YU, H; LIU, T et al. Effects of zinc bacitracin, bird age and access to range on bacterial microbiota microbiota in the ileum and caeca of broiler chickens. **Journal of Applied Microbiology**, v.104, p. 1372-1382, 2008.

HANHINEVA, K; TÖRRÖNEN, R; BONDIA-PONS, I et al. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.1365-1402, 2010.

HAVSTEEN, B. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v.96, p.67-202, 2002.

KAHLE, K; KEMPF, M; SCHREIER, P et al. Intestinal transit and systemic metabolism of apple polyphenols. **European Journal of Nutrition**, v. 50, p. 507-522, 2011.

LIU, Y; LI, Y; LIU, HN et al. Effect of quercetin on performance and egg quality during the late laying period of hens. **British Poultry Science**, v. 54, p. 510-514, 2013.

LOFTY, M. Biological activity of bee propolis in health and disease. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v.7, p.22-31, 2006.

LONGHINI, R; RAKSA, SM; OLIVEIRA, ACP et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade fúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p. 388-395, 2007.

LORRAIN, B; DANGLES, O; GENOT, C. Chemical modeling of heme-induced lipid oxidation in gastric conditions and inhibition by dietary polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 676–683, 2010.

MARCUCCI, MC. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v.19, n.5, p.529-536, 1996.

MATSUI, T; EBUCHI, S; FUJISE, T et al. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.27, p.1797-1803, 2004.

MEIER, H; AMANN, R; LUDWIG, W et al. Specific oligonucleotide probes for in situ detection of a major group of gram-positive bacteria with low DNA G + C content. **Systematic and Applied Microbiology**, v.22, p. 186-196, 1999.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.405-411, 2005.

MITTELMAN, MW; HABASH, M; LACROIX, JM et al. Rapid detection of Enterobacteriaceae in urine by fluorescent 16S rRNA in situ hybridization on membrane filters. **Journal of Microbiological Methods**, v.30, p. 153-160, 1997.

PEREIRA, AS; SEIXAS, FRMS; AQUINO NETO, FR. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n.2, p. 321-326, 2002.

RODRÍGUEZ-VAQUERO, MJ; ALBERTO, MR; MANCA DE NADRA, MC et al. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control**, v. 18, p. 93-101, 2007.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. L.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa:UFV, 2011. 252p.

RUPASINGHE, HP; RONALDS, CM; RATHGEBER B et al. Absorption and tissue distribution of dietary quercetin and quercetin glycosides of apple skin in broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 90, p. 1172-1178, 2010.

SALATINO, A; TEIXEIRA, EW; NEGRI, G et al. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p.33-38, 2005.

SAYRAFI, R; SHAHROOZ, R; SOLTANALINEJAD, F et al. Histomorphometrical study of the prebiotic effects on intestine morphology and growth performance of broiler chickens. **Veterinary Research Forum**, v.2, n.1, p.45-51, 2011.

SEVEN, I, AKSU, T, TATLI SEVEN, P. The effects of propolis on biochemical parameters and activity of antioxidant enzymes in broilers exposed to lead-induced oxidative stress. **Asian-Australasian. Journal of Animal Sciences**. v.23, p. 1482-1489, 2010.

SHALMANY, SK; SHIVAZAD, M. The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chicks performance. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.1, p.84-88, 2006.

SOUSA, JPB; FURTADO, NAJC; JORGE, R et al. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.85-93, 2007.

TAHERI, HR; RAHMANI, HR; POURREZA, J. Humoral immunity of broilers is affected by oil extracted propolis (OEP) in the diet. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.6, p.414-417, 2005.

TATLI SEVEN, PT; SEVEN, I; YILMAZ, M et al. The effects of Turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.137-148, 2008.

TATLI SEVEN, PT; YILMAZ, S; SEVEN, I et al. Effects of propolis on selected blood indicators and antioxidant enzyme activities in broilers under heat stress. **Acta Veterinaria BRNO**, v.78, p.75-83, 2009.

TAYMAN, C; TONBUL, A; KOSUS, A et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on intestinal damage in necrotizing enterocolitis. **Pediatric Surgery International**, v. 27, p. 1179-1180, 2011.

TEKELI, A; KUTLU, HR; CELIK, L et al. Determination of the effects of *Z. officinale* and propolis extracts on intestinal microbiology and histological characteristics in broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.9, n.9, p.898-906, 2010.

WAAGE, KS; HEDIN, AP. Quercetin 3-O-galactosyl-(1 →6)-glucoside, a compound from narrowleaf vetch with antibacterial activity. **Phytochemistry**, v. 24, p. 243–245, 1985.

ZIARAN, HR; RAHMANI, HR; POURREZA, J. Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broiler performance. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.8, n.10, p.1485-1490, 2005.

Anexo 1. Ofício de notificação do desligamento do freezer e perda das amostras

Ofício nº 001/2018

Tangará da Serra, 29 de junho de 2018

AC:

Prof. Dr. William Krause - Coordenador do Centro de Pesquisa, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambientais (CPEDA)

Prof. Dr. Anderson Fernandes - Diretor Político, Pedagógico e Financeiro do Campus de Tangará da Serra (DPPF)

Tony Hirota Tanaka - Diretor de Unidade Regionalizada Administrativo do Campus Universitário de Tangará da Serra (DURA)

Prof. Dr. Rodrigo Bruno Zanin - Pró-reitor de Pesquisa e Pós Graduação

Eu, Cristiane Regina do Amaral Duarte, docente efetiva do curso de Ciências Biológicas do Campus de Tangará da Serra, e coordenadora do projeto financiado pelo CNPq "Compostos bioativos da própolis na expressão gênica de enzimas digestivas e transportadores intestinais de nutrientes e na microbiota intestinal de frangos de corte" (institucionalizado Portaria Unemat 350/2018, com vigência entre 26/01/2015 a 31/01/2019) e membro de projeto de projeto de pesquisa institucionalizado "Inventário Ictiofaunístico do rio Queima-Pé no município de Tangará de Serra, Mato Grosso" (portarias 268/2016 e 1848/2016) venho por meio deste relatar o ocorrido em 21 de junho de 2018 e solicitar providências.

O projeto "Compostos bioativos da própolis na expressão gênica de enzimas digestivas e transportadores intestinais de nutrientes e na microbiota intestinal de frangos de corte" aprovado em edital Universal (MCTI/CNPq/Universal 14/2014) é realizado em parceria com a Universidade Estadual de Maringá (UEM).

O projeto previa duas etapas principais: a de experimentos a campo e análises laboratoriais. Os experimentos a campo com frangos de corte foram realizados na Fazenda Experimental da UEM, devido à falta de instalações apropriadas na UNEMAT, no período de 13 de março a 12 de abril de 2017. Para tanto, tive que abdicar de duas semanas do meu gozo de férias, com recursos próprios para permanência em Maringá, e atrasar o calendário das disciplinas do semestre de 2017/1, com autorização de colegiado de curso com cronograma prévio de reposição de aulas. Em agosto do mesmo ano, de 21 de agosto a 06 de setembro, novamente, para realizar análises de expressão

10/2
CPED
PD

gênica no intestino dos frangos, abdiquei de uma semana de gozo das férias, com recursos próprios para permanência em Maringá, e atrasei o calendário das disciplinas em uma semana.

Para as demais análises laboratoriais previstas no projeto, a UNEMAT de Tangará da Serra possuía a infraestrutura adequada, sendo assim, em 5 de janeiro de 2018, em retorno do recesso de Natal e Ano Novo, as amostras foram trazidas da UEM para a UNEMAT de Tangará da Serra, com os devidos cuidados para evitar o descongelamento das amostras. A compra de gelo seco foi planejada de modo a ser retirado em Maringá e para que durasse de todo o trajeto da viagem de 2 dias via rodoviária, com todos os custos por conta própria. As amostras foram armazenadas no freezer do Laboratório de Solos até a compra de um freezer e uma geladeira para armazenamento de amostras e reagentes do projeto.

Em março de 2018, o freezer e a geladeira foram comprados, conforme recurso liberado pelo CNPq (R\$ 3.000,00), e as amostras foram transferidas para o mesmo com o devido cuidado para evitar o descongelamento, com as análises previstas para serem realizadas em 2018/2.

Quando da compra dos itens, em consulta ao CPEDA, foi informado que não haviam espaços vagos no CPEDA para alocação dos mesmos e que o único espaço disponível seria o laboratório de Química, se o professor responsável do laboratório concordasse. prontamente, o professor coordenador do laboratório concordou que os itens permanecessem no laboratório, visto que não havia outra opção no centro.

