

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**XILANASE, PROBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM DIETAS DE  
SUÍNOS EM CRESCIMENTO**

**LUCAS RODRIGO JUSTINO**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**XILANASE, PROBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM DIETAS DE  
SUÍNOS EM CRESCIMENTO**

**LUCAS RODRIGO JUSTINO**

*Sob a Orientação da Professora*  
Cristina Amorim Ribeiro de Lima

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ  
Agosto de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

J96x Justino, Lucas Rodrigo, 1991-  
Xilanase, probiótico e simbiótico em dietas de suínos  
em crescimento / Lucas Rodrigo Justino. - São  
Lourenço, 2019.  
43 f.

Orientadora: Cristina Amorim Ribeiro de Lima.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, PPGZ/ZOOTECNIA, 2019.

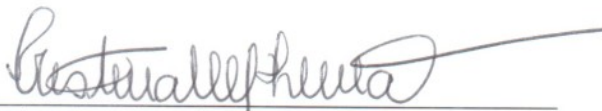
1. Aditivos. 2. Manejo nutricional. 3. Microbiota.  
4. Saúde intestinal. 5. Suínos. I. Lima, Cristina  
Amorim Ribeiro de, 1963-, orient. II Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro. PPGZ/ZOOTECNIA III.  
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LÚCAS RODRIGO JUSTINO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

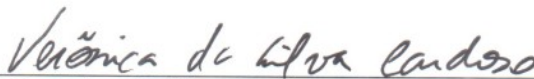
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 02/08/2019



Cristina Amorim Ribeiro de Lima. Dr<sup>a</sup>. UFRRJ  
(Presidente)



Antônio Assis Vieira. Dr. UFRRJ



Verônica da Silva Cardoso. Dr<sup>a</sup>. UFRJ

*Ao misericordioso Deus, pela oportunidade e a motivação concedidas.*

*A minha mãe Roselia Aparecida Justino, pelo amor dedicado a mim, e por ser meu maior exemplo de força e garra.*

*Aos meus avós, Manoel Justino Neto e Nair Gabriel, por seu amor e carinho, e pelos ensinamentos sobre respeito e valorização dos animais.*

*A todos os familiares e amigos, por todo apoio e amparo que foram essenciais para essa conquista.*

***Com amor Dedico.***

*Tem mais Deus para dar...*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Deus que me dá força e coragem para prosseguir na minha caminhada, e assim evoluir e colaborar para o processo evolutivo dos meus semelhantes.

A minha mãe Roselia Aparecida Justino, por sua dedicação a mim e as minhas irmãs, e por ser um exemplo de persistência e superação. Aos meus avós pelo carinho e incentivo, e por me ensinarem a respeitar os animais. Aos familiares e todos os amigos, pela luz, ajuda e companheirismo, e por compartilharem comigo os momentos bons e ruins.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por ser a minha segunda casa durante os últimos sete anos, e pela oportunidade de crescimento profissional e realização pessoal. Ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia da UFRRJ, por me possibilitar a realização do mestrado.

A minha orientadora Dra. Cristina Amorim Ribeiro de Lima, pela amizade, paciência e orientação. Ao professor Dr. Antonio Assis Vieira, pelas contribuições na minha vida acadêmica até aqui, e pelo suporte durante a pesquisa. Ao responsável técnico pelo setor de suinocultura da UFRRJ, Bruno da Silva de Vasconcelos, pelo apoio desde a produção dos animais e preparo do experimento, até a coleta de dados no campo. A Dra. Christiane da Silva Souza, pela contribuição intelectual e pelo companheirismo.

A todos os meus colegas do grupo de pesquisa que me auxiliaram no experimento e nas análises.

Aos animais envolvidos no experimento, que possibilitaram a realização do projeto de pesquisa, os meus mais sinceros respeitos e agradecimentos.

A empresa Salus pelo fornecimento dos aditivos utilizados nas dietas experimentais.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO GERAL

JUSTINO, Lucas Rodrigo. **Xilanase, Probiótico e Simbiótico em dietas de Suínos em Crescimento**. 2019. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Produção Animal). Instituto de Zootecnia, Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

O experimento foi realizado com o objetivo de investigar a suplementação da enzima xilanase individualmente, ou associada com probiótico ou simbiótico na dieta de suínos com redução do valor de energia metabolizável. As variáveis estudadas foram: consumo de ração diário (CRD), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA), parâmetros ósseos, morfometria intestinal, diversidade da microbiota intestinal e viabilidade econômica das dietas experimentais. Foram utilizados 75 leitões machos castrados e fêmeas, com peso médio inicial de  $25,024 \pm 3,21$  kg. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, contendo cinco tratamentos, cinco blocos totalizando 25 unidades experimentais compostas por três suínos (dois machos e uma fêmea), sendo os tratamentos: T1= Dieta referência; T2= Dieta basal com redução de 100 kcal/kg de energia metabolizável; T3= T2 + xilanase (100g/ton.); T4= T3 + probiótico (*B subtilis* e *Bacillus Licheniformis*) e T5= T3 + simbiótico (*B subtilis* e *Bacillus Licheniformis* e mananoligossacarídeo). Os animais que receberam a dieta T4 apresentaram menor CRD ( $P < 0,05$ ) no primeiro período experimental (1-22 dias) em relação àqueles receberam a dieta T2. No segundo período experimental (23-30 dias) não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para as variáveis de desempenho. Já no período total (1-30 dias) foi observado que o T2 resultou em piora ( $P < 0,05$ ) da conversão alimentar em relação ao T4, não sendo observadas diferenças significativas entre estes tratamentos e os demais. A dieta T5 resultou em maior relação altura das vilosidades: profundidades das criptas no jejuno em comparação ao T2. Em relação à diversidade microbiana do conteúdo cecal, foi constatada maior abundância relativa (% de UTOs) para os filos *Firmicutes*, *Actinobactéria* e *Proteobactéria* independente do tratamento. As famílias mais abundantes foram *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* e *Clostrideaceae*. Rações de suínos em crescimento com redução de 100 kcal/kg de EM e suplementadas com xilanase, probiótico e simbiótico resultaram em parâmetros de desempenho semelhantes quando comparadas aos resultados dos suínos que receberam ração referência. A utilização de xilanase aliada ao probiótico na ração melhorou a conversão alimentar em relação à dieta com redução energética sem estes aditivos. A combinação de xilanase e simbiótico promoveu uma maior relação altura das vilosidades: profundidade das criptas. A utilização conjunta de xilanase e probiótico resultou em melhor índice de eficiência econômica e melhor índice de custo.

**Palavras-chave:** Aditivos, Desempenho, Manejo Nutricional, Microbiota, Saúde Intestinal.

## ABSTRACT

JUSTINO, Lucas Rodrigo. **Xylanase, Probiotic and Symbiotic in Growing Pork Diets**. 2019. 43p. Dissertation (Master in Science, Animal Production). Institute de Zootecnia, Department of Animal Nutrition and Pastures, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

The experiment was carried with the objective of investigating the supplementation of the enzyme xylanase individually or in combination with probiotic or symbiotic in the diet of pigs with reduction of the level of metabolizable energy. The variables studied were daily dietary intake (CRD), daily weight gain (GPD), feed conversion (CA), bone parameters, intestinal morphometry, intestinal microbiota diversity and economic viability of the experimental diets. Seventy five male and female piglets were used, with a mean initial weight of  $25,024 \pm 3,21$  kg. The experimental design was a randomized block design, containing five treatments, five blocks totaling 25 experimental units composed of three pigs (two males and one female), with the following treatments: T1 = Reference diet; T2 = Basal diet with reduction of 100 kcal / kg of metabolizable energy; T3 = T2 + xylanase (100g / ton); T4 = T3 + probiotic (*B subtilis* and *Bacillus Licheniformis*) and T5 = T3 + symbiotic (*B subtilis* and *Bacillus Licheniformis* and Mananoligosaccharide). It was observed that the animals that received the T4 diet presented lower CRD ( $P < 0.05$ ) in the first experimental period (1-22 days) in comparison to those that received the T2 diet. In the second experimental period (23-30 days) there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) between treatments for any of the performance variables. In the total period (0-30 days) it was observed that T2 resulted in worsening of feed conversion in relation to T4, and no significant differences were observed between these treatments and the others. The T5 diet resulted in a higher ratio of villus height: crypt depths in the jejunum compared to T2. In relation to the microbial diversity of the cecal content, the relative abundance (% of OTUs) for the *Firmicutes*, *Actinobacteria* and *Proteobacteria* phylae independent of the treatment were observed at phylum level. While at the family level the greatest abundance was for *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* and *Clostrideaceae*. Growth pigs rations with reduction of 100 kcal/kg of ME and supplemented with xylanase, probiotic and simbiotic resulted in similar performance compared with the results of pigs receiving reference ration. The xylanase plus probiotic improved the feed conversion compared to the energetic reduction diet without these additives. The xylanase and symbiotic combination prooted the biggest villus height:crypt depth ratio. The joint use of xylanase and probiotic results in best economic efficiency and best cost ratio.

**Key words:** Additives, Intestinal Health, Microbiota, Nutritional Management, Performance.



## LISTA DE TABELAS

### XILANASE, PRÓBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição percentual e química das rações experimentais na fase crescimento 1 .....  | 15 |
| <b>Tabela 2.</b> Composição percentual e química das rações experimentais na fase crescimento 2 .....  | 16 |
| <b>Tabela 3.</b> Inclusão da xilanase de forma conjunta ou não com probiótico ou simbiótico, com ou sem redução da energia metabolizável, sobre o desempenho de suínos em crescimento (70 – 100 dias) em cada período experimental .....                             | 23 |
| <b>Tabela 4.</b> Características físicas e químicas do terceiro osso metacarpo de suínos aos 107 dias de idade, alimentados com rações contendo em xilanase de forma conjunta ou não com probiótico ou simbiótico, com ou sem redução da energia metabolizável ..... | 25 |
| <b>Tabela 5.</b> Parâmetros morfométricos do jejuno, altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação entre altura das vilosidades e profundidade da cripta, de suínos aos 107 dias de idade .....   | 26 |
| <b>Tabela 6.</b> Viabilidade econômica do uso das dietas experimentais .....   | 33 |

## LISTA DE FIGURAS

### XILANASE, PRÓBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Varrão Pietrain .....  | 13 |
| <b>Figura 2.</b> Matriz F1(Large white x Landrace) .....  | 13 |
| <b>Figura 3.</b> Boxe Experimental.....   | 14 |
| <b>Figura 4.</b> Unidade experimental .....   | 14 |
| <b>Figura 5.</b> Pesagem no início do experimento .....   | 17 |
| <b>Figura 6.</b> Segmentos intestinais.....   | 18 |
| <b>Figura 7.</b> Eppendorfs com os pools de conteúdo cecal .....  | 18 |
| <b>Figura 8.</b> Avaliação do peso in natura e comprimento do metacarpo .....   | 19 |
| <b>Figura 9.</b> Medição do diâmetro vertical e diâmetro horizontal do metacarpo.....   | 19 |
| <b>Figura 10.</b> Ossos após queima na mufla e solução mineral.....   | 20 |
| <b>Figura 11.</b> Imagens da mucosa do jejuno dos suínos .....  | 27 |
| <b>Figura 12.</b> Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) atribuídas ao nível de filo, expressando a composição da microbiota no conteúdo cecal de suínos aos 107 dias de idade. .... | 28 |
| <b>Figura 13.</b> Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de famílias que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias). ....                   | 29 |
| <b>Figura 14.</b> Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de famílias que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias). ....                   | 31 |
| <b>Figura 15.</b> Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de espécies que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias). ....                   | 31 |
| <b>Figura 16.</b> Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de espécies que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias). ....                   | 32 |

## LISTA DE ABREVIACÕES

CA conversão alimentar  
CRD consumo de ração diário  
EM energia metabolizável  
Fe ferro  
FTU unidade formadora de fitase  
GPD ganho de peso diário  
kcal quilocaloria  
kg quilograma  
pH potencial hidrogeniônico  
PNAs polissacarídeos não amiláceos  
ppm partes por milhão  
UTOs unidades taxonômicas operacionais  
Zn zinco

## SUMÁRIO

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | INTRODUÇÃO .....  | 1  |
| 2     | REVISÃO DE LITERATURA .....   | 2  |
| 2.1   | Enzimas e aditivos moduladores da microbiota .....                  | 2  |
| 2.1.1 | Enzimas .....   | 2  |
| 2.1.2 | Moduladores da microbiota .....                                     | 2  |
| 2.2   | Saúde intestinal vs Desempenho .....                                | 3  |
| 2.2.1 | Dieta vs Saúde intestinal .....                                     | 4  |
| 2.2.2 | Modulação da microbiota intestinal através do uso de aditivos ..... | 5  |
| 2.3   | Avaliação estratégica do microbioma .....                           | 7  |
| 2.4   | Uso de xilanase na ração .....                                      | 8  |
| 2.5   | Uso de probióticos e simbióticos na ração .....                     | 10 |
| 3     | MATERIAL E MÉTODOS .....  | 13 |
| 3.1   | Local do Estudo .....   | 13 |
| 3.2   | Comitê de ética .....   | 13 |
| 3.3   | Animais e instalações .....   | 13 |
| 3.4   | Dietas experimentais e Manejo alimentar .....                       | 15 |
| 3.5   | Coleta da materiais biológicos .....                                | 17 |
| 3.6   | Parâmetros ósseos .....   | 19 |
| 3.7   | Diversidade microbiana .....  | 20 |
| 3.8   | Morfometria do epitélio intestinal .....                            | 21 |
| 3.9   | Viabilidade econômica das dietas experimentais .....                | 22 |
| 3.10  | Análises estatísticas .....   | 22 |
| 4     | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 23 |
| 4.1   | Desempenho .....  | 23 |
| 4.2   | Caraterísticas ósseas .....   | 25 |
| 4.3   | Morfometria intestinal .....  | 26 |
| 4.4   | Diversidade Microbiana Intestinal .....                             | 28 |
| 4.5   | Avaliação Econômica .....   | 32 |
| 5     | CONCLUSÕES .....  | 34 |
| 6     | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                    | 35 |
| 7     | ANEXO .....   | 43 |

# 1 INTRODUÇÃO

Os avanços nos campos do melhoramento genético, nutrição e boas práticas de manejo, levaram ao aumento da produtividade na suinocultura brasileira. O maior aproveitamento dos ingredientes utilizados na formulação de dietas para suínos é crucial para a eficiência do manejo nutricional, e está relacionado à melhora dos processos de digestão e absorção.

Os ingredientes de origem vegetal por vezes apresentam certas limitações ao uso pela presença de fatores antinutricionais. Os polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são os principais componentes da parede celular vegetal, sendo compostos pela união de suas unidades formadoras por ligações glicosídicas do tipo beta, que os torna indigeríveis nos monogástricos. Tais substâncias encapsulam os nutrientes e aumentam a viscosidade da digesta, diminuindo a efetividade do ataque enzimático com consequente comprometimento da absorção de nutrientes.

O emprego de aditivos zootécnicos que contribuam para a manutenção da saúde intestinal e melhorem a digestibilidade dos nutrientes, podem promover melhora nos resultados produtivos e econômicos na produção de suínos.

A enzima xilanase atua na hidrólise dos arabinoxilanos solúveis e desta forma promove redução na viscosidade da digesta, melhorando a digestibilidade dos ingredientes que possuem tais carboidratos estruturais.

Os probióticos, por sua vez, são microrganismos vivos não patogênicos moduladores da microbiota intestinal e trazem benefícios à saúde do hospedeiro, podendo ainda melhorar a digestibilidade dos nutrientes.

Os simbióticos, por sua vez, são uma mistura de probióticos e prebióticos, que beneficiam o hospedeiro ao melhorar a sobrevivência de microrganismos benéficos, além de fornecer um suprimento destes microrganismos vivos no trato gastrointestinal.

A xilanase pode modular a microflora intestinal via liberação de oligossacarídeos, que por sua vez atuam como prebióticos e tendo assim um efeito sinérgico com os probióticos potencializando os efeitos destes.

A suplementação de dietas formuladas com ingredientes de origem vegetal com estes aditivos tem potencial para melhorar a eficiência alimentar dos animais, e favorecer a funcionalidade do trato gastrointestinal, com possíveis benefícios sob as características produtivas e a funcionalidade do trato gastrointestinal.

Por estas razões, foi conduzido este trabalho visando investigar a utilização da xilanase associada ou não com probiótico ou simbiótico, em dietas de suínos em crescimento com redução do valor energético, sobre o desempenho, parâmetros ósseos, morfometria intestinal, diversidade microbiana e viabilidade econômica das dietas experimentais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Enzimas e Aditivos Moduladores da Microbiota

#### 2.1.1 Enzimas

Enzimas são proteínas altamente especializadas, possuem especificidade de substrato e exercem o papel de catalizadores das reações químicas essenciais nos sistemas biológicos (NELSON e COX, 2011).

Segundo Campestrini et al. (2005), as enzimas destinadas a alimentação animal podem ser divididas em dois grupos em função de sua finalidade: 1- enzimas utilizadas com o intuito de complementar quantitativamente as enzimas endógenas dos animais (peptidases, amilases, fitases) e 2- enzimas não sintetizadas pelos animais, ou sintetizadas em proporções reduzidas ( $\beta$ -glucanases, pentosanas, e  $\alpha$ -galactosidases).

A maior parte das enzimas alimentares disponíveis no mercado é oriunda de sistemas de fermentação otimizados que necessitam da utilização de fungos ou bactérias geneticamente modificados, como por exemplo, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* *Bacillus licheniformis* e *Pichia pastoris* (ADEOLA e COWIESON, 2011).

As enzimas exógenas digestivas são utilizadas nas rações de animais de produção visando melhorias sobre a eficiência alimentar, e redução dos custos de alimentação, com consequente maior retorno econômico para os produtores.

O princípio básico da aplicação da biotecnologia enzimática na alimentação animal é melhorar o valor nutritivo dos alimentos por: 1) quebra de fatores antinutricionais que estão presentes em vários ingredientes de origem vegetal, 2) melhorar a disponibilidade de amido, proteína e minerais que são encapsulados em paredes celulares ricas em fibras e / ou ligados em uma forma química que o animal não consegue digerir, 3) hidrólise de ligações químicas específicas em matérias-primas que geralmente não são rompidas pelas enzimas endógenas do animal, liberando mais nutrientes e 4) complementam as enzimas produzidas por animais jovens (OWUSU-ASIEDU et al., 2010).

Os cereais e seus subprodutos são a base da alimentação animal em todo mundo, e possuem fatores antinutricionais que podem diminuir a obtenção de nutrientes das dietas, além de prejudicar o potencial produtivo e a saúde dos animais. As enzimas adicionadas a ração de aves e suínos ao atuarem sobre estas substâncias, permitem a melhor extração de nutrientes das dietas, maior flexibilidade no tipo de ingrediente utilizado na formulação das rações, além de reduzir a produção de resíduos animais, diminuindo impactos ambientais negativos (BEDFORD e PARTRIDGE 2011).

De acordo com Celi et al., (2017) os fatores antinutricionais possivelmente podem afetar em vários níveis a integridade fisiológica, histológica e de modo consequente a integridade funcional do intestino. Desse modo, o emprego de enzimas exógenas na alimentação animal pode ser uma estratégia nutricional para melhorar a eficiência das dietas, contribuindo para o alcance de melhores resultados produtivos e econômicos na produção animal.

#### 2.1.2 Moduladores da microbiota

Probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem melhoras na saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS –FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO, 2002). Estes aditivos estimulam microrganismos que tem a

capacidade de alterar o ambiente gastrointestinal de modo a melhorar o status sanitário e a eficiência alimentar (YIRGA, 2015).

Na prática, Lange et al. (2010) relataram que os probióticos devem possuir algumas características como: 1) capacidade de colonizar o trato gastrointestinal, 2) crescimento em altas taxas e baixo requerimento de nutrientes, 3) suprimir patógenos e seus metabólitos, 4) ser de fácil cultivo em larga escala nas condições comerciais, e 5) se manterem viáveis e com atividade estável nas rações mesmo após seu processamento.

Markowiak e Śliżewska (2018), evidenciaram os critérios que uma fórmula probiótica deve atender : possuir um adequado número de células viáveis, promover um efeito benéfico na saúde do hospedeiro, que também pode englobar o estímulo do crescimento, e propiciar um efeito positivo na função do trato alimentar.

Cepas de microrganismos comumente usados como probióticos são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus salivaricus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* e *Bacillus* e a levedura *Saccharomyces* (RAI et al. 2013; YIRGA, 2015; BARKO et al. 2018, LIU et al., 2018).

Outro aditivo compreendido dentro da classe dos moduladores da microbiota são os prebióticos. Estes são ingredientes não digeridos que estão presentes na dieta e tem impacto positivo no organismo animal, ao estimular seletivamente ou ativamente o crescimento e o metabolismo de uma ou mais bactérias benéficas no trato gastrointestinal, melhorando a saúde intestinal (MILTENBURG, 2000; BRITO et al. 2013).

Wang (2009) citou que existem cinco critérios básicos para que um componente alimentar seja classificado como prebiótico: resistir as condições do trato digestivo superior; sofrer fermentação pela microbiota intestinal; promover benefícios a saúde do hospedeiro; causar a estimulação seletiva de probióticos; manter a estabilidade aos tratamentos de processamentos dos alimentos.

Simbióticos são suplementos onde há combinação de prebiótico e probiótico em uma forma de sinergismo, assim, potencializando seus efeitos benéficos isolados (HAMASALIM, 2016). Deve ser confirmada uma estimulação seletiva do crescimento de microrganismos benéficos, simultaneamente com limitado ou nenhum estímulo de outros microrganismos (MARKOWIAK e ŚLIŻEWSKA, 2018).

O uso conjunto de probióticos e prebióticos, teoricamente confere maior potencial na melhoria da saúde intestinal e conseqüentemente do desempenho dos animais, já que as substâncias prebióticas promovem uma vantagem ao estabelecimento dos microrganismos probióticos no trato gastrointestinal. Esta combinação pode melhorar a viabilidade dos microrganismos probióticos ao longo do trato gastrointestinal, auxiliando na estabilização e/ou aumento dos efeitos probióticos (AWAD, 2008).

Existem na literatura premissas de que a utilização de xilanase em dietas que apresentam polissacarídeos não amiláceos solúveis, ao gerar oligossacarídeos que podem servir de substrato para bactérias benéficas, poderia potencializar a ação benéfica dos probióticos.

## 2.2 Saúde Intestinal vs Desempenho

A saúde intestinal corresponde a um estado estacionário, em que há um equilíbrio simbiótico entre o microbioma e o trato intestinal, e onde o bem estar e o desempenho do animal não são limitados pela disfunção do intestino (CELI et al. 2017). Pluske et al. (2018) consideraram que o termo saúde intestinal pode ser descrito como uma condição de homeostase no TGI, ao que concerne a sua estrutura e função.

Uma maior eficiência dos processos fisiológicos de digestão e absorção, é determinante para que os animais se mantenham saudáveis e mostrem seu máximo potencial produtivo. Sendo assim, o desempenho zootécnico está fortemente relacionado com a saúde do trato gastrointestinal, que por sua vez sofre a influência de diversos fatores. A maioria dos nutrientes disponíveis (carboidratos, proteínas, gorduras, minerais e vitaminas) é absorvida no intestino delgado (Jha e Berrocoso, 2016), e somente um suíno saudável apresenta eficiência na utilização de nutrientes da dieta e deposição de tecido com melhor desempenho produtivo e consequente maior retorno do investimento para os produtores (LIAO e NYACHOTI, 2017).

Intervenções no manejo nutricional buscando a melhora da saúde do TGI, podem ser consideradas ferramentas promissoras na produção animal, uma vez que sua funcionalidade relaciona-se não só com obtenção de nutrientes da dieta, e a proteção do organismo contra agentes nocivos, mas também interfere na forma como o animal utiliza os nutrientes.

Além de ser o ambiente de uma vasta quantidade de microrganismos, o TGI também exerce um papel imunológico considerável e compõe a barreira mais importante que protege o hospedeiro contra patógenos e toxinas, e contra a inflamação desencadeada em função dos efeitos destes (FOUSHE et al. 2016; MARKOWIAK e ŚLIŻEWSKA, 2018).

As vilosidades são projeções da mucosa revestidas por enterócitos, sendo uma unidade funcional do intestino delgado (CHAMONE et al. 2010). Ainda de acordo com estes autores, a manutenção da mucosa requer um gasto energético, e desta forma quanto maior a necessidade de reparo, menos energia é utilizada para o ganho de peso. Tanto a dieta quanto a saúde intestinal, são capazes de alterar a estrutura morfológica do intestino (Liu et al. 2017). Quanto maior a altura das vilosidades e menor profundidade das criptas, melhor será o processo de absorção de nutrientes e menos energia será requerida para o *turnover* celular (Oetting et al. 2006). Em contrapartida, vilosidades atrofiadas culmina em perda de enzimas da borda de escova (sacarase, lactase, dissacaridases) além de redução da área absorptiva (CHAMONE et al. 2010).

### **2.2.1 Dieta vs saúde intestinal**

As características funcionais dos ingredientes da ração assim como os aditivos relacionados à saúde gastrointestinal necessitam maior atenção pelos formuladores das dietas (Celi et al., 2017). Em um alimento, a qualidade nutricional é determinada não somente por seu aporte de nutrientes, mas também por fatores como, higiene, teor de fatores antinutricionais, digestibilidade, palatabilidade e impacto na saúde do intestino (YIRGA, 2015).

Celi et al., (2017) elencaram alguns modos pelos quais a dieta pode influenciar a saúde intestinal: mudança na composição e metabolismo da microbiota do trato gastrointestinal modulando a produção de peptídeos antimicrobianos que podem afetar o crescimento e a adesão de patógenos à mucosa; regulação da função da barreira intestinal e modulação da produção de citocinas; exercer um efeito local e sistêmico sobre a função imune via ativação local de células imunes ou possibilitando a migração destas células no sangue.

Ingredientes que apresentam em sua composição fatores antinutricionais, quando utilizados, podem causar impactos na mucosa intestinal, como por exemplo danos nas vilosidades, prejudicando assim a absorção de nutrientes (CHAMONE et al. 2010).

A dieta impacta expressivamente a composição da microbiota intestinal (Klansing, 2007), e o uso de qualquer aditivo que influencie a digestibilidade da dieta, altera as pressões de seleção sobre a microbiota residente, o que por sua vez irá moderar a eficiência com a qual o hospedeiro utiliza sua alimentação, e as enzimas contituem num desses aditivos (BEDFORD e COWIESON, 2012).



A melhora da digestibilidade da proteína e aminoácidos com a suplementação de dietas para suínos com carboidrases e ou fitase observada por alguns pesquisadores (Yin et al. 2001, Sterk et al. 2007, Kiarie et al. 2012 e Zeng et al. 2018) é relevante não apenas para nutrição mas também para a saúde intestinal dos animais. Segundo Jha e Berrocoso (2016), a fermentação no intestino grosso tanto de proteínas dietéticas não digeridas e proteínas endógenas, gera metabolitos tóxicos que podem afetar a integridade epitelial e promover desordens entéricas.

Carboidratos não digeríveis podem exercer interação nos processos digestivos ao longo do TGI, com a comunidade microbiana, e influenciar a estrutura e a função do intestino (Knudsen et al. 2012). De acordo com Markowiak e Slizewska (2018) distintos nutrientes tais como pectinas, xilanos e celulose, beneficiam o desenvolvimento de diversos microrganismos intestinais.

Uma saúde intestinal mais débil pode surgir da alteração da morfologia das superfícies digestivas, em animais que recebem uma dieta rica em polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (Adeola e Cowieson, 2011). Mudanças na barreira intestinal podem afetar a invasão de substâncias nocivas e a absorção de nutrientes (CHEN et al. 2013).

A fisiologia digestiva da mucosa intestinal pode ser alterada pela fonte de fibra em função da modulação de bactérias intestinais e metabólitos provenientes do processo fermentativo (Chen et al. 2014), que tem implicações importantes para a saúde intestinal do suíno (JHA e BERROCOSO, 2016).

A fermentação de fontes de fibra pela microbiota do trato gastrointestinal resulta na geração de ácidos graxos de cadeia curta e estes ácidos, especialmente o butirato, podem exercer um efeito trófico, isso possivelmente explica a maior proliferação de células da cripta relacionada a fibras (KNUDSEN et al., 2012). Para se manter íntegro e desempenhar seu papel como barreira, o epitélio do intestino requer energia constantemente (Fouhse et al. 2016). Segundo estes pesquisadores o butirato é a fonte energética mais utilizada pelas células intestinais para realização dos processos de proliferação e diferenciação.

### **2.2.2 Modulação da microbiota intestinal através do uso de aditivos**

O microbioma é dinâmico e ao longo da vida o hospedeiro está susceptível a alterações relacionadas a vários fatores, dentre eles, estresse, dieta, ambiente, intervenções médicas e status sanitário (ISAACSON e KIM, 2012; BARKO et al. 2018).

Em relação ao termo microbiota intestinal, Paixão et al. (2016) mencionaram que se refere a diversos microrganismos vivos principalmente bactérias anaeróbias, que colonizam o órgão logo após o nascimento. Estima-se que o número de espécies de bactérias encontradas no TGI de mamíferos está entre 500 e 1000 (KIM e ISAACSON, 2015). Em suínos a microflora intestinal é composta principalmente por *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Streptococci*, *Bacteroides*, *Clostridium perfringens* e *E. coli*, podendo variar em função da idade (DOWARAH et al. 2017).

No intestino dos suínos o microbioma constitui um ecossistema complexo, e se relaciona de forma simbiótica com o animal (Fouhse et al. 2016). Em decorrência de mudança na composição do microbioma em função de doença ou outros fatores, a homeostase entre os microrganismos e o hospedeiro é afetada, o que é chamado de disbiose (BARKO et al. 2018).

Plusk et al. (2018), elencaram alguns fatores que influenciam a diversidade e a atividade da microbiota no TGI de suínos: colonização e sucessão de populações microbianas, idade do animal e seu ambiente de criação, agentes antimicrobianos, composição da dieta, aditivos administrados nas rações, métodos de alimentação, status sanitário, desmame, características ambientais e estação, estresse e genética.

A microbiota exerce um papel importante, pois afeta processos fisiológicos inerentes ao desenvolvimento, a nutrição, ao sistema imune do hospedeiro, com impactos na saúde e no desempenho (RICHARDS et al., 2005). Efeitos benéficos já bem firmados da micoflora comensal, são a fermentação da fibra e a síntese de vitaminas, e além destes, em algumas ocasiões os impactos no sistema imunológico também podem beneficiar o hospedeiro (KLASING, 2007).

A microbiota auxilia na defesa do animal contra a colonização por microrganismos patogênicos, e o exacerbado crescimento de espécies patogênicas ou não (RICHARDS et al., 2005). Entretanto segundo estes autores, bactérias comensais utilizam nutrientes que poderiam ser utilizados pelo hospedeiro, produzem substâncias tóxicas, alteram a morfologia intestinal e provocam uma resposta imune contínua no trato gastrointestinal.

A mudança na microbiota provocada pelo uso de enzimas pode afetar características produtivas do animal, como resultado da estrutura alterada do microbioma que influencia a imunidade do hospedeiro e ou integridade intestinal (BEDFORD e COWIESON, 2012).

As enzimas exógenas podem beneficiar a estabilidade do intestino, diminuindo o substrato para organismos putrefatores, disponibilizando substratos para organismos fermentativos benéficos, e melhorando a defesa do órgão contra o acesso de bactérias indesejáveis (CELI et al. 2017).

Os prebióticos além de estimular o crescimento e a atividade de bactérias benéficas, proporcionam melhorias no ambiente e epitélio intestinal (SILVA et al. 2012), e a ausência de agentes patogênicos tal como de produtos tóxicos na mucosa intestinal, propiciam o desenvolvimento normal e a integridade do epitélio (ROBLES- HUAYNATE et al. 2013).

Alguns prebióticos são capazes de se ligar as fimbrias de bactéria patogênicas promovendo a excreção destes microrganismos através do bolo fecal, e desta forma beneficiam a microbiota ao favorecer o crescimento de microrganismos não patogênicos (BRITO et al. 2013).

Alguns métodos podem potencializar a eficácia dos aditivos probióticos: seleção de cepas mais eficientes, manipulação genética, combinação de várias cepas, e sua combinação com substâncias que resulte em efeito sinérgico (AWAD et al. 2008). A utilização de microrganismos probióticos na alimentação animal está relacionada a sua efetividade comprovada na modulação da microbiota intestinal (MARKOWIAK e ŚLIŹEWSKA, 2018, LIU et al. 2018). Segundo estes autores, tais microrganismos, além de influenciar positivamente o equilíbrio intestinal, constituem uma barreira protetora para o trato.

Weiss et al., (2013) relataram que a eficácia dos probióticos pode ser melhorada pela liberação contínua de substratos específicos, seja de forma direta pela utilização de prebióticos, ou de forma indireta pela suplementação de enzimas que geram tais substratos.

A exclusão competitiva é definida como a ação da microbiota normal que protege o intestino contra o estabelecimento de microrganismos nocivos e diminui o risco de infecções e distúrbios intestinais em suínos (Liao e Nyachoti, 2017). Para estes autores a composição da microbiota intestinal afeta significativamente a saúde do órgão, a utilização de nutrientes da dieta e a saúde do suíno de um modo geral.

Bactérias ácido lácticas exercem efeitos sinérgicos na digestão e mitigam os sintomas da má absorção ao fornecem no lúmen intestinal varias enzimas e vitaminas, e além disso, a hidrólise realizada pelas enzimas bacterianas, aumenta o aporte de aminoácidos livres e ácidos graxos de cadeia curta (ROSS et al. 2010).

*Lactobacillus* ao fermentarem a lactose geram ácido láctico, deste modo há redução do pH a uma extensão que se torna intolerável para bactérias prejudiciais (Yirga, 2015, Dowarah et al. 2017), em adição, algumas cepas destes microrganismos produzem bacteriocinas e desta forma podem modular a composição da microbiota intestinal (KIM E ISAACSON, 2015).

*Escherichia coli* tem sua patogenicidade relacionada a capacidade de colonizar no epitélio intestinal (Menin et al. 2008), e tais bactérias nocivas, exercem seus efeitos prejudiciais quando se fixam na parede intestinal (RAI et al. 2013). Deste modo, os microrganismos probióticos ao se aderirem ao epitélio podem se manter viáveis mesmo em condições desfavoráveis, e promover um efeito benéfico na estabilidade e proteção do ecossistema intestinal (MARKOWIAK E ŚLIŻEWSKA, 2018).

A descaboxilação de aminoácidos por bactérias coliformes culmina na produção de aminas que são tóxicas e irritam o epitélio intestinal, concomitante com a ocorrência de diarreia (Rai et al. 2013, Yirga, 2015), e a redução da proliferação de coliformes promovida por *Lactobacillus* diminui a presença destes metabólitos (DOWARAH, 2017).

Mediante a um desafio por um patógeno, a resposta do sistema imune é a liberação de citocinas pró-inflamatórias que provocam alterações, como por exemplo, anorexia e letargia, além da diminuição da deposição da proteína no músculo e do ganho de peso (CELI et al. 2017).

### **2.3 Avaliação Estratégica do Microbioma**

No que se refere a avaliação estratégica do microbioma de animais, Richards et al. (2005) destacaram dois desafios que foram considerados oportunidades na produção animal: 1- Estabelecer qual microbiota é ótima para a saúde e desempenho dos animais criados em condições comerciais, ou seja, desvendar a microbiota que eleva os benefícios enquanto reduz os custos, e 2- Elaborar intervenções dietéticas dentre outras, que permitam o estabelecimento desta microbiota.

Isaacson e Kim (2012) mencionaram que a análise de microbioma objetiva, compreender as contribuições metabólicas que o microbioma confere a fisiologia e metabolismo no trato gastrointestinal do hospedeiro. Neste sentido, Fohse et al. (2016) destacaram que ainda é necessário definir de forma quantitativa e qualitativa a composição e a função de um ecossistema saudável, para que tais informações sejam utilizadas para promover a saúde e o desempenho animal.

Embora tenham sua importância indiscutível, em função dos avanços que foram obtidos na pesquisa, inclusive no desenvolvimento de novas abordagens para avaliação da diversidade microbiana, as técnicas dependentes de cultivo apresentam algumas limitações. Uma das desvantagens é o tempo consumido com estas técnicas, um fator que limita o número de amostras a ser analisado (Leser et al., 2002). Elas promovem o crescimento seletivo de espécies que estão sendo cultivadas (Richards et al., 2005), além disso, a maioria das espécies presentes no microbioma intestinal não foram cultivadas (Kim e Isaacson 2015).

As técnicas atuais para avaliação da diversidade de microrganismos, permitem que os pesquisadores obtenham informações mais apuradas e confiáveis sobre a composição das comunidades microbianas no trato gastrointestinal. Desta forma, a metagenômica pode auxiliar na elucidação dos efeitos dos aditivos moduladores da microbiota e das enzimas exógenas sobre o ecossistema microbiano dos suínos.

A análise da composição microbiana do trato intestinal pelo emprego de técnicas moleculares, tem figurado como uma abordagem útil para avaliar os efeitos que a dieta e o ambiente desempenham na saúde animal (Konstantinov et al., 2004). O surgimento das tecnologias de sequenciamento de DNA de alto rendimento, aliadas a progressão da bioinformática, foi uma revolução na área de estudo de microbiomas (BARKO et al. 2018).

O gene 16S rRNA é altamente conservado em todas as espécies bacterianas, e deste modo, é um marcador molecular adequado, sendo o uso de suas sequências um método padrão adotado em estudos para identificação e classificação de espécies de bactérias

(RICHARDS et al., 2005; BARKO et al. 2018), e o sequenciamento de DNA de alto rendimento deste gene, tem facilitado a descrição detalhada da microbiota intestinal (KIM e ISAACSON, 2015).

De acordo com Richards et al. (2005) alguns métodos podem ser utilizados para avaliação da comunidade microbiana, como: técnicas que se baseiam no DNA ribossômico 16S (rDNA), informações de sequência de chaperonina-60, eletroforese em gel de gradiente desnaturante por PCR (PCR-DGGE), eletroforese em gel de gradiente de temperatura (PCR-TGGE), polimorfismo de fita simples conformação (SSCP), polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal (T-RFLP), PCR quantitativo (Q-PCR) e microarrays de DNA (RICHARDS et al. 2005). Segundo os autores as espécies podem ser quantificadas por meio das técnicas de hibridação *in situ* fluorescente (FISH), hibridação de blots dot/slot blot ou Q-PCR.

Konstantinov et al. (2004), concluíram que há necessidade de pesquisas interdisciplinares envolvendo imunologistas, nutricionistas e microbiologistas, para que a complexa interação entre a microbiota do TGI e o hospedeiro seja melhor compreendida.

Progressos no entendimento a respeito das interações entre a microbiota e o hospedeiro, tal como sobre as relações entre os diferentes constituintes do microbioma, podem gerar conhecimentos valiosos, que poderão contribuir para melhorar o potencial produtivo dos animais.

## **2.4 Uso de Xilanase na Ração**

O emprego das enzimas exógenas pode ser efetuado visando complementar a síntese de enzimas endógenas do animal ou fornecer tipos de enzimas não produzidas pela espécie suína para degradar compostos específicos de ingredientes de origem vegetal (Pascoal et al 2008). Bedford, e Cowieson, (2012) mencionaram que a utilização de enzimas exógenas, especificamente as que degradam polissacarídeos não amiláceos e as fitases, são comuns em dietas para aves e suínos.

Os polissacarídeos não amiláceos (PNAs), como  $\beta$ -glucanos, arabinoxilanos (arabinose e xilose) e celulose, são os componentes principais da fibra dietética presentes em cereais, e consistem da união de suas unidades formadoras por ligações do tipo beta, o que os torna indigeríveis para monogástricos (Nascimento, 2010). Estas substâncias atuam como uma barreira física ao encapsularem outros nutrientes e assim dificultam a hidrólise efetiva e a absorção (Nortey et al., 2007), prejudicando a digestibilidade da matéria seca e aminoácidos de dietas que contém altos teores de PNAs (OWUSU-ASIEDU et al. 2010).

Na parede celular dos vegetais, até 15% do conteúdo corresponde a PNA, e os suínos jovens podem utilizar efetivamente dietas a base de cereais com maiores teores de PNA, se a suplementação enzimática adequada é realizada (Sterk et al., 2007). As enzimas que hidrolisam PNAs podem otimizar a digestão através da redução da viscosidade intestinal ou através da degradação parcial das paredes das células endospermas, permitindo assim um acesso mais rápido das enzimas pancreáticas ao conteúdo interno (BEDFORD e COWIESON, 2012).

De acordo com LIU et al., (2016), a fibra dietética não pode ser hidrolisada por enzimas digestivas de suínos, e, além disso, impede a digestão e absorção de nutrientes, não só de ingredientes fibrosos, mas também de outros componentes dietéticos, através da restrição física da parede celular, e aumento da viscosidade e da ligação de água da digesta.

Maior nível de  $\beta$ -glucanos e xilose aumentam a viscosidade ileal e diminui a digestibilidade da energia e aminoácidos tanto no intestino delgado quanto no intestino grosso, mas tais efeitos podem ser contornados pela suplementação com  $\beta$ -glucanase e xilanase (YIN et al., 2001). Estes autores observaram redução da viscosidade na parte distal

do intestino delgado com uso de  $\beta$ -glucanase e xilanase em dietas de leitões na fase de creche formuladas com 70% de cevada.

As possíveis maneiras das carboidrases melhorarem a utilização do nitrogênio e aminoácidos são o aumento da hidrólise de proteína dietética e a redução das perdas endógenas e exógenas (Adeola e Cowieson, 2011). Um potencial modo de ação destas enzimas seria permitir o aumento do acesso das peptidases digestivas a proteína da dieta, com melhora indireta da utilização do nitrogênio e dos aminoácidos, que, por conseguinte resultaria em maior digestibilidade destes (KIARIE et al., 2012).

A camada de aleurona dos ingredientes vegetais constituída tipicamente de PNAs abriga quantidades consideráveis de nutrientes que produzem energia (OWUSU-ASIEDU et al., 2010), e o emprego de enzimas exógenas na alimentação animal pode melhorar o aproveitamento energético e nutricional de compostos como os PNAs e oligossacarídeos, além de diminuir a excreção de nutrientes não digeridos (NASCIMENTO, 2010).

Cho e Kim (2013) ao suplementarem dietas de suínos em terminação que continham em sua formulação subprodutos como farelo de trigo, casca de soja, trigo dentre outros, e com redução de 120 kcal/kg da energia digestível com  $\beta$ -mannanase e xilanase, não observaram diferenças significativas no coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, N e Energia bruta em comparação ao controle sem suplementação enzimática, sem estes subprodutos e sem redução do nível energético.

Yin et al., (2001) constataram melhoras no ganho de peso diário e eficiência alimentar de leitões desmamados com suplementação de  $\beta$ -glucanase e xilanase à dietas formuladas a base de cevada. De forma semelhante, Moreira et al., (2009), observaram que a conversão alimentar de leitões na fase inicial melhorou de forma linear ao utilizarem níveis crescentes de carboidrases em dietas que continham 15% de casca de soja.

A suplementação de carboidrases em dietas de suínos pode não trazer resultados consistentes. Alguns trabalhos não mostraram influências na digestibilidade dos nutrientes (MOREIRA et al., 2009, OWUSU-ASIEDU et al., 2010, O'SHEA, et al., 2014) quando houve inclusão de carboidrases dentre elas a xilanase nas dietas de suínos formuladas a base de cereais e subprodutos destes.

Para O'Shea et al., (2014) geralmente não há efeitos da suplementação de carboidrase sobre o desempenho de crescimento de suíno, entretanto, segundo Adeola e Cowieson (2011) as diferenças na resposta nos ensaios de desempenho podem ser atribuídas ao tipo e quantidade de inclusão dos cereais utilizados, a idade do animal, o grau da deficiência de nutrientes limitantes e a extensão em que a enzima aumentou o conteúdo de nutrientes digestíveis.

O emprego de enzimas exógenas na alimentação animal pode melhorar o aproveitamento energético e nutricional de compostos como os PNAs e oligossacarídeos, além de diminuir a excreção de nutrientes não digeridos (NASCIMENTO et al., 2010).

Owusu-asiedu et al., (2010) avaliaram níveis de uma mistura de xilanase e  $\beta$ -glucanase a dietas a base de trigo e cevada, destinadas a leitões nas fases pré-inicial e inicial. Os pesquisadores não observaram efeitos significativos sobre as variáveis zootécnicas consumo de ração (CRD), ganho de peso diário (GPD) e peso corporal PC em comparação ao controle negativo. Em concordância, Kiarie et al. (2012), não constataram efeitos significativos sobre GPD, CRD e eficiência (EA) de suínos na fase de terminação, com a suplementação de dietas a base de grãos mistos e subprodutos destes com xilanase e  $\beta$ -glucanase.

Entetanto, Kiarie et al., (2012) ao utilizarem um complexo enzimático composto por xilanase e  $\beta$ -glucanase em dietas a base de grãos mistos e subprodutos destes, constataram melhora no desempenho de marrãs em fase de crescimento com aumento linear do ganho médio diário (GMD) com a suplementação das carboidrases. Isto resultou em alcance do peso

objetivado, seis dias antes em comparação as marrãs que receberam dietas sem suplementação de carboidrases.

Cho e Kim (2013) estudaram a utilização de  $\beta$ -mannanase e xilanase em dieta de suínos em crescimento que continha farelo de trigo, casca de soja, trigo dentre outros, e, com redução de 120 kcal/kg na energia digestível. Eles observaram melhor conversão alimentar (CA) dos animais em comparação a dieta controle sem redução do nível energético, sem suplementação enzimática e sem estes subprodutos, considerando todo período experimental. No mesmo estudo, os autores constataram que a redução energética, adição de farelo de trigo, casca de soja, trigo e outros subprodutos, aliada a utilização das enzimas não afetou o GMD e CRD dos animais, não havendo diferença em relação ao tratamento controle.

Yin et al., (2001) ao avaliarem os efeitos de carboidrases em dietas formuladas com diferentes tipos de cevada, encontraram aumento na digestibilidade aparente da arabinose, xilose, glicose e PNA total na parte distal do intestino de leitões que receberam dietas com  $\beta$ -glucanase e xilanase. Enquanto Liu et al., (2016) relataram maior coeficiente de digestibilidade aparente do PNA total, xilose total, e PNA solúvel, no duodeno de suínos em crescimento recebendo ração a base de farelo de trigo com adição de complexo enzimático contendo, celulase, xilanase e fitase. Neste trabalho, no íleo, a suplementação enzimática melhorou o coeficiente de digestibilidade aparente do PNA total, xilose total e glicose insolúvel.

Segundo Mocherla e Suryanarayana (2013) a digestibilidade dos carboidratos contidos em dietas a base de milho e farelo de soja é um fator determinante para a disponibilidade de conteúdo energético a qual é dificultada por muitos fatores antinutricionais dentre eles os arabinosilanos (PNAs). A inclusão de carboidrases melhorou a digestibilidade aparente ileal da arabinose, xilose, FDN, PNA insolúvel total, em suínos recebendo dietas com 20% de farelo de trigo (ZENG et al., 2018).

Sterk et al., (2007), ao adicionarem xilanase rações a base de cereais para leitões recém desmamados, notaram melhora na digestibilidade total aparente da proteína bruta, fibra bruta, matéria orgânica, extrativo não nitrogenado e PNAs. Kiarie et al., (2012) relataram aumento linear na digestibilidade total aparente da matéria seca, energia bruta e nitrogênio, ao suplementarem xilanase e  $\beta$ -glucanase em dietas para suínos em crescimento e terminação formuladas a base de grãos mistos e subprodutos destes.

A melhora na degradação da fibra pode também beneficiar a disponibilidade do fósforo (Lindberg et al., 2007) e de acordo com Zeng et al., (2018) a medida que o uso de fitase exógena se torna cada vez mais universal e é pertinente considerar quais vantagens adicionais podem ser concedidas pelo uso simultâneo de carboidrases.

Todas as enzimas disponíveis no mercado podem levar a diminuição dos custos das dietas, no entanto as reduções mais significativas são obtidas com o uso das carboidrases (LIMA et al., 2007).

## **2.5 Uso de Probióticos e Simbióticos na Ração**

A administração dos aditivos moduladores da microbiota, pode promover efeitos benéficos sobre a absorção e utilização dos ingredientes das dietas, características produtivas e parâmetros relacionados a saúde intestinal dos suínos.

Pascoal et al., (2008) não relataram diferenças significativas para a altura de vilosidades do jejuno e íleo, profundidade de cripta do duodeno e íleo e para a relação altura de vilosidade e profundidade de cripta do duodeno, ao adicionarem níveis crescentes de um complexo enzimático ( $\alpha$ - galactosidase,  $\beta$ -glucanase, galactomananase e xilanase) a dietas para leitões desmamados aos 21 dias formuladas a base de milho e farelo de soja. Entretanto, houve aumento linear da altura das vilosidades do duodeno, redução da profundidade das

criptas no jejuno, e, aumento da relação altura da vilosidade/profundidade da cripta, no jejuno íleo.

Giannenas et al. (2016) ao avaliarem a inclusão de aditivos na ração de suínos em terminação formuladas basicamente com trigo, cevada e farelo de trigo, observaram que a utilização de probiótico composto por *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 não promoveu diferença na altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação altura das vilosidades: profundidade das criptas, no jejuno, em comparação ao tratamento controle.

Bon et al., (2010) estudando a suplementação sucessiva de *Saccharomyces cerevisiae* ssp. *bouardii* CNCM I-1079 (seis semanas após o desmame) seguida por *Pediococcus acidilactici* CNCM MA na dieta de suínos não encontraram diferenças significativas na altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação vilosidade:cripta do intestino delgado, em comparação ao tratamento controle.

Microrganismos probióticos, podem suprimir espécies de patógenos através da competição por nutrientes no trato gastrointestinal (YIRGA, 2015). Bon et al., (2010) observaram uma diminuição transitória na contagem de coliformes e *Escherichia coli* nas fezes de leitões às quatro semanas após desmame, recebendo ração com *Saccharomyces cerevisiae*, ssp. *bouardii* CNCM I-1079, em comparação àqueles que receberam ração sem probiótico. Dowarah et al (2017) descreveram diminuição da contagem de *Escherichia coli* e *Clostridium*, nas fezes de suínos em crescimento e terminação, recebendo rações a base de milho, farelo de soja, e, farelo de trigo, com *Lactobacillus acidophilus* NCDC-15 ou *Pediococcus acidilactici* cepa FT28, em comparação ao tratamento controle sem probióticos.

Probióticos podem auxiliar na melhora de características relacionadas ao desempenho animal, como o ganho de peso e a eficiência alimentar (Yirga, 2015), ao beneficiarem o ambiente intestinal (DOWARAH et al. 2017). Segundo Yirga (2015) entre os benefícios postulados sobre o uso de probióticos, há uma interação benéfica com sais biliares, além, de aumento na produção de enzimas com atividade digestiva, maior eficiência na absorção de nutrientes pelo hospedeiro e maior produção de vitaminas.

Bon et al., (2010) ao avaliar a utilização de probiótico sucessivo de *Saccharomyces cerevisiae*, ssp. *bouardii* (CNCM I-1079) e *Pediococcus acidilactici* (CNCM MA 18/5 M), na ração de leitões durante a fase de creche e fase de crescimento, constataram uma melhor conversão alimentar dos animais que receberam a dieta com probiótico em comparação àqueles que receberam a dieta sem o aditivo.

Jorgensen et al., (2016) avaliaram um probiótico cuja base era *Bacillus* na dieta de suínos em crescimento com redução de 3% da exigência de Energia Líquida (kcal/kg) e cevada, trigo e farelo de soja, como principais ingredientes, observaram melhora no GPD e a CA em comparação aos animais que receberam esta mesma dieta, porém sem o probiótico, enquanto não houve diferença significativa em relação aos animais que receberam as dietas referência com ou sem probiótico.

Dowarah et al (2017) investigaram os efeitos de dois probióticos, *Lactobacillus acidophilus* cepa NCDC-15 e *Pediococcus acidilactici* cepa FT28 em dietas de suínos do desmame até a terminação formuladas basicamente com milho, farelo de soja e farelo de trigo. Foi observado que o GDP nas fases de crescimento terminação e período total do experimento foi maior para os animais que receberam ração com probiótico em comparação ao controle, não havendo diferença significativas na resposta quando se comparou o efeito entre os dois probióticos.

Por outro lado, GIANNENAS et al. (2016) ao utilizarem diferentes tipos de aditivos em dietas de suínos em terminação formuladas a base de trigo, cevada e farelo de trigo, detectaram que *Enterococcus faecium* NCIMB 10415, não promoveu nenhuma diferença significativa em relação as variáveis: peso dos animais ao fim do experimento, GMD, CRD e CA, em comparação ao tratamento controle.

Almeida et al. (2017) concluíram em seu estudo que a utilização de um simbiótico em dieta de leitões, cuja base era a mesma que a do aditivo utilizado na presente pesquisa (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e mananoligossacarídeos (MOS), não beneficiou as variáveis zootécnicas dos animais submetidos ao desafio nutricional (dieta de baixa digestibilidade) ao ponto de equiparar seu desempenho aos animais não desafiados.

Segundo Liu et al. (2018) os efeitos de probióticos compostos de múltiplas estirpes, nem sempre são conclusivos, e as propriedades destes aditivos estão atreladas aos microrganismos que os compõe, além de sua eficácia ser afetada pela dosagem, dieta e idade dos animais.

É necessário entender com maior clareza como tais aditivos beneficiam a saúde e o potencial produtivo do animal, bem como quais intervenções no manejo nutricional podem potencializar sua ação.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local do Estudo

O experimento foi conduzido no setor de Suinocultura da Coordenadoria de Produção Integrada ao Ensino, Pesquisa e Extensão, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), município de Seropédica - RJ, Brasil, no período de fevereiro a março de 2019.

#### 3.2 Comitê de Ética

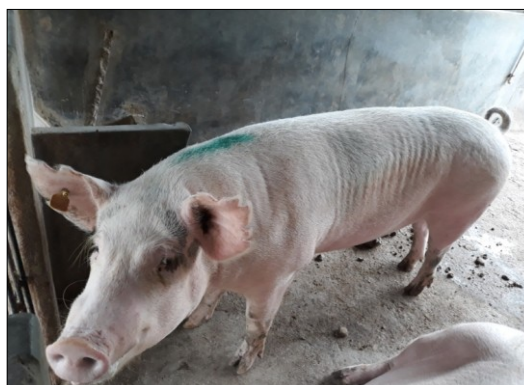
Os procedimentos adotados na pesquisa foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/IZ/UFRRJ) sob o protocolo nº 0031-12-2018, sendo aprovados, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente.

#### 3.3 Animais e Instalações

Para o ensaio de desempenho foram utilizados 75 leitões tricross machos castrados e fêmeas, com peso inicial de  $25,024 \pm 3,21$  kg e, aproximadamente 70 dias de idade, produzidos no setor de Suinocultura da UFRRJ através do cruzamento de varrões da raça Pietrain com matrizes F1 (Large White x Landrace) (Figuras 1 e 2).



**Figura 1.** Varrão Pietrain



**Figura 2.** Matriz F1(Large white x Landrace)

Os leitões foram pesados e distribuídos em cinco blocos em função do peso, em delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos, sendo a unidade experimental composta por dois machos e uma fêmea.

O alojamento dos animais ocorreu em boxes com paredes de alvenaria e piso de concreto, com as dimensões 1,0 x 2,0 metros, 2,0 m<sup>2</sup> de área, equipados com bebedouros automáticos tipo chupeta e comedouros semiautomáticos removíveis (Figuras 3 e 4). Previamente à chegada dos animais, o galpão experimental passou por limpeza e desinfecção, sendo realizada também a caiação dos boxes.



**Figura 3.** Boxe Experimental

Os comedouros foram afixados às paredes por parafuso para evitar sua remoção pelos animais e derramamento da ração .



**Figura 4.** Unidade experimental

### 3.4 Dietas Experimentais e Manejo Alimentar

Cinco dietas, em cada uma das fases do experimento constituíram os cinco tratamentos experimentais: T1= Dieta referência (R); T2= Dieta basal com redução de 100 kcal/kg de energia metabolizável (B); T3= T2 + xilanase (100g/ton.) (BX); T4= T3 + probiótico (*B subtilis* e *Bacillus licheniformis* 200g/ton.) (BXP) e, T5= T3 + simbiótico (*B subtilis*, *Bacillus licheniformis* e parede de leveduras 1kg/ton.) (BXS).

Os ingredientes utilizados para fabricação das dietas, assim como a composição química e energética destas estão expostos nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1.** Composição percentual e química das rações experimentais na fase crescimento 1

| Ingredientes                  | R             | B             | BX            | BXP           | BXS           |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Milho                         | 55,68         | 58,16         | 58,16         | 58,16         | 58,16         |
| Farelo de soja                | 18,81         | 18,36         | 18,36         | 18,36         | 18,36         |
| Farelo de trigo               | 18,30         | 18,30         | 18,30         | 18,30         | 18,30         |
| óleo                          | 3,83          | 1,79          | 1,79          | 1,79          | 1,79          |
| Calcário                      | 1,08          | 1,08          | 1,08          | 1,08          | 1,08          |
| Inerte <sup>1</sup>           | 0,75          | 0,75          | 0,74          | 0,72          | 0,64          |
| Sal                           | 0,43          | 0,43          | 0,43          | 0,43          | 0,43          |
| Suplemento M e V <sup>2</sup> | 0,40          | 0,40          | 0,40          | 0,40          | 0,40          |
| L-Lisina HCL                  | 0,38          | 0,39          | 0,39          | 0,39          | 0,39          |
| L-Treonina                    | 0,14          | 0,14          | 0,14          | 0,14          | 0,14          |
| DL-Metionina                  | 0,10          | 0,10          | 0,10          | 0,10          | 0,10          |
| Cloreto de Colina             | 0,04          | 0,04          | 0,04          | 0,04          | 0,04          |
| L-Triptofano                  | 0,03          | 0,03          | 0,03          | 0,03          | 0,03          |
| Fosfato Bicalcico             | 0,03          | 0,02          | 0,02          | 0,02          | 0,02          |
| Fitase <sup>3</sup>           | 0,01          | 0,01          | 0,01          | 0,01          | 0,01          |
| L-Valina                      | 0,01          | 0,01          | 0,01          | 0,01          | 0,01          |
| Xilanase <sup>4</sup>         | 0,00          | 0,00          | 0,01          | 0,01          | 0,01          |
| Probiótico <sup>5</sup>       | 0,00          | 0,00          | 0,00          | 0,02          | 0,00          |
| Simbiótico <sup>6</sup>       | 0,00          | 0,00          | 0,00          | 0,00          | 0,10          |
| <b>Total</b>                  | <b>100,00</b> | <b>100,00</b> | <b>100,00</b> | <b>100,00</b> | <b>100,00</b> |
| <b>Composições Calculadas</b> |               |               |               |               |               |
| EM (Kcal/kg)                  | 3250          | 3150          | 3150          | 3150          | 3150          |
| Proteína Bruta%               | 15,28         | 15,28         | 15,28         | 15,28         | 15,28         |
| Lisina Digestível %           | 0,95          | 0,95          | 0,95          | 0,95          | 0,95          |
| Metionina Dig %               | 0,31          | 0,31          | 0,31          | 0,31          | 0,31          |
| Met+ Cis Digestível %         | 0,55          | 0,55          | 0,55          | 0,55          | 0,55          |
| Treonina Digestível %         | 0,61          | 0,61          | 0,61          | 0,61          | 0,61          |
| Triptofano Digestível %       | 0,19          | 0,19          | 0,19          | 0,19          | 0,19          |
| Valina Digestível %           | 0,65          | 0,65          | 0,65          | 0,65          | 0,65          |
| Leucina Digestível            | 1,19          | 1,20          | 1,20          | 1,20          | 1,20          |
| Isoleucina Digestível         | 0,55          | 0,55          | 0,55          | 0,55          | 0,55          |
| Fenilalanina Digestível       | 0,67          | 0,67          | 0,67          | 0,67          | 0,67          |
| Fenil + Tir. Digestível       | 1,16          | 1,16          | 1,16          | 1,16          | 1,16          |
| Histidina Digestível          | 0,38          | 0,38          | 0,38          | 0,38          | 0,38          |
| Cálcio %                      | 0,52          | 0,52          | 0,52          | 0,52          | 0,52          |
| Fósforo Disponível %          | 0,16          | 0,16          | 0,16          | 0,16          | 0,16          |
| Fibra Bruta %                 | 3,54          | 3,56          | 3,56          | 3,56          | 3,56          |
| Sódio %                       | 0,19          | 0,19          | 0,19          | 0,19          | 0,19          |

<sup>1</sup> Inerte: areia lavada; <sup>2</sup> Composição do suplemento mineral e vitamínico por kg de produto: Ferro (min): 8.750 mg, Cobre (min): 3.750 mg, Manganês (min): 6.250 mg, Zinco (min): 18,75 g, Iodo (min): 250 mg, Selênio (min) 75mg, Vitamina A (min):1.000.000UI, Vitamina D3 (min): 150.000UI, Vitamina E (min): 3.000UI, Vitamina K3 (min): 750mg, Vitamina

B1(min): 150mg, Vitamina B2 (min): 875mg, Vitamina B6(min) 250mg, Vitamina B12 (min): 4.500mcg, Niacina (min): 5.000mg, Pantotenato de Cálcio (min): 2.500mg, Ácido Fólico (min): 250mg, Biotina (min): 7,5mg, Cloreto de Colina (min): 40 g; <sup>3</sup>Fitase: Smizyme Phytase 10.000FTU/g; <sup>4</sup>Xilanaze: Smizyme Xylanase 10.000U/g; <sup>5</sup> Probiótico: Smibiotics (*Bacillus Subtilis* 10<sup>10</sup>, *Bacilos Licheniformes* 10<sup>10</sup>); <sup>6</sup> Simbiótico: Vitabiotic *Bacillus Subtilis* 10<sup>10</sup>, *Bacilos Licheniformes* 10<sup>10</sup>, Mananoligossacarídeos 7%, Glucanas e Betaglucanas 13%.

**Tabela 2.** Composição percentual e química das rações experimentais na fase crescimento 2

| Ingredientes                  | R      | B      | BX     | BXP    | BXS    |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Milho                         | 71,49  | 73,97  | 73,97  | 73,97  | 73,97  |
| Farelo de soja                | 16,82  | 16,37  | 16,37  | 16,37  | 16,37  |
| Farelo de trigo               | 4,19   | 4,19   | 4,19   | 4,19   | 4,19   |
| óleo                          | 2,30   | 0,26   | 0,26   | 0,26   | 0,26   |
| Calcário                      | 0,81   | 0,82   | 0,82   | 0,82   | 0,82   |
| Inerte <sup>1</sup>           | 3,00   | 3,00   | 2,99   | 2,97   | 2,89   |
| Sal                           | 0,40   | 0,40   | 0,40   | 0,40   | 0,40   |
| Suplemento M e V <sup>2</sup> | 0,45   | 0,45   | 0,45   | 0,45   | 0,45   |
| L-Lisina HCL                  | 0,32   | 0,33   | 0,33   | 0,33   | 0,33   |
| L-Treonina                    | 0,09   | 0,09   | 0,09   | 0,09   | 0,09   |
| DL-Metionina                  | 0,06   | 0,06   | 0,06   | 0,06   | 0,06   |
| Cloreto de Colina             | 0,03   | 0,03   | 0,03   | 0,03   | 0,03   |
| L-Triptofano                  | 0,03   | 0,03   | 0,03   | 0,03   | 0,03   |
| Fitase <sup>3</sup>           | 0,01   | 0,01   | 0,01   | 0,01   | 0,01   |
| Xilanase <sup>4</sup>         | 0,00   | 0,00   | 0,01   | 0,01   | 0,01   |
| