

JANILDA BARROS SANTIAGO OLIVEIRA

**EFEITO DA INCLUSÃO DE ÓLEO DE ALGODÃO E
SULFATO FERROSO EM DIETAS PARA FRANGO DE
CORTE SOBRE A MORFOMETRIA INTESTINAL E
HISTOPATOLOGIA DE FÍGADO E PÂNCREAS AOS 42
DIAS**

Orientador: Guilherme José Bolzani de Campos Ferreira.

Dissertação apresentada ao *Campus* “Prof.^a Cinobelina Elvas” da Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de Produção Animal, linha de pesquisa Nutrição e Produção de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Bom Jesus-PI

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS "PROF.^a CINOBELINA ELVAS"
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Efeito da inclusão de óleo de algodão e sulfato ferroso em dietas para frango de corte sobre a morfometria intestinal e histopatologia de fígado e pâncreas aos 42 dias

Autora: Janilda Barros Santiago Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Guilherme José Bolzani Campos Ferreira

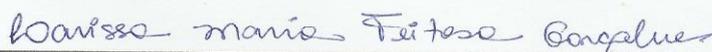
Aprovada em: 07 de agosto de 2015.

Banca Examinadora:



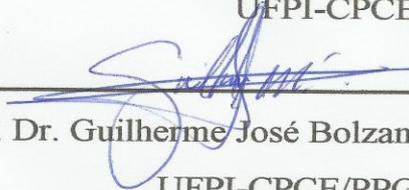
Prof. Dra. Leilane Rocha Barros Dourado

UFPI-CPCE/PPGZOO



Prof. Dra. Larissa Maria Feitosa Gonçalves

UFPI-CPCE



Prof. Dr. Guilherme José Bolzani de Campos Ferreira

UFPI-CPCE/PPGZOO

Bom Jesus-PI

2015

Dedico

*Essa conquista a minha melhor definição de amor, minha família:
Meus pais, irmãos, sobrinhos, esposo, e a razão da minha vida, minha filha Lívia.*

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida, pelo discernimento e sabedoria, por me guiar e me permitir chegar até a conclusão de mais uma etapa acadêmica.

Aos meus pais, João Felipe e Maria de Fátima, pela vida de luta e sacrifícios que tiveram para que eu chegasse até aqui, pelo amor incondicional e por me ensinarem o real significado de caráter, honestidade e respeito.

A minha amada filha, Lívia, meu maior e verdadeiro amor, por ser esta criança maravilhosa e abençoada e pela compreensão nos momentos de ausência que foram necessários. Te amo mais que tudo no mundo!

Ao meu esposo, Doze Batista, pelo amor inquestionável e apoio incondicional.

Ao meu irmão, Rui, e minhas irmãs, Rilda, Flávia e Mercês, pelo amor, carinho e compreensão em todos os momentos.

Aos sobrinhos e afilhados, Juan e Kate, pelas vezes que ficaram cuidando da Lívia enquanto eu desenvolvia este trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Guilherme José Bolzani de Campos Ferreira, pela orientação, empenho e amizade ao longo desses anos.

À Prof.^a Dra. Leilane Rocha Barros Dourado, pelos ensinamentos, pelo exemplo de profissionalismo, dedicação e competência e, principalmente, pela ajuda na realização do experimento.

A Vânia Lima, por ter me ensinado a fazer as mensurações da morfometria intestinal e principalmente, pela ajuda na realização do experimento, sem você teria sido muito mais difícil.

Ao professor Daniel Biagiott, pela ajuda na estatística.

Ao técnico do Laboratório de Patologia Clínica, Richard Átila, e a aluna de iniciação científica, Juliana, por terem me ensinado a confeccionar as lâminas de histologia.

A Larissa Maria Feitosa, Professora de Histologia, pela ajuda na leitura das lâminas.

Aos companheiros de mestrado e amigos queridos, pela ajuda sempre que requisitada, pelo ombro amigo, pelos ensinamentos e pelo prazeroso convívio.

A todos os meus professores dos cursos de graduação e pós-graduação da UFPI/CPCE que contribuíram imensamente para a minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Piauí – UFPI/CPCE pela oportunidade na realização de mais esta etapa.

A CAPES pela concessão de bolsa.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desta conquista meu sincero e profundo agradecimento.

“Se tu estás VERDADEIRAMENTE comprometido com tua meta... O Universo inteiro conspira a teu favor para que apareçam os instrumentos e pessoas, que te permitirão lográ-lo.”

Goeth

vi

SUMÁRIO

Lista de tabelas	viii
Lista de figuras	ix
Resumo geral	01
Abstract geral	03
Introdução geral	04
CAPÍTULO 1: Revisão bibliográfica	05
1. Morfologia do intestino delgado das aves.....	06
2. Alimentos alternativos na produção de frangos de corte.....	08
2.1 Óleo de algodão.....	09
2.1.1 Gossipol.....	11
2.2 Lipídeos na alimentação animal.....	13
3. Referências bibliográficas.....	15
CAPÍTULO 2: Efeito da inclusão de óleo de algodão e sulfato ferroso em dietas para frango de corte sobre a morfometria intestinal aos 42 dias	19
Resumo.....	20
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Material e métodos.....	23
Resultados e discussão.....	27
Conclusão.....	30
Referências Bibliográficas.....	31
CAPÍTULO 3: Análise histopatológica de fígado e pâncreas em frangos de corte aos 42 dias de idade com dietas contendo diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso	34
Resumo.....	35
Abstract.....	36
Introdução.....	37
Material e métodos.....	38
Resultados e discussão.....	39
Conclusão.....	44
Referências Bibliográficas.....	44

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 22 a 33 dias de idade.....	23
Tabela 2 - Composição das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42 dias de idade.....	24
Tabela 3 - Médias da altura do vilão, comprimento da cripta e espessura da parede muscular do duodeno, em micrômetros (μm) em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso.....	26
Tabela 4 - Médias da altura do vilão, comprimento da cripta e espessura da parede muscular do jejuno, em micrômetros (μm) em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso.....	27
Tabela 5 - Médias da altura do vilão, comprimento da cripta e espessura da parede muscular do íleo, em micrômetros (μm) em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso.....	28

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1 - Fotomicrografia demonstrando as estruturas mensuradas..... 26

Capítulo 3

Figura 1 - Fígado, em A observa-se um vaso sem congestão (normal) e em B um vaso com congestão (*) severa. Coloração: HE. Objetiva: 10x..... 37

Figura 2 - Fígado, em A tecido hepático sem degeneração (normal) e em B tecido hepático com degeneração, evidenciando os vacúolos (*). Coloração: HE. Objetiva: 20x..... 38

Figura 3 - Fígado, em A tecido hepático sem infiltrado inflamatório (normal) e em B tem-se a mesma área ampliada em destaque evidenciando a ausência da lesão. Na foto micrografia C pode-se observar o infiltrado inflamatório perivascular severo (*), em D a evidenciação desta alteração no tecido hepático. Coloração: HE. Objetiva: 10x (A e C) e 40x (B e D)..... 38

Figura 4 - Pâncreas, em A observa-se um vaso sem congestão (normal) e em B um vaso com congestão (*) severa. Coloração: HE. Objetiva: 10x..... 40

Figura 5 - Pâncreas, em A tecido pancreático sem degeneração (normal) e em B tecido pancreático com degeneração, evidenciando os vacúolos (*). Coloração: HE. Objetiva: 10x (A) e 20x (B)..... 40

Figura 6 - Pâncreas, em A apresenta-se tecido pancreático sem infiltrado inflamatório (normal). Na foto micrografia B pode-se observar o infiltrado inflamatório (*). Coloração: HE. Objetiva: 10x..... 40

Resumo geral

OLIVEIRA, J.B.S. Efeito da inclusão de óleo de algodão e sulfato ferroso em dietas para frango de corte sobre a morfometria intestinal e histopatologia de fígado e pâncreas aos 42 dias. 2015. 45p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2015.

Apesar do óleo de algodão possuir reconhecidas características nutricionais, o maior obstáculo quanto à sua utilização em dietas para monogástricos é a presença do gossipol. O presente estudo avaliou a morfometria intestinal (duodeno, jejuno e íleo) e as alterações histopatológicas do fígado e pâncreas de frangos de corte aos 42 dias de idade com dietas contendo diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso. Foram utilizados 560 frangos de corte machos, da linhagem Ross. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2 (quatro níveis de óleo com ou sem sulfato ferroso), cinco repetições com 14 aves por unidade experimental. Aos 22 dias de idade as aves foram pesadas e distribuídas, de acordo com o peso médio. Os níveis de óleo de algodão foram 0%, 2%, 4% e 6% com e sem adição de sulfato ferroso (0,1%). No 42º dia do experimento foram eutanasiadas 40 aves, dissecadas e coletados fragmentos das porções do intestino e do fígado e pâncreas, os quais foram submetidos ao processamento histológico para confecção das lâminas. A análise histopatológica foi realizada através do método semi-quantitativo. A análise morfométrica do duodeno e íleo não apresentou interação significativa entre os tratamentos em nenhuma das variáveis analisadas. Com relação ao jejuno, não houve interação significativa para as variáveis comprimento de vilo e espessura de parede muscular, porém na variável, comprimento de cripta houve interação significativa onde observou-se que o tratamento com sulfato ferroso e 2% de óleo apresentou o comprimento de cripta reduzido. A inclusão dos níveis 2%, 4% e 6% de óleo de algodão em rações para frangos de corte na fase de 42 dias não prejudica a morfologia intestinal. A suplementação com sulfato ferroso para quelatar o gossipol nesses níveis é desnecessária mediante a observação de melhora nos índices morfométricos intestinais no comprimento de cripta do duodeno e jejuno em alguns tratamentos. No pâncreas não houve diferença significativa em nenhum dos tratamentos. No fígado os resultados mostraram que os níveis 4% e 6% de óleo de algodão podem ser incluídos nas rações de frangos de corte sem provocar alterações hepáticas significativas. O tratamento com 2% de óleo de algodão com e sem sulfato ferroso ocasionou alterações hepáticas significativas, portanto, menos indicado.

Palavras-chave: Análise semi-quantitativa, Gossipol, Histopatológico, Morfometria intestinal.

General Abstract

OLIVEIRA, J.B.S. Efeito da inclusão de óleo de algodão e sulfato ferroso em dietas para frango de corte sobre a morfometria intestinal e histopatologia de fígado e pâncreas aos 42 dias. 2015. 45p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2015.

Although cottonseed oil has recognized nutritional characteristics, the greatest obstacle for their use in monogastric diets is the presence of gossypol, which is a substance capable of eliciting undesirable effects in the body. This study evaluated the intestinal morphology (duodenum, jejunum and ileum) and histopathologic changes in the liver and pancreas of broilers at 42 days of age with diets containing different levels of cottonseed oil with and without addition of ferrous sulfate. 560 male broilers of the Ross line were used. It was adopted a completely randomized design in 4x2 factorial scheme (four levels of oil with or without ferrous sulfate), five replicates with 14 birds each. At 22 days of age the birds were weighed and distributed according to the average weight. The cottonseed oil levels were 0%, 2%, 4% and 6% with or without addition of ferrous sulfate. On day 42 of the experiment were euthanized 40 birds, dissected and collected fragments of portions of the intestine and liver and pancreas, which were submitted to histological processing for making the slides. Histopathological analysis was performed by semi-quantitative method. The morphometric analysis of the duodenum and ileum showed no significant interaction between treatments in any of the variables. In relation to the jejunum, no significant interaction to the variable length of villi and the thickness of the muscular wall, but the variable, crypt length where significant interaction was observed that treatment with ferrous sulfate and 2% oil length obtained reduced crypt. The inclusion of levels 2%, 4% and 6% of cottonseed oil in broiler diets for 42 days in phase does not affect the intestinal morphology. The supplementation with iron sulfate for chelating gossypol these levels is unnecessary by observing improvement in intestinal morphometric indices in duodenal crypt length and jejunum in some treatments. In the pancreas there was no significant difference in the treatments. In the liver the results showed that the 4% and 6% cotton oil levels can be included in broiler diets without causing significant liver changes. The treatment with 2% cottonseed oil with and without ferrous sulfate resulted in significant liver changes, thus less suitable.

Keywords: semi-quantitative analysis, gossypol, histopathological, intestinal morphometry.

Introdução Geral

Nas últimas décadas, a avicultura brasileira vem sendo marcada por um expressivo desenvolvimento tecnológico e crescimento produtivo e econômico. O desenvolvimento tecnológico em genética, ambiência e sanidade têm contribuído para este cenário. Por outro lado, o Brasil passa por dificuldades com o custo de produção de ração.

Na avicultura, os gastos com alimentação representam o maior fator de custo de produção. Sendo assim, a lucratividade do criador está diretamente relacionada ao custo dos ingredientes das rações, isso evidencia que a busca por alimentos alternativos de qualidade e menos onerosos é fundamental para a redução dos custos (MOREIRA et al., 2002). No entanto, é necessário um conhecimento da composição química e dos fatores anti-nutricionais desses ingredientes com finalidade de reduzir custos, porém, sem causar prejuízos no desempenho.

Uma das alternativas que vem sendo estudada é a utilização dos subprodutos do algodão. O alto teor relativo de proteína bruta e o baixo custo dos subprodutos do algodão os tornam uma opção viável para a formulação de dietas para monogástricos. Porém, a presença do gossipol e a baixa concentração de aminoácidos, limitam a utilização em altas proporções do mesmo (PRAWIRODIGDO et al., 1997).

O algodoeiro é uma planta oleaginosa produtora de proteína de qualidade, podendo ser utilizada como suplemento protéico na alimentação animal. Após a separação da fibra, seu principal produto é o óleo comestível. A semente ou caroço é o subproduto do beneficiamento e/ou descaroçamento, visando à separação da fibra. Constitui uma das principais matérias-primas para a indústria de óleo comestível. Ela fornece inúmeros subprodutos, como resíduos da extração do óleo, torta e farelo, ricas fontes de proteína de boa qualidade e bastante utilizados no preparo de rações (ARAÚJO et al., 2003).

Os lipídios são utilizados nas rações de aves como excelente fonte de energia e ácidos graxos essenciais. A utilização do mesmo nas dietas, objetiva aumentar o nível energético das rações, melhorar a palatabilidade das mesmas, assim como melhorar a conversão alimentar além de propiciar uma melhoria na consistência das rações fareladas e/ou peletizadas (PUPA, 2004).

O Gossipol é uma substância considerada um terpeno incomum, isolado da planta e das sementes do algodão (Família Malvaceae), sendo tóxico ao animal quando está na forma livre (BARBOSA e GATTÁS, 2004).