O freezer também era utilizado para armazenamento de peixes coletados no rio Queima Pé, dentro do projeto "Inventário Ictiofaunístico do rio Queima-Pé no município de Tangará de Serra, Mato Grosso" (portarias 268/2016 e 1848/2016)", coordenado pela Profa. Divina Sueide de Godoi e do qual sou membro oficialmente desde 21/09/2016 (Portaria 1848/2016), mas que participo desde o ingresso como docente efetiva na UNEMAT em abril de 2016. O projeto também é parte de três trabalhos de conclusão de curso sob minha orientação e da Profa. Divina Sueide de Godoi e de projeto de dois bolsistas de iniciação científica, sob minha orientação.

Os peixes coletados no período de 21 meses, entre julho de 2016 e abril de 2018, foram armazenados no referido freezer após a compra do mesmo, com aproximadamente 150 peixes por coleta, sendo que alguns foram identificados, medidos e os intestinos coletados e transferidos para eppendorfs para análises posteriores e armazenados no freezer.

nd

CRS

RS

Às 9:44 do dia 21 de junho de 2018, intervalo de aula, recebi o telefonema da PTES Rosângela Madalena Ferreira para me informar que o PTES Edilson Aranha tinha encontrado o freezer alocado no Laboratório de Química desligado da tomada e que todas as amostras que estavam no freezer (anexo 1) estavam completamente descongeladas e em estado de decomposição.

Com o desligamento do freezer, foram perdidas amostras do projeto financiado, cujas análises seriam realizadas a partir de agosto e quase 2 anos de coleta de peixes do rio Queima-Pé. A perda em questão é irreparável do ponto de vista científico, financeiro e institucional.

Ao final da vigência do projeto financiado pelo CNPq, a prestação de contas e o relatório técnico devem ser enviados, conforme previsto em edital:

1.12.3 - Ao final do prazo de execução do projeto, o proponente deverá apresentar a prestação de contas financeira e os relatórios técnicos, em conformidade com o que estiver estabelecido no Termo de Aceitação e demais normas do CNPq, sob pena de ressarcimento dos valores despendidos pelo CNPq e demais penalidades previstas na legislação de regência.

O envio do relatório final para o CNPq está comprometido, pois as análises para mensuração da atividade das dissacarídases intestinais (sacarase e maltase) e das enzimas digestivas pancreáticas (lipase, amilase, tripsina e quimiotripsina), e da caracterização da microbiota intestinal dos frangos de corte alimentados com quercetina, ácido caféico e ácido cinâmico, que seriam realizadas a partir de agosto de 2018, não poderão ser realizadas, pois as amostras se descongelaram completamente. Conforme regulamento do CNPq citado acima, a coordenadora do projeto pode sofrer alguma penalidade, como o ressarcimento dos valores financiados pelo CNPq. Além disso, solicitações de auxílio financeiro em editais futuros pela pesquisadora e pela instituição podem estar comprometidos.

Ainda com relação aos relatórios parciais e finais dos projetos institucionalizados na UNEMAT (portarias UNEMAT 268/2016 e 1848/2016 e 350/2018), haverá comprometimento dos resultados a serem apresentados dentro da própria instituição.

Além disso, o desligamento do freezer resultará em perdas científicas irreparáveis para a pesquisadora, colaboradores e acadêmicos, pois os resultados dos projetos não serão gerados, implicando na perda de trabalhos de conclusão de curso,

Handwritten signatures and initials: "JRP", "CAB", and "R.D." are visible in the bottom right corner of the page.

ausência de apresentações de resultados em congresso, previsto para o próximo ano, e publicações científicas em revistas de alto impacto.

O comprometimento também ocorre em futuras parcerias e intercâmbios com a Universidade Estadual de Maringá, visto que o projeto financiado pelo CNPq era realizado em parceria com a mesma. Houve um investimento alto pela Universidade Estadual de Maringá para a realização dos experimentos a campo. A UEM cedeu como contrapartida, até o momento, as instalações da Fazenda Experimental, os ingredientes das rações, como milho, farelo de soja e aminoácidos sintéticos, assim como, o trabalho de funcionários da fazenda experimental e de pós-graduandos do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e equipamentos para análise de expressão gênica.

A perda das amostras por desligamento de um freezer comprado com recursos do CNPq e mantido dentro do CPEDA é inadmissível e providências devem ser tomadas para que tal fato não se repita.

O freezer e a geladeira em questão estão alocados no laboratório de Química, que é também utilizado para ensino dos cursos de Agronomia, Ciências Biológicas e Enfermagem, com trânsito de várias turmas. Como não há câmeras de vigilância no campus, não existem condições para identificação do causador do dano.

Diante do exposto, venho solicitar:

- 1) A alocação do freezer e da geladeira comprados com recursos de projeto aprovado pelo CNPq em espaço apropriado e reservado para pesquisa científica, onde o fluxo de pessoas seja menor e mais controlado;
- 2) Providências e apuração do ocorrido.



Prof.ª. Dra. Cristiane Regina do Amaral Duarte



Anexo 1:

Relação das amostras alocadas no freezer:

Projeto "Compostos bioativos da própolis na expressão gênica de enzimas digestivas e transportadores intestinais de nutrientes e na microbiota intestinal de frangos de corte"

- 1 caixa de eppendorf contendo plasma de frangos de corte alimentados com quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico para análise bioquímicas de glicemia, colesterol e triglicerídeos;
- 2 sacos plásticos com amostras de intestino delgado, intestino grosso e pâncreas de frangos de corte alimentados com quercetina, ácido cafeico e ácido cinâmico para análise da atividade das dissacaridases intestinais (sacarase e maltase) e das enzimas digestivas pancreáticas (lipase, amilase, tripsina e quimiotripsina) e caracterização da microbiota intestinal

Projeto "Inventário Ictiofaunístico, do rio Queima-Pé no município de Tangará de Serra, Mato Grosso"

- 3 caixas de eppendorf contendo intestino dos peixes coletados no rio Queima Pé em julho e novembro de 2016, para análise da atividade das dissacaridases intestinais (sacarase e maltase);
- 6 sacos plásticos contendo peixes coletados no rio Queima-Pé em fevereiro, maio, julho e outubro de 2017 e janeiro e abril de 2018.

Coordenação do CPEDA
Recebido em 03/03/18

Isadora A. Sderdt

UNEMAT - Tangará de Serra
Diretoria de Unidade Responsável
Política, Pedagogia e Finanças
DOCUMENTO RECEBIDO EM
03/03/2018
Ass: Rafaela Rosta

RECEBI EM
05/03/2018
TORY HIDEKI TANAKA
Diretor Administrativo
UNEMAT - Tangará de Serra
Matr. 120397 Port. 20/2018

CRAS

Metabolism and Nutrition, Nutrition I

99 Quercetin dietary supplementation affects expression of genes involved in carbohydrate digestion and absorption in the broiler small intestine. C. R. do Amaral Duarte^{1*}, I. C. Ospina-Rojas², A. E. Murakami², K. C. Nunes², and A. K. Hirata², ¹Universidade do Estado de Mato Grosso, Tangará da Serra, Mato Grosso, Brazil, ²Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil

Quercetin is a flavonoid compound that can be found in vegetables, fruits, and propolis, and has been described as having anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial properties, among others. There are very few studies that evaluated quercetin in broiler diets. Thus, this study evaluated the effects of quercetin supplementation in the starter diets (1 to 21 d) on gene expression of intestinal enzymes and nutrient transporters in chickens. A total of 60 1-d-old male Cobb chicks were distributed in a randomized experimental design with 3 treatments and 5 replicate pens of 4 birds each. The treatments consisted of 3 quercetin supplementation levels in starter diet (0, 200, and 500 ppm quercetin). At 21 d of age, 5 birds per treatment (one per replicate pen) were selected to determine the relative mRNA abundance of aminopeptidase N (APN), maltase, sucrose-isomaltase (SI) complex, sodium/glucose cotransporter 1 (SGLT1), glucose transporter 2 (GLUT2), and peptide transporter 1 (PepT1) in jejunal mucosa using real-time PCR. All data were analyzed using ANOVA followed by Dunnett's test ($P < 0.05$). The mRNA abundance of maltase and GLUT2 was higher ($P < 0.05$) in jejunal mucosa of birds fed 500 ppm quercetin compared with the control group. The mRNA abundance of SGLT1 was higher in birds fed 200 and 500 ppm ($P < 0.05$). It can be concluded that quercetin supplementation in the broiler diet increases the expression of genes involved in carbohydrate digestion and absorption in the small intestine without affecting protein digestion and absorption in the broiler.

Acknowledgements: CNPq/Brazil

Key Words: flavonoid, gene expression, intestinal

100 Apparent metabolizable energy, ileal digestibility and bone quality of broiler chickens fed maize-based diets supplemented with carbohydrases. M. Alqahtani^{1*}, M. E. B. Abdalla¹, E. Ahiwe¹, E. P. Chang¹, M. Mahelabale¹, M. Bisiyan¹, M. Bedford², and P. Iji^{1,3}, ¹School of Environmental and Rural Science, University of New England, Armidale, Australia, ²AB Vista, Marlborough, United Kingdom, ³College of Agriculture, Fisheries and Forestry, Fiji National University, Koronivia, Fiji

This study was conducted to assess the apparent metabolizable energy (AME), ileal digestibility of nutrients, including amino acids and tibia bone quality of broiler chickens fed maize-based diets supplemented with carbohydrases. A total of 648 mixed-sex Ross 308 broiler chickens were used in a $3 \times 2 \times 2$ (3 levels of phytase, 2 levels of xylanase and 2 levels of β -glucanase) factorial study. The 12 diets were fed ad libitum from 0 to 35 d in 3 phases – starter (1–10 d), grower (11–24 d) and finisher (25–35 d). Birds were raised in cages in climate-controlled rooms. Excreta samples were collected from trays underneath each replicate cage between 20 and 23 d for estimation of AME. Nutrient digestibility and AME were determined using titanium dioxide as an indigestible marker. Apparent metabolizable energy was then calculated as: $AME = GEI - [GEo \times (Ti/To)]$, where GEI is gross energy (MJ/kg) in feed, GEo is the gross energy (MJ/kg) in excreta, Ti is the concentration of titanium in the diets and To is the concentration of titanium in the

excreta. The right tibia bones were collected from birds per replicate at d35 for assessment of breaking strength and mineral contents. The general linear model procedure was used to analyze the data (Minitab, version 17). Results showed that AME was improved ($P < 0.01$) when diets were supplemented with phytase, xylanase and β -glucanase. Ileal digestibility of protein, gross energy and fat was increased ($P < 0.01$) with phytase supplementation. Xylanase addition improved ($P < 0.05$) protein digestibility. There was no interaction ($P > 0.05$) between microbial enzymes on apparent amino acid digestibility. Phytase supplementation increased ($P < 0.003$) the digestibility of arginine and lysine, while xylanase improved ($P = 0.05$) the digestibility of lysine and valine. On the other hand β -glucanase addition raised ($P < 0.05$) the digestibility of arginine and methionine. Tibia bone breaking strength was slightly improved with enzymes supplementation. Also results indicated that nutrient digestibility was significantly improved when maize-based diets were augmented with the test microbial enzymes.

Acknowledgements: AB Vista, UK and UNE provided the research funds.

Key Words: maize-based diets, AME, nutrient digestibility, phytase, xylanase

101 Performance and gene expression of intestinal enzymes and nutrient transporters in chickens fed caffeic acid. C. R. do Amaral Duarte^{1*}, I. C. Ospina-Rojas², A. E. Murakami², M. I. Sakamoto², A. de Souza Khalaf², and K. P. Picoli³, ¹Universidade do Estado de Mato Grosso, Tangará da Serra, Mato Grosso, Brazil, ²Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brazil, ³Instituto Federal Catarinense, Rio do Sul, Santa Catarina, Brazil

Caffeic acid is a phenolic compound from the hydroxycinnamic acid family and is found in propolis and many fruits. This compound has important biological properties, such as antioxidant, antimicrobial and antihyperglycemic, among others. This study aimed to evaluate the effects of caffeic acid supplementation in the starter diets (1 to 21 d) on performance and gene expression of intestinal enzymes and nutrient transporters in chickens. A total of 60 1-d-old male Cobb chicks were distributed in a completely randomized experimental design with 3 treatments and 5 replicate pens of 4 birds each. The treatments consisted of 3 caffeic acid supplementation levels in pre-starter and starter diets (0, 200 and 500 ppm caffeic acid). At 21 d of age, 5 birds per treatment were selected to determine the relative mRNA abundance of aminopeptidase N (APN), maltase, sucrose-isomaltase (SI) complex, sodium/glucose cotransporter 1 (SGLT1), glucose transporter 2 (GLUT2) and peptide transporter 1 (PepT1) in jejunal mucosa using real-time PCR. All data were analyzed using ANOVA followed by Dunnett's test ($P < 0.05$). The body weight gain was higher and the feed gain ratio was lower in birds fed 200 ppm caffeic acid ($P < 0.05$) compared with the control group. The mRNA abundance of sucrose-isomaltase was higher ($P < 0.05$) in the jejunal mucosa of birds fed 500 ppm caffeic acid compared with the control group. No differences were observed in the mRNA expression of APN, SGLT1, PepT1, GLUT2 and maltase ($P > 0.05$). It can be concluded that the supplementation of 200 ppm caffeic acid in a broiler diet improves performance and increases sucrose gene expression with 500 ppm of supplementation.

Acknowledgements: CNPq/Brazil

Key Words: digestive enzyme, intestinal, phenolic compound