Em aves, os efeitos adversos do gossipol estão relacionados principalmente com a diminuição do consumo de ração, da produção de ovos e peso do ovo, bem como, o ganho de peso corporal (ALEXANDER et al., 2008). A ingestão de gossipol pode promover intoxicação clínica, danos no fígado, toxicidade reprodutiva e comprometimento imunológico (GADELHA et al., 2014).

As aves apresentam ao longo do intestino delgado muitas dobras microscópicas, denominadas vilosidades ou vilos, que proporcionam um aumento na superfície interna do órgão e, conseqüentemente, na área de digestão e absorção. A altura e a forma do vilos variam ao longo do intestino. No duodeno, os vilos são normalmente mais longos e digitiformes, enquanto que no jejuno e íleo eles geralmente se apresentam de forma lameliformes com aspecto folheáceo. O epitélio de revestimento dos vilos é constituído por enterócitos (responsáveis pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes), células caliciformes (produtoras de mucinas que protegem o epitélio intestinal e servem de sítio de ligação para a microbiota intestinal), células entero-endócrinas (reguladoras da atividade do epitélio intestinal) e das células das criptas (originam as células do epitélio) (BOLELI et al., 2002).

Sabendo que o fígado desempenha função central no metabolismo, que o sistema digestório das aves é responsável por metabolizar e absorver os diferentes nutrientes ingeridos na dieta e que o gossipol pode provocar alterações nos órgãos e sistemas, é de suma importância saber se este influencia nos mecanismos morfofisiológicos do sistema digestório e glândulas anexas de aves.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a morfometria intestinal (duodeno, jejuno e íleo) e as alterações histopatológicas do fígado e pâncreas de frangos de corte aos 42 dias de idade com dietas contendo diferentes níveis de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Revisão bibliográfica

1. Morfologia do intestino delgado das aves

O intestino delgado é formado por três seções conforme progride caudalmente do piloro: duodeno, jejuno e íleo. O duodeno recebe secreções pancreáticas implicadas na digestão através de ductos pancreáticos e também recebe a bile formada no fígado através do ducto biliar. A maior parte da digestão e absorção dos nutrientes ocorre no intestino delgado (REECE, 2014).

A estrutura dos órgãos do sistema digestório das aves segue um modelo estrutural básico, constituído por quatro túnicas ou camadas concêntricas, com características histológicas e funcionais distintas, denominadas da luz tubular para periferia do órgão de: mucosa, submucosa, muscular e serosa (MACARI et al., 2002).

A mucosa é a camada mais interna do intestino delgado, formada por camadas de células epiteliais de tecidos conectivos. A submucosa é uma camada de tecido conjuntivo que proporciona espaço para vasos sanguíneos, vasos linfáticos e fibras nervosas. Além disso, há uma camada de músculo liso na submucosa, denominada muscular da mucosa. Entre a submucosa e a serosa encontra-se duas camadas de musculatura que se interpõem, estas permitem a motilidade do trato gastrointestinal. A camada de músculo circular que é espessa e mais densamente inervada e a de músculo longitudinal que é fina e contém algumas fibras nervosas. A camada mais externa é a serosa, esta recobre o intestino e é contínua ao mesentério (REECE, 2014; CONSTANZO, 2014).

A superfície luminal possui um aspecto aveludado apresentando inúmeras projeções minúsculas, porém densamente aglomeradas, denominada de vilosidades intestinais (DYCE, 2004), as quais variam de número, tamanho e forma de acordo com a região, que vão diminuindo de tamanho e alargando-se gradualmente na medida em que se aproxima dos cecos (BACHA JUNIOR e BACHA, 2003). Os vilos são protuberâncias da lâmina própria no lúmen intestinal que servem para ampliar a área de absorção e digestão (YAMAUCHI, 2002).

A mucosa do intestino delgado apresenta-se mais delgada no sentido do duodeno para o íleo, assim as vilosidades se tornam mais curtas e a comprimento das criptas diminui. As vilosidades possuem forma elipsóide, sendo cobertas por enterócitos com microvilos e células caliciformes (DUKE, 2006). As microvilosidades garantem maior amplificação da área e formam a borda em escova. (REECE, 2014).

Glândulas intestinais microscópicas (criptas) abrem-se na superfície entre as bases das vilosidades. As criptas produzem uma secreção mucosa que reveste a superfície do intestino e diversas enzimas que contribuem para a digestão adicional de produtos de decomposição de proteínas e carboidratos (DYCE, 2004).

O desenvolvimento da mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos (UNI et al., 1998; UNI et al., 2000) e a perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos. O equilíbrio entre esses dois processos é determinado por uma taxa de renovação celular constante determinando a capacidade digestiva e de absorção intestinal (PELICANO et al., 2003).

A taxa de crescimento inicial da ave pode ser afetada pelo consumo de água, pela qualidade e quantidade de alimento, o nível de enzimas pancreáticas e intestinais, a área de superfície do trato gastrintestinal, os transportadores de nutrientes e a digestibilidade dos nutrientes (DIBNER, 1996).

Após a eclosão, o trato gastrintestinal sofre grandes alterações como maturação funcional do intestino, que envolve mudanças morfológicas e fisiológicas que proporcionam aumento na área de superfície de digestão e de absorção. A alteração morfológica mais expressiva é o aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos e no número de enterócitos e células caliciformes (MAIORKA et al., 2002).

Segundo Yamauchi e Ishiki (1991), a densidade de vilos é distinta nas porções intestinais (duodeno, jejuno e íleo), onde o número de vilos é reduzido aos 10 dias de idade. Contudo, isso não implica em menor capacidade absorptiva, e sim em maior desenvolvimento do vilo.

O fígado e o pâncreas constituem glândulas anexas ao sistema digestório e suas secreções são conduzidas para o duodeno (REECE, 2014). O fígado estoca o excesso de gorduras e açúcares, produz algumas proteínas, produz a bile para emulsificar gorduras e excreta metabólicos a partir do sangue. O pâncreas produz o suco pancreático, essencial para a digestão das proteínas, lipídios e carboidratos (HOFFMANN e VOLKER, 1969).

Devido à sua mediação entre o trato digestório e a circulação geral, o fígado desempenha uma função central no metabolismo. Ele recebe grandes quantidades de nutrientes e xenobióticos que são absorvidos por meio do trato digestório e sistema porta

hepático. Entre as principais funções hepáticas estão a captação de aminoácidos, lipídios, carboidratos e vitaminas, com subsequente armazenamento, conversão metabólica e liberação no sangue e bile. O fígado é também o principal órgão envolvido na biotransformação de substâncias exógenas, com capacidade de converter compostos hidrofóbicos em hidrossolúveis, mais facilmente eliminados pelo organismo (GUILLOUZO, 1998).

A atividade do fígado no metabolismo de substâncias exógenas é mediada principalmente pelo citocromo P450. Embora as reações de biotransformação estejam associadas ao processo de desintoxicação, em alguns casos o metabolismo do xenobiótico é prejudicial às células devido à produção de metabólitos altamente reativos, mais tóxicos do que o composto de origem. Apesar deste processo de ativação ser o evento central em diversos fenômenos tóxicos, os hepatócitos possuem mecanismos de defesa efetivos para minimizá-los, de tal forma que é o balanço entre a bioativação, a desintoxicação e os mecanismos de defesa que determina se um composto irá ou não apresentar toxicidade (GÓMEZ-LECHÓN et al., 2001).

Os aspectos da lesão química ao fígado incluem a natureza dos agentes hepatotóxicos, a característica da lesão e as circunstâncias de exposição. Algumas hepatotoxinas encontradas na natureza são produtos de plantas, metabolismo de fungos e bactérias ou são minerais (SCHOENTAL, 1963).

2. Alimentos alternativos na produção de frangos de corte

Os estudos voltados à nutrição e alimentação animal têm possibilitado aos profissionais utilizar diversos ingredientes para atender às exigências nutricionais de aves, de modo a permitir a manutenção das funções normais e expressão máxima de desempenho produtivo (ARAÚJO et al., 2011).

Na avicultura, são frequentes os períodos de instabilidade financeira provenientes dos altos preços dos ingredientes que compõem as rações. A alimentação dos frangos de corte tem como ingredientes principais o milho e do farelo de soja e qualquer variação nos seus preços de mercado reflete diretamente nos resultados econômicos da atividade (BRUNELLI et al., 2006).

Nesse contexto, novas pesquisas têm sido desenvolvidas com a finalidade de avaliar a utilização de alimentos alternativos, os quais devem propiciar um bom desempenho

produtivo das aves, reduzindo o custo com alimentação e propiciando maior lucratividade ao produtor (NASCIMENTO et al., 2005).

Os produtos resultantes da indústria de beneficiamento de grãos apresentam alto potencial de utilização, mas necessitam de permanente avaliação, para que sejam usados corretamente na dieta das aves, principalmente quanto à qualidade nutricional e ao nível de inclusão (TEICHMANN et al., 1998; GARCIA et al., 2000).

De acordo com Ribeiro, Henn e Silva (2010), o uso dos alimentos alternativos na alimentação dependerá do reconhecimento das suas potencialidades e restrições, de modo a manterem produtividade e possibilitarem redução dos custos de produção, com reflexos diretos sobre a viabilidade e lucratividade da atividade. Nesta procura por alimentos alternativos, os subprodutos do algodão devido a sua alta produção e disponibilidade têm despertado o interesse dos pesquisadores, quanto ao conhecimento de suas qualidades nutricionais e às estratégias de uso.

2.1 Óleo de algodão

O algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch.) é uma das principais culturas exploradas no Brasil. O país ocupa a quinta colocação dentre os países produtores de algodão. A cotonicultura se destaca no cenário nacional como cultura de expressiva importância para o agronegócio brasileiro (OLIVEIRA et al., 2012).

A produtividade agrícola de algodão em caroço que nos 20 anos anteriores a 1985 estagnara em índices abaixo de 600 kg/ha, em 1997 alcançou 1.400 kg/ha, e em 2004 ultrapassou 3.300 kg/ha. O avanço da produção é decorrente de um novo sistema produtivo, baseado em grandes extensões de áreas e na mecanização do plantio à colheita (ALVES et al., 2008). Em 2002, o Brasil passou de importador para exportador e em 2003, além de exportar algodão em pluma também exportou o caroço para alimentação animal (TORRICO, 2003).

Do beneficiamento do algodão são obtidos de 37 a 43% de fibra e de 57 a 63% de caroço. A fibra é utilizada na indústria têxtil através do processo conhecido como fiação. O caroço também é processado industrialmente, originando 5,5% de linter, 15,2% de óleo bruto, 47,7% de torta, 25,7% de casca e 5% de resíduo (FERREIRA e FREIRE, 2007).

O algodoeiro é uma planta fibrosa e oleaginosa, produtora de proteína de qualidade, podendo ser utilizada como suplemento protéico na alimentação animal. Após a separação da fibra, seu principal produto, é em escala de importância o óleo comestível. A semente

ou caroço é o subproduto do beneficiamento e/ou descaroçamento, visando à separação da fibra. Constitui uma das principais matérias-primas para a indústria de óleo comestível. Ela fornece inúmeros subprodutos, como resíduos da extração do óleo, torta e farelo, ricas fontes de proteína de boa qualidade e bastante utilizados no preparo de rações (ARAÚJO et al., 2003).

Após a remoção da pluma, o caroço do algodão é aberto para liberar o grão que em seguida é esmagado para a extração do óleo, processo feito por prensagem hidráulica ou usando extratores químicos. O óleo obtido é de coloração escura, provocada por pigmentos que acompanham o gossipol no interior das glândulas. A presença desses compostos leva à necessidade de se proceder ao refinamento do óleo para eliminação através do calor, uma vez que os mesmos são termolábeis e durante o refino são destruídos (ARAÚJO et al., 2003).

Embora os subprodutos do algodão possam ser boas alternativas em dietas para frangos de corte devido a sua composição (PRAWIRODIGDO et al., 1997) a utilização dos mesmos nas rações ainda é restrita devido à presença de fatores antinutricionais, como o gossipol (PAIM et al., 2010). Segundo Benevides et al. (2011), os alimentos apresentam substâncias nutritivas que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento do organismo. Entretanto, podem conter diversos compostos denominados fatores antinutricionais que afetam a digestão e absorção de nutrientes ao longo do trato gastrointestinal e podem provocar danos à saúde.

Dentre os farelos protéicos o de algodão é o terceiro mais produzido no mundo, perdendo apenas para o farelo de soja e de canola. Os Estados Unidos (maior produtor de algodão do mundo) processaram durante os anos de 1989 e 1998 uma média anual de 3,57 milhões de toneladas de algodão, resultando numa produção anual de 1,62 milhões de toneladas de farelo (GAMBOA et al., 2001).

O farelo de algodão é um subproduto da industrialização do algodão, obtido a partir do caroço descorticado após a extração do óleo por solvente e moagem fina (BUTOLO, 2002). No Brasil, são encontrados no mercado dois tipos de farelo de algodão, que diferem principalmente em função da quantidade de casca incorporada ao produto. São eles: Farelo de Algodão tipo 40, que apresenta menores teores de fibra e altos teores de proteína, indicando uma separação das cascas durante o processamento (este sendo recomendado para a utilização nas dietas de suínos e aves) e o Farelo de Algodão tipo 30, com altos teores de fibra e baixos teores de proteína (BARBOSA e GATTÁS, 2004).

Barbosa e Gattás (2004), recomenda para frangos de corte uma inclusão máxima de farelo de algodão nas rações de 10% na fase inicial e de 15% nas fases de engorda e abate. Segundo esses mesmos autores, o nível de gossipol não deve superar 15 ppm para a fase inicial e 30 ppm para as fases subsequentes. Afirmam ainda, que se a correção pelo uso de sulfato ferroso for devidamente realizada, níveis maiores de gossipol livre (até 100 ppm e até 200 ppm para as fases inicial e de engorda respectivamente) são tolerados.

O processamento na produção do farelo afeta diretamente o teor de gossipol livre, que pode variar entre 200 a 500 ppm para o processo de prensagem e de 200 a 700 para o processo de pré-prensagem solvente (MARTIN, 1990). Isso demonstra que deve-se realizar uma análise do teor de gossipol nos subprodutos do algodão antes que os mesmos sejam ofertados aos animais.

2.1.1 Gossipol

O gossipol é um pigmento amarelo, polifenólico, encontrado nas glândulas da semente do algodão (BUTOLO, 2002). Durante o processamento grande parte desse composto se liga às proteínas, reduzindo consideravelmente sua qualidade. A lisina parece ser o principal aminoácido que se liga ao gossipol livre, tornando-a indisponível ao animal (BARBOSA e GATTÁS, 2004).

Como o gossipol altera a coloração e a qualidade do óleo de algodão, os processamentos para obtenção deste, procuram manter esta toxina nas sementes. Uma forma de se obter, isto é, através do processamento térmico, que faz o gossipol se ligar a aminoácidos constituintes de proteínas do algodão, especialmente ao aminoácido lisina. O gossipol conjugado não apresenta importância toxicológica, sendo considerado fisiologicamente inativo. O gossipol livre (não conjugado) é o que apresenta importância toxicológica (KERR, 1989; CHEEKE, 1998; SOTO-BLANCO, 2008).

O conteúdo de gossipol livre nas sementes íntegras de algodão é cerca de 0,5%. Estes níveis variam de 0,1 a 0,5% quando é feita a extração do óleo por solventes. Já nos processos mecânicos de extração envolvendo pressão e tratamento térmico, esta redução é para cerca de 0,05% (CHEEKE, 1998).

Esta substância é considerada um terpeno incomum, sendo tóxico ao animal quando está na forma livre. Os monogástricos apresentam elevado grau de sensibilidade a esta substância, enquanto os ruminantes, devido à detoxificação ruminal, são mais tolerantes (BARBOSA e GATTÁS, 2004).

Em todos os animais ocorrem sinais semelhantes de toxicidade pelo gossipol, dentre eles a dificuldade para respirar e anorexia. Em casos de toxicidade aguda órgãos como o coração, pulmão, fígado e as células sanguíneas são afetados, resultando em aumento da fragilidade dos eritrócitos. Nos achados de necropsia podem ser observados edema generalizado e congestão dos pulmões e fígado, tórax e cavidade peritoneal tomado por líquido e degeneração das fibras cardíacas. Na reprodução, particularmente em machos, o gossipol afeta a mobilidade espermática, inibe a espermatogênese e deprime a contagem de espermatozoides, podendo causar toxicidade das células de Sertoli e afetar as células de Leydig (ALEXANDER et al., 2008).

Os sinais de toxicidade do gossipol envolvem perda de apetite, baixo ganho de peso, diarreia, redução da hemoglobina, de eritrócitos, de proteínas do soro, alterações degenerativas no fígado, no baço e intestino delgado, além de descoloração da gema e diminuição da eclodibilidade dos ovos (CHEEKE, 1989).

No entanto, a ação tóxica do gossipol pode ser minimizada pela adição de sais de ferro à dieta, que ao se complexarem com o gossipol, o torna não prejudicial aos animais (NAGALAKSHMI et al., 2007).

O gossipol tem sido alvo de pesquisas recentes, devido a sua importância em atividades biológicas, como a antifúngica, antiviral, anticancerígena e efeitos antifertilidade (NATIONAL COORDINATING GROUP ON MALE FERTILITY, 1978; GILBERT et al., 1995). Segundo Zhang et al. (1994), por ser um inibidor enzimático inespecífico, alterando desta forma a divisão celular, o gossipol passou a ser utilizado no tratamento da endometriose e no controle do câncer apresentando bons resultados (BAND et al., 1989).

Nas plantas, o gossipol atua na proteção contra pragas e insetos (PAIM et al., 2010). Romano e Scheffler (2008), sugeriram uma estratégia de cruzamento entre variedades capaz de diminuir o teor de gossipol e manter uma concentração suficiente da toxina na parte vegetativa da planta, garantindo-lhe proteção contra fatores adversos ao seu desenvolvimento. Após gerações de seleção, estes autores identificaram plantas que mantiveram uma produção suficiente de gossipol nos pontos críticos de defesa da planta e apresentaram menos de 0,3% de gossipol total no caroço, representando uma forma eficiente de produzir o algodão e fornecer proteína e energia segura aos animais.

Carvalho et al. (2013), estudando o efeito do gossipol em ratos verificaram que os animais tratados com essa substância tiveram o ciclo redox alterados e o metabolismo celular, estimulando o aparecimento de hepatite mista e degeneração dos hepatócitos.

De acordo com Butolo (2002), a complexação do gossipol com o ferro (Fe) é um dos pontos positivos para a detoxicação do farelo de algodão a partir da adição de compostos solúveis de ferro ele cita o sulfato ferroso heptahidratado como o mais eficiente. O mesmo autor indica uma parte de gossipol livre para duas partes de sulfato ferroso para detoxicação do gossipol.

2.2 Lipídeos na alimentação animal

A incorporação de óleos e gorduras na alimentação das aves é considerada um avanço da nutrição, recebendo atenção por parte de todos os segmentos do setor avícola (LARA et al., 2005).

O processo de digestão dos lipídios em aves ocorre fundamentalmente no duodeno. A presença do alimento no duodeno estimula a secreção de hormônios intestinais, como a secretina e a colecistoquinina, produzindo a contração da vesícula biliar e a secreção do suco pancreático. Os movimentos antiperistálticos que ocorrem no duodeno permitem a entrada do quimo de volta a moela, favorecendo a mistura das gorduras com as secreções digestivas. Os ácidos biliares atuam na emulsificação das gorduras e na formação das micelas. A lipase pancreática hidrolisa especificamente as ligações entre o glicerol e os ácidos graxos esterificados. Os produtos da hidrólise, como os monoglicerídios, diglicerídios e os ácidos graxos livres, se incorporam em micelas, sendo posteriormente liberados na mucosa intestinal, onde são absorvidos por difusão passiva (ESCRIBANO, 1991).

De acordo com Beterchini (2006), a presença de lipídeos no duodeno estimula a liberação do hormônio colecistoquinina que proporciona o aumento da liberação de enzimas pancreáticas como a protease, lipases e amilases, melhorando o aproveitamento de nutrientes como carboidratos e proteínas. Além disso, as gorduras reduzem a velocidade da taxa de passagem do alimento, assim, permanecem mais tempo sob a ação das enzimas digestivas, conseqüentemente, incrementam os processos de digestão e absorção dos nutrientes, refletindo positivamente na resposta das aves.

Os lipídios são utilizados nas rações de aves como excelente fonte de energia e ácidos graxos essenciais. A utilização destes tem o objetivo de aumentar o nível energético

das rações, melhorar a palatabilidade das mesmas, assim como melhorar a conversão alimentar, a absorção das vitaminas lipossolúveis, além de propiciar uma melhoria na consistência das rações fareladas e/ou peletizadas (PUPA, 2004).

O uso de gorduras elimina a pulverulência, o que tem um duplo efeito benéfico na melhoria da aparência da ração, aumentando a palatabilidade e reduzindo as perdas decorrentes da poeira. O excesso de pó dentro de uma fábrica de ração traz riscos para a saúde humana. Outra função importante é a de facilitar a absorção de vitaminas lipossolúveis e do cálcio (PUPA, 2004).

3. Referências Bibliográficas

ALEXANDER, J. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Gossypol as undesirable substance in animal feed. *The European Food Safety Authority Journal*, v.908, p.1-55, 2008.

ALVES, L.R.A.; BARROS, G.S.C.; BACCHI, M.R.P. Produção e exportação de algodão: efeitos de choques de oferta e de demanda. *Revista Brasileira de Economia*, Rio de Janeiro, v.62, n.4, p.381-405, 2008.

ARAÚJO, M. S.; BARRETO, S. L. T.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, W. P.; VALERIANO, M. H. Composição química e valor energético de alimentos de origem animal utilizados na alimentação de codornas japonesas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.40, n.2, p.331-335, 2011.

ARAÚJO, A.E.; SILVA, C.A.D.; FREIRE, E.C.; COSTA, J.N.; AMARAL, J.A.B.; MEDEIROS, J.C.; SILVA, K.L.; BARROS, M.A.L; BELTRÃO, N.E.M.; SUASSUNA, N.D.; FIRMINO, P.T.; FERREIRA, P.F.; ALMEIDA, R.P.; SANTOS, R.F.; FREIRE, R.M.M.; PEREIRA, S.R.P. Cultura do Algodão Herbáceo na Agricultura Familiar. Embrapa algodão: Sistemas de Produção, 1, Versão Eletrônica, Jan/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/autores.htm>. Acesso em: fevereiro de 2015.

BACHA JUNIOR, W.; BACHA, L. M. Sistema digestivo. In: Atlas Colorido de Histologia Veterinária, 2. ed. São Paulo: Roca, cap.13, 121p., 2003.

BAND, V.; HOFFER, A.P.; BAND, H.; RHINEHARDT, A.E.; KNAPP, R.C.; MATLIN, S.A.; ANDERSON, D.J. Antiproliferative effect of gossypol and its isomers on human reproductive cancer cell lines. *Gynecol. Oncol.* v.3, p.273-277, 1989.

BARBOSA, F.F.; GATTÁS, G. Farelo de algodão na alimentação de suínos e aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.1, n.3, p.147-156, 2004.

BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, M.V.; SOUZA, R.D.B.; LOPES, M.V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança alimentar e nutricional*, Campinas, v.18, n.2, p.67-79, 2011.

BERTECHINI, A. G. Nutrição de monogástricos. UFLA, 301p., 2006.

BOLELI, I.C; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Fisiologia Aviária Aplicada a frangos de corte. 2 ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, p.75-95, 2002.

BRUNELLI, S. R.; PINHEIRO, J. W.; SILVA, C. A.; FONSECA, N. A. N.; OLIVEIRA, D. D.; CUNHA, G. E.; SOUZA, L. F. A. Inclusão de farelo de germen de milho desengordurado na alimentação de frangos de corte. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.4, p.1349-1358, 2006.

BUTOLO, J. E. Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal. Campinas-SP. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. 430p., 2002.

CARVALHO, W. L.; MAIOLI, M. A.; MENDES, L. C. N.; ROZZA, D.B.; MINGATTO, F. E. Mecanismos da intoxicação do fígado de rato causada pelo gossypol. *Pesq. Vet. Bras.* v.33, n.3, p.339-344, 2013.

CHEEKE, P.R. Toxicants of Plant Origin, v.4, CRC Press, Boca Raton, Florida. p.123-190, 1989.

- CHEEKE, P.R. Natural Toxicans in Feeds, Forages, and Poisonous Plants. 2.ed. Interstate Publishers, Danville, 479p., 1998.
- CONSTANZO, L.S. Fisiologia, 5.ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 502p., 2014.
- DIBNER, J. Nutritional requirements of young poultry. In: ARKANSAS NUTRITON CONFERENCE, Fayetteville.Proceedings... Fayetteville: Arkansas Poultry Federation, p.15-27, 1996.
- DUKES, G. E. Digestão aviária. In: TRAMPEL, D. M.; DUKES, G. E. Fisiologia dos animais domésticos, 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koongan, cap. 23, p.450-461, 2006.
- DYCE, K. M.; SACK, W.O.; WENSING, C. J. G. Tratado de Anatomia Veterinária. 3. ed. Elsevier, Rio de Janeiro, p.780-785, 2004.
- ESCRIBANO, F. Fisiologia digestiva y metabolismo de las grasas e hidratos de carbono en gallinas ponedoras. In: DE BLAS, C.; MATEOS, G.G. Nutrición y Alimentación de Gallinas Ponedoras. ed. Mundi-Prensa, Madrid, 263p., 1991.
- FERREIRA, I.L.; FREIRE, E.C. In: FREIRE, E.C. Industrialização da Pluma. 1.ed. Brasília: ABRAPA, cap.25, p.871-887, 2007.
- GADELHA, I.C.N.; FONSECA, N.B.S.; OLORIS, S.C.S.; MELO, M.M.; BENITO SOTO-BLANCO, B. Gossypol Toxicity from Cottonseed Products. Hindawi Publishing Corporation. Scientific World Journal. ID 231635, 11p., v.2014.
- GAMBOA, D.A.; CALHOUN, M.C.; KUHLMANN, S.W.; HAQ, A.U.; BAILEY, C.A. Use of expanded cottonseed meal in broiler diets formulated on a digestible amino acid basis. Poultry Sci. v.80, n.6, p.789-94, 2001.
- GARCIA, E.R.M.; MURAKAMI, A.E.; BRANCO, A.F.; FURLAN, A.C.; MOREIRA, I. Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. Rev. Bras. Zootec., v.29, p.1414-1426, 2000.
- GILBERT, N.E.; O'REILLY, J.E.; GEORGE CHANG, C.J.; LIN, Y.C.; BRUEGGEMEISER, R.W. Antiproliferative activity of gossypol and gossypolone on human breast cancer cells. Life Sci., v.57, n.1, p.61-7, 1995.
- GÓMEZ-LECHÓN, M.J.; PONSODA, X.; BORT, R.; CASTELL, J.V. The use of cultured hepatocytes to investigate the metabolism of drugs and mechanisms of drug hepatotoxicity. Altern. Lab. Anim., v.29, n.3, p.225-231, 2001.
- GUILLOUZO, A. Liver cell models in vitro toxicology. Environ. Health Perspect., v.106, supl.2, p.511-532, 1998.
- HOFFMANN, G.; VOLKER, H. Anatomía y Fisiología de las Aves Domésticas. Zaragoza (Espanã). Editorial: Acribia, 1969.
- KERR, L.A. Gossypol toxicosis in cattle. Comped. Contin. Educ. Pract. Vet. v.11, p.1139-1146, 1989.
- LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C.; AGUILAR, C.A.L.; CANÇADO, S.V.; FIUZA, M.A.; RIBEIRO, B.R.C. Efeito de fontes lipídicas sobre o desempenho de frangos de corte. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.,v.57, n.6, p.792-798, 2005.
- MARTIN, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. Feedstuffs, v.62, p.14-17, 1990.

- MAYORCA, A.; MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. In: *Fisiologia Aviária Aplicada em Frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/ UNESP, 1.ed., São Paulo, p.113-123, 2002.
- MOREIRA, I.; RIBEIRO, C. R.; FURLAN, A. C.; SCAPINELLO, C.; KUTSCHENKO, M. Utilização do Farelo de Germe de Milho Desengordurado na Alimentação de Suínos em Crescimento e Terminação – Digestibilidade e Desempenho. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.6, p.2238-2246, 2002.
- NASCIMENTO, G. A. J.; COSTA, F. G. P.; JÚNIOR, V. S. A.; BARROS, L. R. Efeitos da substituição do milho pela raspa de mandioca na alimentação de frangos de corte, durante as fases de engorda e final. *Ciência e Agrotecnologia*, v.29, n.1, p.200-207, 2005.
- NAGALAKSHMI, D.; RAO, S. V. R.; PANDA, A. K.; SASTRY, V. R. B. Cottonseed meal in poultry diets: a review. *The Journal of Poultry Science*, v.44, n.2, p.119-134, 2007.
- NATIONAL COORDINATING GROUP ON MALE FERTILITY. Gossypol-a new antifertility agent for males. *Chin Med J (Engl.)* v.4, p.417-428, 1978.
- OLIVEIRA, F. de A. de; MEDEIROS, J. F. de; OLIVEIRA, F. R. A. de; FREIRE, A. G.; SOARES, L. C. da S. Produção do algodoeiro em função da salinidade e tratamento de sementes com regulador de crescimento. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, n.3, p.484-492, 2012.
- PAIM, T. P.; LOUVANDINI, H.; McMANUS, C. M.; ABDALLA, A. L. Uso de subprodutos do algodão na nutrição de ruminantes. *Ciênc. vet. tróp.*, Recife-PE, v.13, n.1/2/3, p.24-37, 2010.
- PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, Lisboa, v.98, n.547, p.125-134, 2003.
- PRAWIRODIGDO, S.; BATTERHAM, E.S.; ANDERSEN, L.M.; DUNSHEA, F.R.; FARRELL, D.J. Nitrogen retention in pigs given diets containing cottonseed meal or soybean meal. *Animal Feed Science Technology.*, v.67, Issues 2-3, p.205-211, 1997.
- PUPA, J.M.R. Óleos e Gorduras na Alimentação de Aves e Suínos. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.1, n.1, p.69-73, 2004.
- REECE, W.O. Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos. In: *digestão e absorção*. 3.ed. São Paulo: Roca, 2014.
- RIBEIRO, A.M.L.; HENN, J.D.; SILVA, G.L. Alimentos alternativos para suínos em crescimento e terminação. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.38, p.61-71, 2010.
- ROMANO, G.B.; SCHEFFLER, J.A. Lowering seed gossypol content in glanded cotton (*Gossypium hirsutum* L.) lines. *Plant Breeding*, Berlin, v.127, p.619-624, 2008.
- SCHOENTAL, R. Liver disease and "natural" hepatotoxins. *Bull. World Health Organ.*, v. 29, p.823-833, 1963.
- SOTO-BLANCO, B. Gossypol e fatores anti-nutricionais da soja. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; PALERMO NETO, J. (ed.) *Toxicologia Aplicada à Veterinária*. Manole, São Paulo. p.531-545, 2008.

TEICHMANN, H.F.; LÓPEZ, J.; LÓPEZ, S.E. Efeito da fitase na biodisponibilidade do fósforo em dietas com farelo de arroz integral para frangos de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.27, p.338-344, 1998.

TORRICO, R. Riqueza renovada – Algodão brasileiro se expande no cerrado e emerge de uma longa crise com força total para ser competitivo tanto no mercado interno quanto no mercado externo. *Revista do agronegócio*. Ano IV, n.57, p.24-44, 2003.

UNI, Z.; GANOT, S.; SJLAN, D. Posthach development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, v.77, p.75-82, 1998.

UNI, Z. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. *British Poultry Science*, v.41, p.410-415, 2000.

YAMAUCHI, K.E.; ISHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. *British Poultry Science*, v.32, p.67-78, 1991.

YAMAUCHI, K. Review on Chicken Intestinal Villus Histological Alterationa Related with Intestinal Function. *Journal of Poutry Science, Kagawa-ken*, v.39, p.229-242, 2002.

ZHANG, Y.W.; HAN, M.L.; WANG, Y.F. Estrogen and progesterone cytosol receptor concentrations in patients with endometriosis and their changes after gossypol therapy. *Chung Hua Fu Chang Ko Tsa Chih*, v.29, p.220-223, 1994.

1
2 **CAPÍTULO 2 – EFEITO DA INCLUSÃO DE ÓLEO DE ALGODÃO E**
3 **SULFATO FERROSO EM DIETAS PARA FRANGO DE**
4 **CORTE SOBRE A MORFOMETRIA INTESTINAL AOS 42**
5 **DIAS**

6 **CHAPTER 2 - EFFECT OF COTTON OIL INCLUSION AND FERROUS**
7 **SULFATE IN DIETS FOR CUTTING CHICKEN ON**
8 **MORPHOMETRY BOWEL TO 42 DAYS**

9 _____
10 **Oliveira, J.B.S.^{1*} Ferreira, G.J.B.C.²**

11
12 **¹Médica Veterinária, Mestre em Zootecnia, Universidade Federal do Piauí (UFPI)**
13 **Campus Professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus-PI, Brasil, *e-mail**
14 **ja.nildabarros@hotmail.com**

15 **²Professor adjunto da Universidade Federal do Piauí (UFPI) Campus Professora**
16 **Cinobelina Elvas, Bom Jesus-PI, Brasil, Doutor em Anatomia**

17
18 **Elaborado de acordo com as normas da Revista Arquivo Brasileiro de**
19 **Medicina Veterinária e Zootecnia**

20 **(<http://www.abmvz.org.br>)**

29 **Resumo**

30

31 Apesar do óleo de algodão possuir reconhecidas características nutricionais, o
32 maior obstáculo quanto à sua utilização em dietas para monogástricos é a presença do
33 gossipol, que é uma substância capaz de desencadear efeitos indesejáveis no organismo.
34 O presente estudo objetivou avaliar a morfometria intestinal (duodeno, jejuno e íleo) de
35 frangos de corte aos 42 dias de idade com dietas contendo diferentes níveis de óleo de
36 algodão com e sem adição de sulfato ferroso. Foram utilizados 560 frangos de corte
37 machos, da linhagem Ross. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em
38 esquema fatorial 4x2 (quatro níveis de óleo com ou sem sulfato ferroso), cinco
39 repetições com 14 aves por unidade experimental. Aos 22 dias de idade as aves foram
40 pesadas e distribuídas, de acordo com o peso médio. Os níveis de óleo de algodão foram
41 0%, 2%, 4% e 6%. Aos 42 dias foram coletadas 40 aves sendo uma por repetição no 42º
42 dia do experimento, para avaliação morfométrica do duodeno, jejuno e íleo. As
43 variáveis analisadas foram altura de vilo, comprimento de cripta e espessura de parede
44 muscular. A análise estatística foi realizada utilizando o SAS com $\alpha=0,05$. No duodeno
45 e íleo não houve interação significativa entre os tratamentos em nenhuma das variáveis
46 analisadas. No jejuno, não houve interação significativa para as variáveis comprimento
47 de vilo e espessura de parede muscular. Já para a variável comprimento de cripta, houve
48 interação significativa, onde observou-se que o tratamento com 2% de óleo de algodão
49 adicionado de sulfato ferroso apresentou menor comprimento de cripta, no entanto, este
50 mesmo teor de óleo sem sulfato ferroso apresentou maior comprimento de cripta,
51 contudo, quando se observou o tratamento com 4% de óleo adicionado de sulfato
52 ferroso verificou-se que aumentou a comprimento de cripta. A inclusão dos níveis 2%,
53 4% e 6% de óleo de algodão em rações para frangos de corte na fase de 42 dias de idade
54 não prejudica a morfologia intestinal. A suplementação com sulfato ferroso para
55 quelatar o gossipol nesses níveis é desnecessária uma vez que não foi observada
56 melhora nos índices morfométricos intestinais na maioria dos tratamentos.

57

58 **Palavras chave:** Cripta, Espessura de parede muscular, Gossipol, Vilo.

59

60 **Abstract**

61

62 Were used 560 male broilers, the lineage Ross. It was adopted a completely
63 randomized design in 4x2 factorial scheme (four levels of oil with or without ferrous
64 sulfate), five replicates with 14 birds each. At 22 days of age the birds were weighed
65 and distributed according to the average weight. The cottonseed oil levels were 0%, 2%,
66 4% and 6%. 40 birds were collected one per repetition after 42 days of the experiment,
67 for morphometric evaluation of the duodenum, jejunum and ileum. The variables
68 analyzed were villus height, crypt length and thickness of the muscular wall. Statistical
69 analysis was performed using SAS with $\alpha = 0.05$. Duodenum and ileum there was no
70 significant interaction between treatments in any of the variables. Jejunum, there was no
71 significant interaction for the variables length of villi and thick muscular wall. As for
72 the variable length crypt significant interaction where it was observed that the treatment
73 with 2% ferrous sulfate added oil showed lower crypt length, however, this even
74 without ferrous sulfate showed higher oil content crypt length However, when the
75 treatment was observed with 4% added oil ferrous sulfate was found that increased
76 crypt length. The inclusion levels of 2%, 4% and 6% cotton oil in diets for broilers at 42
77 days of age did not affect phase intestinal morphology, since only the variable, jejunum
78 crypt length, introduced interaction significant. The supplementation with iron sulfate
79 for chelating gossypol these levels is unnecessary since it was no improvement in bowel
80 morphometric indices in most treatments.

81

82 **Key words:** Crypt, Muscular wall thickness, Gossypol, Villus.

83

84 **Introdução**

85 A principal meta da avicultura moderna é reduzir os custos de produção e
86 aumentar a produtividade e para isso, utiliza-se ferramentas como a genética, manejo e
87 em especial a nutrição, pois a alimentação destaca-se como principal item associado aos
88 custos de produção na criação de aves. Diante disso, torna-se imprescindível a busca por
89 alimentos alternativos que atendam as exigências nutricionais dos animais e possam
90 reduzir os custos de produção (Carvalho et al., 2008).

91 Uma das alternativas que vem sendo estudada é a utilização dos subprodutos do
92 algodão, que devido ao alto teor relativo de proteína bruta e o baixo custo os tornam
93 uma opção viável para a formulação de dietas para monogástricos. Porém, a presença do
94 gossipol e a baixa composição de aminoácidos, limitam a utilização em altas proporções
95 (Prawirodigdo et al., 1997).

96 Os sinais de toxicidade do gossipol envolvem perda de apetite, baixo ganho de
97 peso, diarreia, redução da hemoglobina, alterações degenerativas no fígado, baço e
98 intestino delgado, além de descoloração da gema e diminuição da eclodibilidade dos
99 ovos (Cheeke, 1989). No entanto, a ação tóxica do gossipol pode ser minimizada pela
100 adição de sais de ferro à dieta, que ao se complexarem com o gossipol, o torna não
101 prejudicial aos animais (Nagalakshmi et al., 2007).

102 Os óleos e as gorduras são amplamente utilizados na alimentação animal
103 (Andriguetto, 1988). Segundo Lara et al. (2005), a incorporação destes na alimentação
104 das aves pode ser considerada um avanço da nutrição, recebendo atenção por parte de
105 todos os segmentos do setor avícola. Segundo Costa et al. (2009), possivelmente haverá
106 procura pelo desenvolvimento de um processamento que gere custos menores,
107 destinando uma produção de óleos específicos para a alimentação animal.

108 De acordo com Beterchini (2006), a presença de lipídeos no duodeno estimula a
109 liberação do hormônio colecistoquinina que proporciona o aumento da liberação de
110 enzimas pancreáticas como a protease, lipases e amilases, melhorando o aproveitamento
111 de nutrientes como carboidratos e proteínas. Além disso, as gorduras reduzem a
112 velocidade da taxa de passagem do alimento, assim, permanecem mais tempo sob a
113 ação das enzimas digestivas, conseqüentemente, incrementam os processos de digestão
114 e absorção dos nutrientes, refletindo positivamente na resposta das aves.

115 Os vilos são protuberâncias da lâmina própria no lúmen intestinal que servem
116 para ampliar a área de absorção e a digestão (Yamauchi, 2002).

117 Segundo Kisielinski et al. (2002), a altura dos vilos é diretamente proporcional à
118 área de absorção, portanto é uma importante variável a ser analisada. Outro parâmetro
119 importante a ser analisado é a comprimento de cripta intestinal, pois segundo Pluske et
120 al. (1997), maior valor de Comprimento de Cripta indica maior atividade proliferativa
121 celular, para garantir adequada taxa de renovação epitelial, compensando as perdas nas
122 alturas das vilosidades.

123 As criptas produzem uma secreção mucosa que reveste a superfície do intestino
124 e diversas enzimas que contribuem para a digestão adicional de produtos de
125 decomposição de proteínas e carboidratos (Dyce, 2004).

126 Considerando que uma das características que torna o frango de corte produtivo
127 é a grande capacidade de absorção por área de epitélio intestinal e que existem poucos
128 trabalhos sobre a influência dos fatores antinutricionais sobre este tecido, realizou-se
129 este trabalho com o objetivo de avaliar a morfometria da mucosa do intestino delgado
130 (altura das vilosidades e comprimento de criptas intestinais) em frangos de corte aos 42
131 dias de idade, submetidos á dieta contendo diferentes níveis de óleo de algodão com e
132 sem adição de sulfato ferroso.

133

134 **Material e métodos**

135 O projeto foi avaliado pelo comitê de ética em experimentação com animais
136 (CEEAA/UFPI) e teve parecer aprovado sob o nº 030/12.

137 O experimento foi conduzido no setor de avicultura do Colégio Técnico de Bom
138 Jesus- CTBJ, no Campus “Prof.^a Cinobelina Elvas “da Universidade Federal do Piauí,
139 no município de Bom Jesus-PI. Foram utilizados 560 frangos de corte machos, da
140 linhagem Ross. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema
141 fatorial 4x2 (quatro níveis de óleo com ou sem sulfato ferroso), cinco repetições com 14
142 aves por unidade experimental.

143 Aos 22 dias de idade as aves foram pesadas e distribuídas, de acordo com o peso
144 médio, em boxes de 2m² contendo comedouros tubulares e bebedouros pendulares,
145 localizados em galpão de alvenaria coberto de telhas de cerâmica e piso cimentado. As
146 divisórias entre os boxes eram constituídas de tela de arame liso, e para o controle da

147 temperatura e correntes de ar utilizou-se cortinas. Até o início da fase experimental, os
 148 22 dias de idade, as aves foram alojadas em galpão convencional e receberam dietas a
 149 base de milho e farelo de soja de acordo com a exigência de Rostagno et al. (2011).

150 Os níveis de óleo de algodão foram 0%, 2%, 4% e 6% respeitando a exigência
 151 energética de cada fase, preconizada por Rostagno et al. (2011). O sulfato ferroso
 152 ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)$) foi incluído na dosagem de 0,1%, conforme Santos et al. (2009).

153 As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências
 154 nutricionais dos frangos na fase em estudo, de acordo com a recomendação de Rostagno
 155 et al. (2011) (Tab. 1 e 2). O óleo de algodão utilizado foi obtido pelo método de
 156 prensagem mecânica e possuía 12551 ppm de gossipol livre e energia bruta de 9120
 157 Kcal/kg. Para a formulação utilizou-se a composição dos ingredientes de acordo com
 158 Rostagno et al. (2011), exceto para o óleo de algodão em que foi considerada a energia
 159 metabolizável determinada em estudo anteriores, de 7732 Kcal/kg para o óleo de
 160 algodão bruto sem sulfato ferroso e 8270 Kcal/kg para o óleo de algodão com sulfato
 161 ferroso.

162 Tabela 1. Composição das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 22 a 33
 163 dias de idade

<i>Ingrediente (%)</i>	Tratamentos							
	0%	2%	4%	6%	0% + SF	2% + SF	4% + SF	6%+ SF
Milho	67,471	66,049	60,896	55,743	67,368	65,690	60,179	54,668
Farelo de soja 48%	27,738	27,979	28,854	29,729	27,773	28,040	28,976	29,911
Fosfato bicálcico	1,232	1,233	1,239	1,245	1,232	1,233	1,239	1,245
Calcário	0,880	0,878	0,872	0,865	0,880	0,878	0,872	0,865
Óleo de soja	1,274	0,000	0,000	0,000	1,343	0,000	0,000	0,000
Sal comum	0,455	0,456	0,458	0,461	0,455	0,456	0,458	0,461
Supl. Vit. Min ¹ .	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
DL-metionina	0,233	0,234	0,239	0,244	0,233	0,234	0,239	0,244
L-lisina HCL	0,213	0,208	0,190	0,172	0,213	0,208	0,190	0,168
Inerte ²	0,100	0,558	2,849	5,140	0,000	0,757	3,346	5,936
Óleo de algodão	0,000	2,000	4,000	6,000	0,000	2,000	4,000	6,000
Sulfato ferroso	0,000	0,000	0,000	0,000	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição nutricional								
Ácido linoléico (%)	2,190	1,477	1,385	1,293	2,224	1,470	1,372	1,274
Cálcio (%)	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750
Cloro (%)	0,326	0,325	0,324	0,323	0,326	0,325	0,324	0,323
EMA (Mcal/kg) ³	3,050	3,050	3,050	3,050	3,050	3,050	3,050	3,050
Fósforo disp. (%)	0,335	0,335	0,335	0,335	0,335	0,335	0,335	0,335
Lisina dig. (%)	1,045	1,045	1,045	1,045	1,045	1,045	1,045	1,045
Met + cist. Dig.(%)	0,763	0,763	0,763	0,763	0,763	0,763	0,763	0,763
Fibra bruta (%)	2,329	2,315	2,262	2,210	2,327	2,311	2,255	2,199
Potássio (%)	0,780	0,782	0,785	0,789	0,781	0,782	0,785	0,789
Proteína bruta (%)	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Ferro (mg/kg) ⁴	152	152	152	152	352	352	352	352

164 ¹Níveis de garantia por kg do produto: ácido fólico – 162,50 mg; clorohidroxiquinolina - 7500,00 mg;
 165 vitamina A – 1400062,50 UI; vitamina B1 – 388,00 mg; vitamina B12 - 2000,00 mcg; vitamina B2 –
 166 1000,00 mg; vitamina B6 – 520,00 mg; vitamina D3 – 360012,00 UI; vitamina E - 2500,00 mg ; vitamina

167 K 3 – 300,00 mg; niacina – 7000,00 mg; salinomicina – 16,500 mg; ácido pantotênico – 2600,00 mg;
 168 cloreto de colina – 71,590 mg; selênio -75,00 mg; sulfato de ferro 11,250 mg; monóxido de
 169 manganês – 18740,00 mg; sulfato de cobre -1996,00 mg; iodo – 187,47 mg; zinco – 17500,00 mg; ²Inerte
 170 – areia; ³EMA do óleo de algodão – 7.732 Kcal/kg e 8.270 Kcal/kg sem e com sulfato ferroso;
 171 ⁴Considerando o teor de ferro presente no milho, farelo de soja, fosfato bicálcico, supl. Vit.min. e sulfato
 172 ferroso.
 173

174 Tabela 2. Composição das dietas experimentais para frangos de corte na fase de 34 a 42
 175 dias de idade

Ingrediente (%)	Tratamentos							
	0%	2%	4%	6%	0% + SF	2% + SF	4% + SF	6%+ SF
Milho	71,089	69,640	64,487	59,335	71,089	69,281	63,770	58,2594
Farelo de soja 48%	24,688	24,933	25,808	26,683	24,688	24,994	25,930	26,865
Fosfato bicálcico	1,016	1,018	1,023	1,029	1,232	1,018	1,023	1,029
Calcário	0,781	0,779	0,772	0,766	0,781	0,779	0,772	0,766
Óleo de soja	1,265	0,000	0,000	0,000	1,265	0,000	0,000	0,000
Sal comum	0,443	0,444	0,445	0,446	0,443	0,444	0,446	0,448
Supl. Vit. Min. ¹	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
DL-metionina	0,204	0,205	0,209	0,214	0,204	0,205	0,209	0,214
L-lisina HCL	0,213	0,208	0,190	0,172	0,172	0,208	0,188	0,168
Inerte ²	0,100	0,572	2,862	5,153	0,000	0,770	3,359	5,948
Óleo de algodão	0,000	2,000	4,000	6,000	0,000	2,000	4,000	6,000
Sulfato ferroso	0,000	0,000	0,000	0,000	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição nutricional								
Ácido linoléico (%)	2,231	1,522	1,430	1,338	2,231	1,520	1,418	1,319
Cálcio (%)	0,650	0,650	0,650	0,650	0,650	0,650	0,650	0,650
Cloro (%)	0,319	0,318	0,317	0,316	0,319	0,318	0,317	0,316
EMA (Mcal/kg) ³	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100
Fósforo disp. (%)	0,290	0,290	0,290	0,290	0,290	0,290	0,290	0,290
Lisina dig. (%)	0,969	0,969	0,969	0,969	0,969	0,969	0,969	0,969
Met + cist. Dig.(%)	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
Fibra bruta (%)	2,264	2,249	2,197	2,144	2,264	2,246	2,189	2,134
Potássio (%)	0,727	0,728	0,732	0,735	0,727	0,728	0,732	0,735
Proteína bruta (%)	17,800	17,800	17,800	17,800	17,800	17,800	17,800	17,800
Sódio (%)	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195
Ferro (mg/kg) ⁴	117	117	117	117	326	326	326	326

176 ¹Níveis de garantia por kg do produto: ácido fólico – 162,50 mg; clorohidroxiquinolína - 7500,00 mg;
 177 vitamina A – 14000,00 UI; vitamina B1 – 388,00 mg; vitamina B12 - 2000,00 mcg; vitamina B2 –
 178 1000,00 mg; vitamina B6 – 520,00 mg; vitamina D3 – 1600,00 UI; vitamina E - 2500,00 mg ; vitamina K
 179 3 – 300,00 mg; Zinco – 70 ppm; niacina – 7000,00 mg; salinomicina – 16,500 mg; ácido pantotênico –
 180 2600,00 mg; cloreto de colina –71,593,49 mg; selênio -75,00 mg; sulfato de ferro 11,250 mg; monóxido
 181 de manganês – 18750,00 mg; sulfatode cobre-2000,00 mg; iodo – 187,50 mg; óxido de zinco – 17500,00
 182 mg; aditivo antioxidante 25000,00 mg; halquinol 7500,00 mg; ²Inerte – areia; ³EMA do óleo de algodão
 183 – 7.732 Kcal/kg e 8.270 Kcal/kg sem e com sulfato ferroso; ⁴Considerando o teor de ferro presente no
 184 milho, farelo de soja, fosfato bicálcico, supl. Vit.min. e sulfato ferroso.

185 O fornecimento de água foi à vontade, sendo os bebedouros lavados duas vezes
 186 ao dia para evitar aquecimento e fermentação. Adotou-se o programa de iluminação
 187 contínua (luz natural + luz artificial) e as rações foram fornecidas sem restrição de
 188 quantidade. Aos 42 dias foram coletadas 40 aves sendo uma por repetição para
 189 avaliação morfométrica.

190 Foram coletadas porções de aproximadamente 2 cm de comprimento em cada
 191 um dos seguimentos intestinais (duodeno, jejuno, íleo) de cada uma das aves.

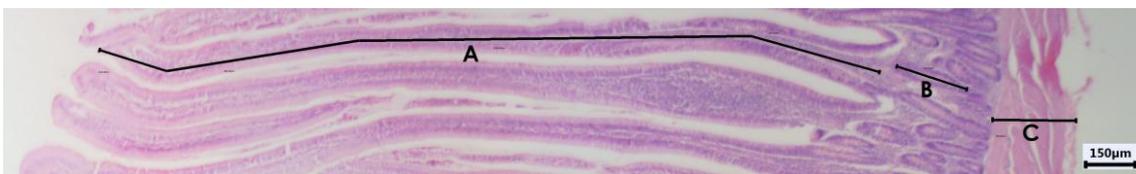
192 Imediatamente após secção do órgão, foi realizada uma lavagem do lúmen intestinal
193 com água destilada para retirada do conteúdo. Todas as amostras foram identificadas e
194 acondicionadas individualmente em solução de Bouin.

195 As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool,
196 clarificadas em xileno, impregnadas e incluídas em parafina. Os blocos de parafina com
197 os materiais foram cortados em micrótomo da marca Lupe modelo MRP-03 para
198 obtenção de cortes de 4µm de espessura e posteriormente corados com Hematoxilina e
199 Eosina (HE) segundo Junqueira e Junqueira (1983).

200 Com a utilização de um microscópio óptico (Nova Optical systems), foram
201 realizadas as contagens dos campos de observação microscópica. Foi selecionado o
202 melhor corte de cada lâmina para ser mensurado e desse corte foram medidos 10 vilos e
203 10 criptas. Cada porção intestinal foi avaliada e o número total de campos observáveis
204 foi determinado e devidamente registrado. As imagens foram obtidas utilizando-se uma
205 câmera digital TOUPCAM™ acoplada ao microscópio.

206 Após a seleção dos vilos e criptas aptos para medição e da obtenção das imagens
207 destes, foram feitas as mensurações com auxílio do software ToupView® 3.7. Os vilos
208 foram mensurados desde a base até seu ápice, sendo o limite a área adjacente a zona de
209 criptas. A largura da cripta foi obtida medindo-se a cripta que se encontrava mais
210 próxima do vilos medido, conforme mostra (Fig.1). A espessura de parede muscular foi
211 mensurada a partir da muscular até a serosa. As variáveis analisadas foram altura de
212 vilosidades, comprimento de criptas e espessura da parede muscular.

213



214
215
216
217

Figura 1. Fotomicrografia demonstrando as estruturas mensuradas. Em A temos o comprimento do vilos, em B o comprimento da cripta e em C a espessura da parede muscular. Visualização em objetiva de 4x.

218 Para a análise estatística dos resultados obtidos, foi utilizado o procedimento
219 GLM do SAS (Statistical Analysis System, 9.0). Para verificar a significância entre as
220 médias dos tratamentos foi utilizado o teste SNK (Student-Newman-Keuls) com
221 $\alpha=0,05$.

222

223 **Resultados e discussão**

224 A análise morfométrica do duodeno (Tab. 3) não apresentou efeito do nível de
 225 óleo nem do sulfato ferroso e nem interação significativa entre os tratamentos em todas
 226 as variáveis analisadas. Pelicano et al. (2007), ao estudarem a morfometria intestinal de
 227 frangos de corte alimentados com diferentes aditivos observaram interação significativa
 228 em altura de vilosidades em duodeno, jejuno e íleo.

229

230 Tabela 3. Médias da altura do vilo (AV), comprimento da cripta (CC) e espessura da
 231 parede muscular (EPM) do duodeno, em micrômetros (μm) em frangos de corte
 232 submetidos a diferentes níveis de óleo de algodão (NO) com e sem adição de sulfato
 233 ferroso (SF)

Variável	Nível de Óleo (%)	Sulfato Ferroso		Média	CV (%)	SF	NO	SF*N O
		Com	Sem					
AV (μm)	0	1272,8	1480,0	1376,4	22,18	0,5741	0,2468	0,7228
	2	1435,3	1447,5	1441,4				
	4	1165,1	1325,1	1245,1				
	6	1635,7	1502,5	1569,1				
	Média	1377,2	1438,8					
CC (μm)	0	93,7	96,3	95,0	24,14	0,1202	0,7598	0,1360
	2	122,7	79,7	101,2				
	4	90,0	90,0	90,0				
	6	100,2	88,9	94,6				
	Média	101,7	88,7					
EPM (μm)	0	369,2	373,3	371,2	30,93	0,8053	0,7523	0,2283
	2	304,4	378,2	341,3				
	4	304,1	396,9	350,5				
	6	374,8	241,9	308,4				
	Média	338,1	347,5					

234 Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si
 235 pelo teste SNK ($P < 0,05$); CV=coeficiente de variação.

236

237 Com relação à análise morfométrica do jejuno (Tab. 4), foi possível observar
 238 que não houve interação significativa para as variáveis comprimento de vilo e espessura
 239 de parede muscular. Oliveira et al. (2000) estudaram a influência dos fatores
 240 antinutricionais da Leucena e do feijão Guandu em frangos de corte aos 42 dias de idade
 241 e não observaram diferença significativa quanto à altura de vilo. Segundo Pollman
 242 (1986), a presença de microrganismos patogênicos provoca lesões e espessamento das
 243 paredes do trato gastrintestinal, possivelmente decorrente da ação de toxinas que são
 244 liberadas nesses locais.

245 Para a variável comprimento de cripta, houve interação significativa, onde
 246 observou-se que a presença do sulfato ferroso com 2% de óleo reduziu o comprimento
 247 de cripta, sendo que este mesmo teor de óleo sem sulfato ferroso apresentou maior
 248 comprimento de cripta que os demais níveis analisados. No entanto, quando observamos
 249 o tratamento com 4% de óleo, verificamos que o sulfato ferroso aumentou a
 250 comprimento de cripta. Segundo Siah et al. (2006), elevados estoques de ferro nos
 251 tecidos pode levar à formação de radicais livres, que podem estar associados a lesões
 252 teciduais progressivas em diversos órgãos, o que pode está relacionado a redução no
 253 comprimento de cripta encontrado nesse experimento. Segundo Pluske et al. (1997),
 254 maior valor de comprimento de cripta indica maior atividade proliferativa celular, para
 255 garantir adequada taxa de renovação epitelial.

256

257 Tabela 4. Médias da altura do vilo (AV), comprimento da cripta (CC) e espessura da
 258 parede muscular (EPM) do jejuno, em micrômetros (μm) em frangos de corte
 259 submetidos a diferentes níveis de óleo de algodão (NO) com e sem adição de sulfato
 260 ferroso (SF)

Variável	Nível de Óleo (%)	Sulfato Ferroso		Média	CV (%)	SF	NO	SF*NO
		Com	Sem					
AV (μm)	0	1405,5	1314,7	1360,1	22,51	0,8137	0,3058	0,7661
	2	1142,7	1128,3	1135,5				
	4	1016,1	1233,9	1125,0				
	6	1186,7	1171,0	1178,8				
	Média	1187,7	1211,9					
CC (μm)	0	107,1 Aa	74,8	90,9	26,46	0,0721	0,0887	0,0016
	2	40,1 Cb	89,3	64,7				
	4	99,6 Ba	61,6	80,6				
	6	110,5ABa	71,3	90,9				
	Média	89,3	74,2					
EPM (μm)	0	393,6	318,6	356,1	41,24	0,6787	0,1460	0,4486
	2	448,6	286,7	367,6				
	4	451,1	522,9	487,0				
	6	253,4	321,9	287,6				
	Média	386,6	362,5					

261 Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si
 262 pelo teste SNK ($P < 0,05$); CV=coeficiente de variação.

263

264 A análise morfométrica do íleo (Tab. 5), não apresentou interação significativa
 265 entre os tratamentos para as variáveis estudadas. Özdoğan et al. (2010), estudaram o
 266 efeito do gossipol na morfologia intestinal de frangos de corte e verificou que 62 ppm,
 267 124 ppm e 186 ppm de gossipol na dieta não teve efeito significativo em altura e largura

268 de vilosidades nem tampouco em comprimento de criptas. Vale ressaltar que os valores
 269 de gossipol utilizado por esses autores foram bem inferiores aos deste estudo que foram
 270 de 251 ppm, 502 ppm e 753 ppm.

271

272 Tabela 5. Médias da altura do vilo (AV), comprimento da cripta (CC) e espessura da
 273 parede muscular (EPM) do íleo, em micrômetros (μm) em frangos de corte submetidos
 274 a diferentes níveis de óleo de algodão (NO) com e sem adição de sulfato ferroso (SF)

Variável	Nível de Óleo (%)	Sulfato Ferroso		Média	CV (%)	SF	NO	SF*NO
		Com	Sem					
AV (μm)	0	920,6	1136,0	1028,3	16,31	0,5922	0,4940	0,0771
	2	966,4	1128,4	1047,4				
	4	1183,3	1004,4	1093,8				
	6	999,2	929,0	964,1				
	Média	1017,3	1049,4					
CC (μm)	0	118,2	94,1	106,1	29,27	0,1973	0,4691	0,4845
	2	120,0	132,1	126,0				
	4	120,5	87,6	104,0				
	6	118,3	102,8	110,5				
	Média	119,2	104,1					
EPM (μm)	0	332,1	327,8	329,9	29,28	0,4429	0,4028	0,4395
	2	413,2	405,0	409,1				
	4	295,6	450,3	372,9				
	6	437,5	427,3	432,4				
	Média	369,6	402,6					

275 Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si
 276 pelo teste SNK ($P < 0,05$); CV=coeficiente de variação.

277

278 Oliveira et al. (2008) utilizando aditivos na dieta de frangos de corte,
 279 observaram que a espessura de parede muscular foi menor nas aves submetidas à dietas
 280 sem aditivos. Schwarz et al. (2002), porém, testaram dietas contendo aditivos e
 281 relataram não haver diferença na espessura da camada muscular da parede intestinal dos
 282 frangos em função dos tratamentos.

283

284 Conclusão

285 A inclusão dos níveis 2%, 4% e 6% de óleo de algodão em rações para frangos
 286 de corte na fase de 42 dias de idade não prejudica a morfologia intestinal. A
 287 suplementação com sulfato ferroso para quelatar o gossipol nesses níveis é
 288 desnecessária uma vez que não foi observada melhora nos índices morfométricos
 289 intestinais na maioria dos tratamentos.

290 **Referências Bibliográficas**

- 291 ANDRIGUETTO, J.M. Nutrição animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal:
292 os alimentos. São Paulo: Nobel, v.1. 1988. 395p.
- 293 BACHA JUNIOR, W.; BACHA, L. M. Sistema digestivo. In: (Ed). Atlas Colorido de
294 Histologia Veterinária, 2. ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 121.
- 295 BERTECHINI, A. G. (Ed). Nutrição de monogástricos. Lavras: UFLA, 2006. 301p.
- 296 CARVALHO, F. de M.; FIÚZA, M. A. Determinação de custos como ação de
297 competitividade: estudo de um caso na avicultura de corte. *Ciência e Agrotecnologia*,
298 Lavras, v. 32, n. 3, p. 908-913, 2008.
- 299 CHEEKE, P.R. (Ed). Toxicants of Plant Origin, v.4. CRC Press, Boca Raton, Florida.
300 1989. p.123-190.
- 301 COSTA, R.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; Renata A. G.; PEREIRA, R.A.G. Influência do
302 alimento na produção e qualidade do leite de cabra. *R. Bras. Zootec.*, v.38, p.307-321,
303 2009.
- 304 DYCE, K. M.; SACK, W.O.; WENSING, C. J. G. Tratado de Anatomia Veterinária. 3.
305 ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2004. p.780-785.
- 306 JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. Técnicas básicas de citologia e
307 histologia. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1983. 123p.
- 308 KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A. et al. A simple new method to
309 calculate small intestine absorptive surface in the rat. *Clin. Exp. Med.*, v.2, p.131-135,
310 2002.
- 311 LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C.; AGUILAR, C.A.L. et al. Efeito de fontes lipídicas sobre
312 o desempenho de frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*,v.57, n.6, p.792-798,
313 2005.
- 314 NAGALAKSHMI, D.; RAO, S. V. R.; PANDA, A. K.; SASTRY, V. R. B. Cottonseed
315 meal in poultry diets: a review. *The Journal of Poultry Science*, v. 44, n. 2, p. 119-134,
316 2007.
- 317 OLIVEIRA, P. B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E. R. M.; Influência de Fatores
318 Antinutricionais da Leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningan*) e do Feijão

319 Guandu (*Cajanus cajan*) Sobre o Epitélio Intestinal e o Desempenho de Frangos de
320 Corte. *R. bras. Zootec.*, v.29, n.6, p.1759-1769, 2000.

321 OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. H.; GRAVENA, R. A.; MORAES, V. M. B.
322 Morfometria do intestino delgado de frangos tratados com dietas adicionadas de
323 mananoligossacarídeo e complexo enzimático. *Biotemas*, v.21, n.3, p.135-142, 2008.

324 ÖZDOĞAN, M.; WELLMANN, K.; PAKSUZ, E. Effect of gossypol on blood serum
325 parameters and small intestinal morphology of male broilers. *Journal of Animal*
326 *Physiology and Animal Nutrition*, v.96, n.2012, p.95-101, 2010.

327 PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A. et al. Morphometry and Ultra-
328 structure of the Intestinal Mucosa of Broilers Fed Different Additives. *Brazilian Journal*
329 *of Poultry Science*, v.9, n.3, p.173-180, 2007.

330 POLLMAN, D.S. Probiotics in pig diets. In: HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. (Ed).
331 Recent advance in animal nutrition. Butterworth: London, 1986. p.193-205.

332 PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.E.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the stricture
333 and function of the small intestine en the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v.51,
334 p.215-236, 1997.

335 PRAWIRODIGDO, S.; BATTERHAM, E.S.; ANDERSEN, L. M. et al. Nitrogen
336 retention in pigs given diets containing cottonseed meal or soybean meal. *Animal*
337 *Feed Science Technology*. v. 67, p.205-211, 1997.

338 ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. (Ed). Tabelas brasileiras
339 para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa:
340 Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252p.

341 SANTOS, M. S. V.; ESPÍNDOLA, G. B.; LÔBO, R. N. B. et al. Desempenho e
342 qualidade dos ovos de poedeiras comerciais submetidas às dietas com diferentes óleos
343 vegetais. *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal*, v. 10, n. 3, p. 654-667, 2009.

344 SIAH, C. W.; OMBIGA, J.; ADAMS, L. A. et al. Normal iron metabolism and the
345 pathophysiology of iron overload disorders. *Clinical Biochem Reviews*, v.27, n.1, p.5-
346 16, 2006.

- 347 SCHWARZ, K. K.; FRANCO, S. G.; FEDALTO, L. M. et al. Efeitos de
348 antimicrobianos, probióticos, prebióticos e simbióticos sobre o desempenho e
349 morfologia do jejuno de frangos. In: Anais da Conferência Apinco de Ciência e
350 Tecnologia Avícola, Campinas, Brasil, 2002. p.75.
- 351 YAMAUCHI, K. Review on Chicken Intestinal Villus Histological Alterations Related
352 with Intestinal Function. *Journal of Poultry Science*, Kagawa-ken, v.39, p.229-242,
353 2002.

354 **CAPÍTULO 3 – ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE FÍGADO E PÂNCREAS**
355 **EM FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE**
356 **SUBMETIDOS A DIETAS CONTENDO NÍVEIS DE ÓLEO DE**
357 **ALGODÃO COM E SEM ADIÇÃO DE SULFATO FERROSO**
358
359 **CHAPTER 3 – HISTOPATHOLOGICAL LIVER ANALYSIS AND PANCREAS**
360 **IN CHICKEN CUT TO 42 DAYS OF AGE SUBMITTED A**
361 **DIETS CONTAINING COTTON OIL LEVELS AND WITH NO**
362 **ADDED FERROUS SULFATE**

363
364
365 **Oliveira, J.B.S.^{1*} Ferreira, G.J.B.C.²**

366
367 **¹Médica Veterinária, Mestranda em Zootecnia, Universidade Federal do Piauí**
368 **(UFPI) Campus Professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus-PI, Brasil, *e-mail**
369 **ja.nildabarros@hotmail.com**

370 **²Professor adjunto da Universidade Federal do Piauí (UFPI) Campus Professora**
371 **Cinobelina Elvas, Bom Jesus-PI, Brasil, Doutor em Anatomia**

372

373 **Elaborado de acordo com as normas da Revista Arquivo Brasileiro de**
374 **Medicina Veterinária e Zootecnia**
375 **(<http://www.abmvz.org.br>)**

376

377 **Resumo**

378

379 O presente estudo objetivou avaliar as alterações histopatológicas do fígado e
380 pâncreas de frangos de corte aos 42 dias de idade com dietas contendo diferentes níveis
381 de óleo de algodão com e sem adição de sulfato ferroso. Foram utilizados 560 frangos
382 de corte machos e adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema
383 fatorial 4 x 2 (quatro níveis de óleo com ou sem sulfato ferroso), cinco repetições com
384 15 aves por unidade experimental das quais um exemplar de cada unidade experimental
385 foi retirado para avaliação histopatológica. Os níveis de óleo de algodão foram 0%, 2%,
386 4% e 6%. O sulfato ferroso foi incluído na dosagem de 0,1%. Os órgãos coletados
387 (fígado e pâncreas) foram fixados em formol a 10%. As amostras foram clivadas e os
388 fragmentos foram armazenados em cassetes histológicos imersos em solução de
389 formaldeído a 10%. Estes foram submetidos ao processamento histológico e posterior
390 secção dos blocos em micrótomo. Os cortes foram corados em Hematoxilina-Eosina. A
391 preparação e leitura das lâminas foram realizadas no Laboratório de Anatomia da UFPI-
392 CPCE. As alterações histopatológicas foram analisadas pelo método semi-quantitativo e
393 os resultados analisados no programa estatístico Bioestat 5.3[®]. No pâncreas não houve
394 diferença significativa, porém no fígado houve diferença significativa quando se
395 comparou os seguintes tratamentos: sem óleo de algodão com o tratamento 2% de óleo
396 ambos sem adição de sulfato ferroso para as variáveis congestão, infiltrado inflamatório
397 e degeneração; 0% de óleo de algodão com 2% de óleo de algodão ambos adicionados
398 de sulfato ferroso para as variáveis congestão e infiltrado inflamatório; 2% de óleo de
399 algodão sem sulfato ferroso e 2% de óleo de algodão com adição de sulfato ferroso para
400 as variáveis infiltrado inflamatório e degeneração. Os níveis 4% e 6% de óleo de
401 algodão podem ser incluídos nas rações de frangos de corte sem provocar alterações
402 hepáticas significativas. O tratamento com 2% de óleo de algodão independente de ter
403 sido adicionado de sulfato ferroso ocasionou alterações hepáticas significativas,
404 portanto, menos indicado.

405

406 **Palavras-chave:** Congestão, Degeneração de hepatócitos, Infiltrado inflamatório,
407 Gossypol.

408

409 **Abstract**

410

411 We used 600 male broilers and adopted a completely randomized design in a factorial 4
412 x 2 (four levels of oil with or without ferrous sulfate), five replicates with 15 birds each
413 of which a copy of each experimental unit taken for histopathological evaluation. The
414 cottonseed oil levels were 0%, 2%, 4% and 6%. The ferrous sulfate was included at a
415 dosage of 0.1%. The collected organs (liver and pancreas) were fixed in 10% formalin.
416 Samples were cleaved and the fragments were stored in histological cassettes immersed
417 in formaldehyde 10% solution. These were submitted to the histological processing and
418 rear section of the blocks in microtome. The sections were stained with hematoxylin-
419 eosin. The preparation and reading of slides were performed in the Anatomy Laboratory
420 of UFPI- CPCE. The histopathological changes were analyzed by semi-quantitative
421 method and the results analyzed using the statistical program Bioestat 5.3®. In the
422 pancreas no significant difference, but the liver was no significant difference when
423 comparing the following treatments: no cottonseed oil with treatment 2% oil both
424 without addition of ferrous sulfate for the variables congestion, inflammatory
425 infiltration and degeneration; 0% cottonseed oil with 2% cottonseed oil both added
426 ferrous sulfate for the variables congestion and inflammatory infiltrate; 2% cottonseed
427 oil without ferrous sulfate and 2% cottonseed oil with addition of ferrous sulfate to the
428 degeneration and inflammatory infiltrate variables. Levels 4% and 6% of cottonseed oil
429 can be included in broiler diets without causing significant liver changes. The treatment
430 with 2% independent of cottonseed oil was added ferrous sulfate resulted in significant
431 liver changes, thus less suitable.

432

433 **Keywords:** Congestion, Degeneration of hepatocytes, Inflammatory infiltrate,
434 Gossypol.

435

436 **Introdução**

437 A incorporação de lipídios na alimentação das aves pode ser considerada um
438 avanço da nutrição (Lara et al., 2005). A maior parte dos benefícios da inclusão de
439 lipídios em dietas para frangos de corte se deve aos efeitos extracalóricos, que são:
440 redução da taxa de passagem dos alimentos pelo trato gastrointestinal, que melhoram a
441 digestão e absorção, redução do incremento calórico, melhora na absorção das
442 vitaminas lipossolúveis e redução do pó das rações (Braga e Baião, 2001). Diante disso,
443 o óleo do algodão poderia ser utilizado como fonte energética alternativa na nutrição de
444 monogástricos.

445 Apesar do óleo de algodão possuir reconhecidas características nutricionais, o
446 maior obstáculo quanto à sua utilização em dietas para monogástricos é a presença de
447 um pigmento polifenólico ($C_{30}H_{30}O_8$) tóxico, denominado gossipol, presente nas
448 glândulas distribuídas nas folhas, caules, raízes e especialmente nas sementes do
449 algodão (*Gossypium* sp.), capaz de desencadear efeitos indesejáveis no organismo,
450 reduzindo significativamente o desempenho produtivo dos animais (Nagalakshmi et al.,
451 2007).

452 De modo geral, os sinais de toxicidade do gossipol envolvem perda de apetite,
453 baixo ganho de peso, diarreia, redução da hemoglobina, de eritrócitos, de proteínas do
454 soro, alterações degenerativas no fígado, no baço e intestino delgado, além de
455 descoloração da gema e diminuição da eclodibilidade dos ovos (Cheeke, 1989).

456 Devido à sua interposição entre o trato digestivo e a circulação geral do
457 organismo, o fígado desempenha uma função central no metabolismo. É o principal
458 órgão envolvido na biotransformação de substâncias exógenas, com capacidade de
459 converter compostos hidrofóbicos em hidrossolúveis, mais facilmente eliminados pelo
460 organismo (Guillouzo, 1998).

461 Os diversos aspectos da lesão química ao fígado incluem a natureza dos agentes
462 hepatotóxicos, a característica da lesão, o mecanismo para os efeitos hepatotóxicos, as
463 circunstâncias de exposição e a importância médica e social (Schoental, 1963).

464 Devido à escassez de informações sobre os efeitos oriundos da utilização do
465 gossipol na alimentação animal, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as
466 alterações histopatológicas de fígado e pâncreas em frangos de corte aos 42 dias de

467 idade submetidos a dietas com inclusão de óleo de algodão com e sem adição de sulfato
468 ferroso.

469

470 **Material e métodos**

471 O experimento foi conduzido no setor de avicultura do Colégio Técnico de Bom
472 Jesus-CTBJ, no *Campus* “Professora Cinobelina Elvas” da Universidade Federal do
473 Piauí, no município de Bom Jesus, PI, situado a 09° 04' 28" S e 44° 21' 31" W, com
474 altitude de 277 metros. O projeto foi avaliado pelo comitê de ética em experimentação
475 com animais (CEEAA/UFPI) e teve parecer aprovado sob o nº 030/12. Foram utilizados
476 560 frangos de corte machos, da linhagem Ross. Adotou-se o delineamento inteiramente
477 casualizado em esquema fatorial 4x2 (quatro níveis de óleo com ou sem sulfato ferroso),
478 cinco repetições com 14 aves por unidade experimental das quais um exemplar de cada
479 unidade experimental foi retirado para avaliação histopatológica.

480 Aos 22 dias de idade as aves foram pesadas e distribuídas, de acordo com o
481 peso médio, em boxes de 2m² contendo comedouros tubulares e bebedouros pendulares,
482 localizados em galpão de alvenaria coberto de telhas de cerâmica e piso cimentado. As
483 divisórias entre os boxes eram constituídas de tela de arame liso, e para o controle da
484 temperatura e correntes de ar utilizou-se cortinas. Até o início da fase experimental, os
485 22 dias de idade, as aves foram alojadas em galpão convencional e receberam dietas a
486 base de milho e farelo de soja de acordo com a exigência de Rostagno et al. (2011).

487 Os quatro níveis de óleo de algodão foram 0%, 2%, 4% e 6% respeitando a
488 exigência energética de cada fase, preconizada por Rostagno et al. (2011). O sulfato
489 ferroso (Fe₂(SO₄)₃) foi incluído na dosagem de 0,1%, conforme Santos et al. (2009).

490 As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências
491 nutricionais dos frangos de acordo com a recomendação de Rostagno et al. (2011). O
492 óleo de algodão utilizado foi obtido pelo método de prensagem mecânica. Para a
493 formulação utilizou-se a composição dos ingredientes de acordo com Rostagno et al.
494 (2011), exceto para o óleo de algodão em que foi considerada a energia metabolizável
495 determinada em estudos anteriores de 7732 Kcal/kg para o óleo de algodão e 8270
496 Kcal/kg para o óleo de algodão com sulfato ferroso. O teor de gossipol livre analisado
497 no óleo de algodão foi de 1,2% (12551 ppm).

498 A água foi fornecida “*ad libitum*”, sendo trocadas duas vezes ao dia para evitar
499 aquecimento e fermentação, adotou-se o programa de iluminação contínua (luz natural
500 + luz artificial) e as rações foram fornecidas à vontade.

501 O experimento transcorreu até 42 dias de idade das aves, onde nesse período
502 foram sacrificadas 40 aves para necropsia e coleta de órgãos para realização de exame
503 histopatológico. Os órgãos coletados (fígado e pâncreas) foram fragmentados com
504 aproximadamente 1 cm³ e armazenados em cassetes histológicos, os quais foram
505 imersos em solução aquosa de formaldeído a 10% tamponado com pH neutro, por no
506 mínimo 72 horas para fixação (Rodrigues, 1998) até o início do processamento
507 histológico padrão com inclusão em Paraplast[®] (Paraplast Embedding Media –
508 Paraplast Plus[®]) (Behmer, 1976) e posterior secção dos blocos na espessura de 4µm em
509 micrótomo rotativo. Os cortes foram corados em Hematoxilina-Eosina (HE) (Tolosa et
510 al., 2003). A preparação das lâminas e as leituras das mesmas foram realizadas no
511 Laboratório de Anatomia da UFPI- CPCE.

512 As alterações histopatológicas foram analisadas pelo método semi-quantitativo,
513 que classifica as alterações quanto ao grau de intensidade das lesões, numa escala de 0 a
514 3 em que 0 = normal, 1 = leve, 2 = moderada e 3 = severa (Pirani, 1994).

515 A avaliação semi-quantitativa foi realizada pela análise dos cortes em
516 microscópio, analisando a presença e a intensidade das alterações histopatológicas. Os
517 cortes foram avaliados e registrados por meio de uma câmera digital TOUPCAM[™] de 5
518 megapixels, acoplada ao microscópio trinocular (Nova optical systems[®]) com registro
519 fotográfico realizada pelo software ToupView 3.7[®].

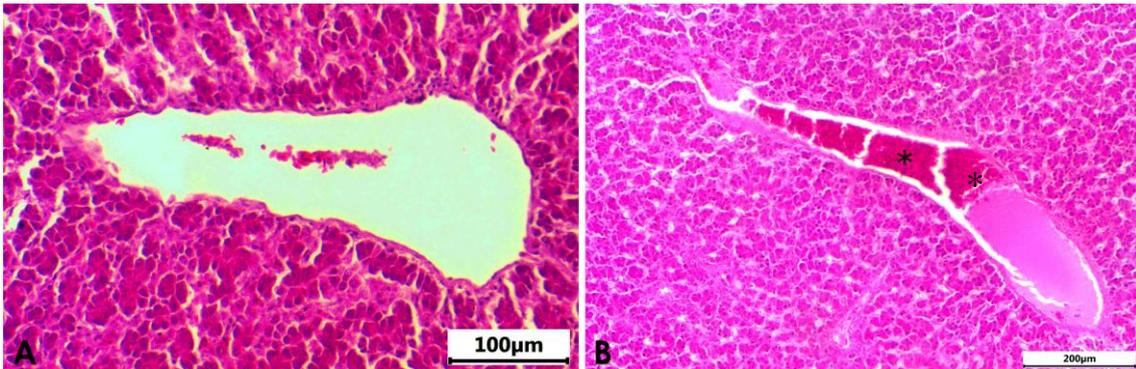
520 Os resultados da avaliação semi-quantitativa foram analisados no programa
521 estatístico Bioestat 5.3[®], por testes não-paramétrico: 1) teste de Mann-Whitney para
522 comparação entre dois grupos; 2) teste de Kruskal-Wallis para análise de variância.
523 Quando houve diferença significativa aplicou-se o teste de Student-Newman-Keuls para
524 comparação múltipla de grupos.

525

526 **Resultados e Discussão**

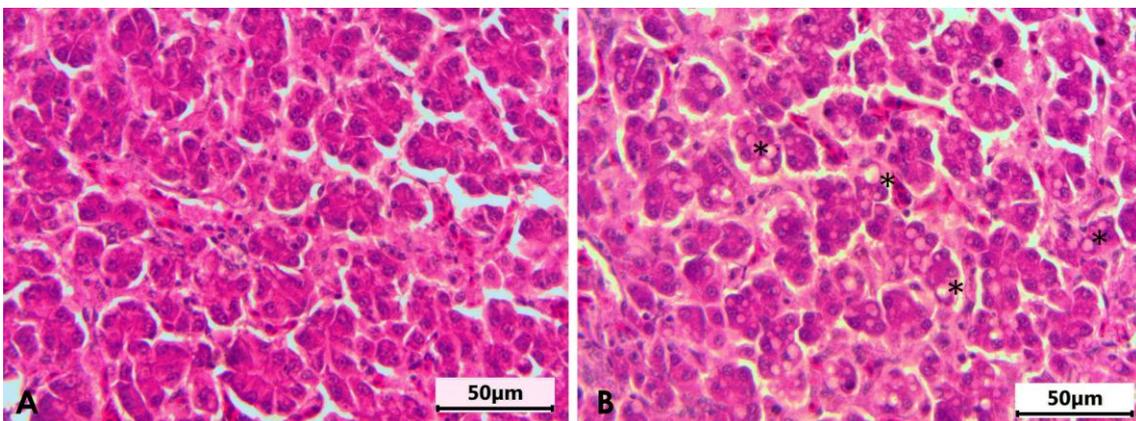
527 As análises das lesões foram feitas em todas as aves, encontrando-se no fígado:
528 congestão em 35 aves, degeneração em 23 e inflamação em 35 independentemente do
529 tratamento.

530 A intensidade de congestão hepática mais observada foi a leve e a severa com
531 mesma frequência de ocorrências. Sendo que o tratamento sem óleo de algodão com
532 adição de sulfato ferroso foi onde a congestão ocorreu em menor intensidade e o
533 tratamento que apresentou maior severidade foi o grupo dos animais alimentados com
534 dieta contendo 2% de óleo de algodão adicionado de sulfato ferroso (Fig. 1).
535



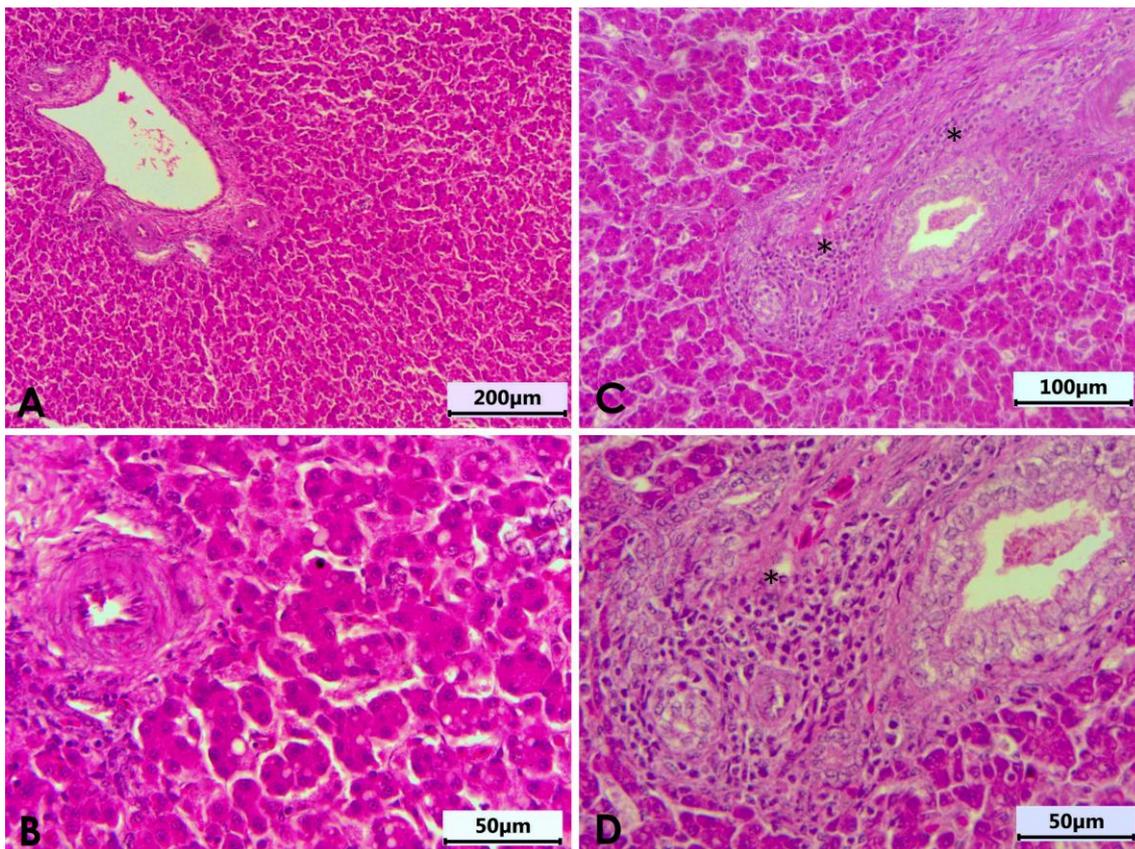
536
537 Figura 1: Fígado, em A observa-se um vaso sem congestão (normal) e em B um vaso
538 com congestão (*) severa. Coloração: HE. Objetiva: 10x.
539

540 Em relação à degeneração esta se apresentou majoritariamente como severa em
541 especial nos animais alimentados com dieta contendo 2% de óleo de algodão sem
542 adição de sulfato ferroso (Fig. 2).



543
544 Figura 2: Fígado, em A tecido hepático sem degeneração (normal) e em B tecido
545 hepático com degeneração, evidenciando os vacúolos (*). Coloração: HE. Objetiva:
546 20x.
547

548 O infiltrado inflamatório encontrado no fígado era constituído principalmente de
549 células mononucleares (linfócitos e macrófagos), a lesão localizava-se ao redor dos
550 vasos (perivascular) e ao redor de ductos biliares, e intensidade variando de leve a
551 severa (Fig. 3).



552
 553 Figura 3: Fígado, em A tecido hepático sem infiltrado inflamatório (normal) e em B
 554 tem-se a mesma área ampliada em destaque evidenciando a ausência da lesão. Na
 555 fotomicrografia C pode-se observar o infiltrado inflamatório perivascular severo (*), em
 556 D a evidenciação desta alteração no tecido hepático. Coloração: HE. Objetiva: 10x (A e
 557 C) e 40x (B e D).
 558

559 O infiltrado inflamatório observado no grupo controle pode ter ocorrido devido
 560 algum tipo de estresse que as aves possam ter sido submetidas, pois segundo Thomson
 561 (1983), a inflamação pode ser causada por agentes não vivos capazes de agredir os
 562 tecidos como trauma, irradiação, calor, frio e toxinas.

563 A comparação entre os tratamentos com 0% e 2% de óleo de algodão, ambos
 564 sem adição de sulfato ferroso, revelou diferença significativa para as variáveis congestão
 565 ($p=0,0718$), infiltrado inflamatório ($p=0,0586$) e degeneração ($p=0,0873$) (Teste de
 566 Mann-Whitney).

567 A análise estatística também revelou diferença significativa na comparação entre
 568 os tratamentos 0% de óleo de algodão com 2% de óleo de algodão, ambos adicionados
 569 de sulfato ferroso, para as lesões de congestão ($p=0,0873$) e infiltrado inflamatório

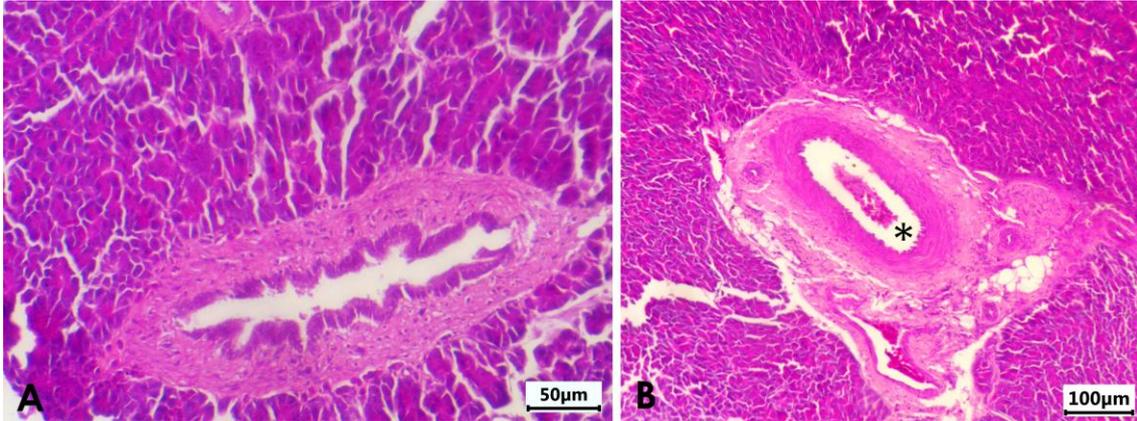
570 (p=0,0379) (Teste de Mann-Whitney), sendo o tratamento com 2% de óleo de algodão o
571 mais lesivo.

572 Observou-se ainda diferença significativa para infiltrado inflamatório
573 (p=0,0081) e degeneração (p= 0,0473) (Teste de Mann-Whitney) quando comparado os
574 tratamentos com 2% de óleo de algodão com e sem sulfato ferroso respectivamente, a
575 presença de infiltrado inflamatório de maior intensidade foi observada nas aves tratadas
576 com adição de sulfato ferroso. A degeneração foi mais expressiva nos indivíduos que
577 receberam a dieta sem adição de sulfato ferroso.

578 As alterações observadas no fígado podem ser explicadas pelo fato do mesmo
579 desempenhar uma importante função no metabolismo e na biotransformação de
580 substâncias exógenas e por esse motivo, o tecido hepático acaba sendo alvo potencial de
581 substâncias tóxicas (Guillouzo, 1998). Isso pode ser demonstrado através dos resultados
582 encontrados neste experimento e em outros estudos anteriores como o de Blevins et al.
583 (2010) que analisaram os efeitos tóxicos do gossipol em diferentes linhagens de frangos
584 alimentados com uma dieta com 0,1% de gossipol livre por 21 dias e estes apresentaram
585 lipidose hepática. Kakani et al. (2010) estudaram a toxicidade relativa do gossipol em
586 frangos de corte que receberam uma dieta com 0,4% de gossipol total por 20 dias e estes
587 apresentaram fígado com aumento de peso.

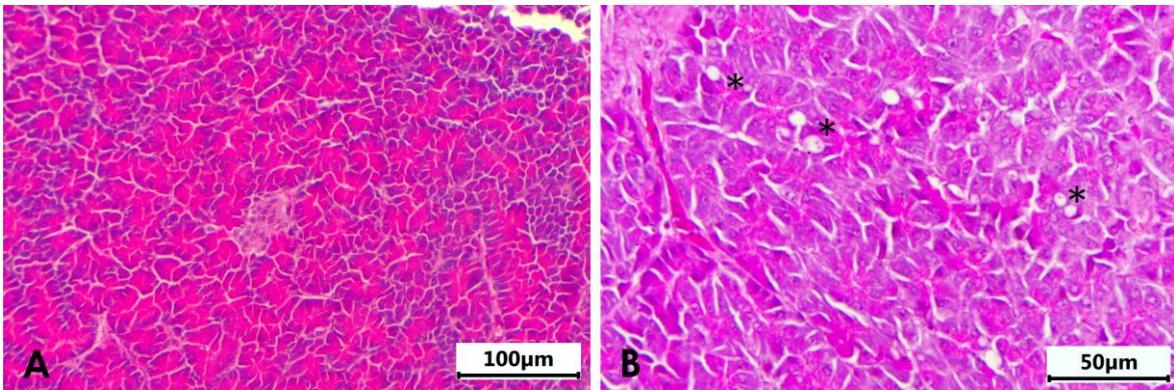
588 No pâncreas foi encontrado: congestão em 24 aves, degeneração em 16 aves e
589 inflamação em 34 aves. Das 24 aves que apresentaram congestão, a maioria foram
590 classificadas com intensidade leve (Fig. 4). Em relação a presença de degeneração a
591 maioria foi normal e nenhuma apresentou um perfil severo (Fig. 5). A presença de
592 processo inflamatório foi classificada como moderada em mais de 50% das amostras
593 independentemente do tratamento (Fig. 6) sendo constituído principalmente de células
594 mononucleares (linfócitos e macrófagos).

595



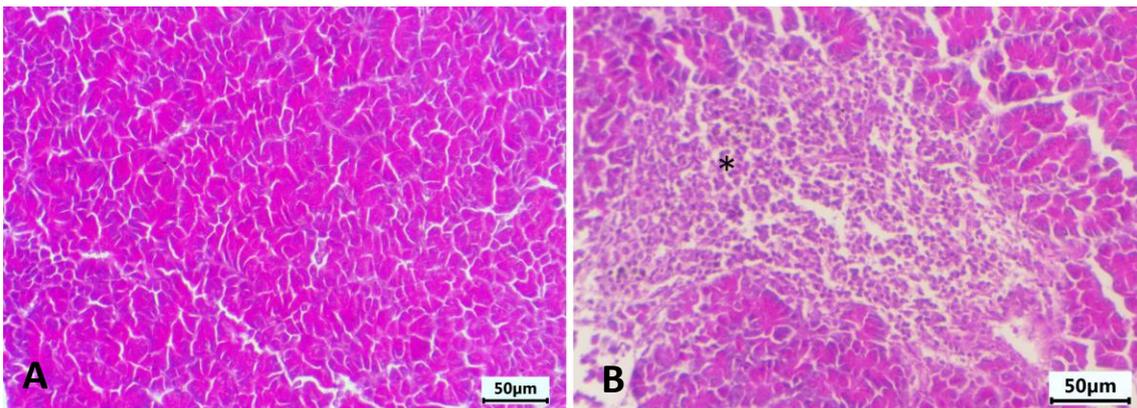
596
597
598
599

Figura 4: Pâncreas, em A observa-se um vaso sem congestão (normal) e em B um vaso com congestão (*) severa. Coloração: HE. Objetiva: 10x.



600
601
602
603
604

Figura 5: Pâncreas, em A apresenta-se tecido pancreático sem degeneração (normal) e em B tecido pancreático com degeneração, evidenciando os vacúolos (*). Coloração: HE. Objetiva: 10x (A) e 20x (B).



605
606
607
608
609

Figura 6: Pâncreas, em A apresenta-se tecido pancreático sem infiltrado inflamatório (normal). Na foto micrografia B pode-se observar o infiltrado inflamatório (*). Coloração: HE. Objetiva: 10x

610 A análise estatística das lesões no pâncreas não apresentaram diferença
611 significativa (Kruskal-Wallis), visto que a somatória dos escores por tratamento da
612 análise semi-quantitativa foi homogênia.

613 Gonzales et al. (1994) estudaram a toxicidade de sementes de fedegoso (*Cássia*
614 *occidentalis* L.) para frangos de corte e encontrou degeneração no pâncreas e fígado,
615 alterações que também foram observadas neste estudo.

616 As alterações encontradas neste estudo estão condizentes com as encontradas
617 por Carvalho et al. (2013) que estudaram os mecanismos da intoxicação do fígado em
618 ratos, causada pelo gossipol e encontraram infiltrado inflamatório e degeneração dos
619 hepatócitos. Sakesena et al. (1981) testaram os efeitos do gossipol em coelhos e
620 observaram congestão no fígado. Haschek et al. (1989) encontraram congestão e
621 degeneração hepática em suínos tratados com farinha de algodão.

622

623 **Conclusão**

624 Os níveis 4% e 6% de óleo de algodão podem ser incluídos nas rações de
625 frangos de corte sem provocar alterações hepáticas significativas. O sulfato ferroso
626 nesses níveis de óleo é desnecessário. O tratamento com 2% de óleo de algodão
627 independente de ter sido adicionado sulfato ferroso ocasionou alterações hepáticas
628 significativas, portanto, menos indicado.

629 No Pâncreas, apesar de não ter apresentado diferença significativa, observou-se
630 que a inclusão de 2% de óleo de algodão com sulfato ferroso foi capaz de causar maior
631 efeito tóxico nos animais.

632

633 **Referências Bibliográficas**

634 BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C; NETO, A.G.F. (Ed). Manual de Técnicas para
635 Histologia Normal e Patológica. São Paulo: Livraria Editora, 1976. 241p.

636 BLEVINS, S.; SIEGEL, P.B.; BLODGETT, D.J. et al. Effects of silymarin on gossypol
637 toxicosis in divergent lines of chickens. *Poultry Science*, v.89, n.9, p.1878-1886, 2010.

638 BRAGA, J.P.; BAIÃO, N.C. Suplementação lipídica no desempenho de aves em altas
639 temperaturas. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, n.31,
640 p.23-28, 2001.

641 CARVALHO, W.L.; MAIOLI, M.A.; MENDES, L.C.N. et al. Mecanismos da
642 intoxicação do fígado de rato causada pelo gossipol. *Pesq. Vet. Bras.* v.33, n.3, P.339-
643 344, 2013.

644 CHEEKE, P.R. (Ed). *Toxicants of Plant Origin*, v.4. CRC Press, Boca Raton, Florida.
645 1989. p.123-190.

646 GONZALES, E.; BUTOLO, J.E.; SILVA, R.D. de M. et al. Toxicidade de sementes de
647 fedegoso (*Cassia occidentalis* L.) para frangos de corte. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v.51,
648 n.1, p.169-174, 1994.

649 GUILLOUZO, A. Liver cell models in vitro toxicology. *Environ Health Perspect.*,
650 v.106, n. 2, p.511-532, 1998.

651 HASCHEK, W.M.; BEASLEY, V.R.; BUCK, W.B.; FINNELL, J.H. Cottonseed meal
652 (gossypol) toxicosis in a swine herd. *J Am Vet Med Assoc.* v.195, n.5, p.613-5, 1989.

653 KAKANI, R.; GAMBOA, D. A.; CALHOUN, M. C. et al. Relative toxicity of
654 cottonseed gossypol enantiomers in broilers. *Open Toxicology Journal*, vol. 4, p. 26-31,
655 2010.

656 LARA, L. J. C; BAIÃO, N. C.; AGUILAR, C. A. L. et al. Efeito de fontes lipídicas
657 sobre o desempenho de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e*
658 *Zootecnia*, v. 57, n. 6, p. 792-798, 2005.

659 NAGALAKSHMI, D.; RAO, S. V. R.; PANDA, A. K.; SASTRY, V. R. B. Cottonseed
660 meal in poultry diets: a review. *The Journal of Poultry Science*, v.44, n.2, p.119-134,
661 2007.

662 PIRANI C. L. Evaluation of kidney biopsy specimens. In: TISHER, C.C.; BRENNER,
663 B.M. (Ed). *Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations*. 2. ed.
664 Philadelphia: Lippincott, v.2. 1994. p.85-115.

665 RODRIGUES, H. (Ed). *Técnicas anatômicas*. 2. ed. Vitória: Arte Visual, 1998. 222p.

666 ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. Tabelas brasileiras para
667 aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa:
668 Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252p.

- 669 SAKESENA, S.K.; SALMONSEN, R.; LAU, I.F.; CHANG, M.C. Gossypol: its
670 toxicological and endocrinological effects in male rabbits. *Contraception*. v.24, n.2,
671 p.203-14, 1981.
- 672 SANTOS, M. S. V.; ESPÍNDOLA, G. B.; LOBO, R. N. B.; FUENTES, M. F. F.;
673 CARVALHO, L. E.; SANTOS, A. B. E. Desempenho e qualidade dos ovos de
674 poedeiras comerciais submetidas às dietas com diferentes óleos vegetais. *Revista*
675 *Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 10, n. 3, 2009.
- 676 SCHOENTAL, R. Liver disease and "natural" hepatotoxins. *Bull World Health Organ*.
677 v.29, p.823-833, 1963.
- 678 THOMSON, R. G. (Ed). *Patologia Geral Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara
679 Koogan, 1983. 412p.
- 680 TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O.A.; FREITAS NETO, A. G.
681 (Ed). *Manual de técnicas para Histologia normal e patológica*. 2 ed., Barueri: Manole,
682 2003. 331p.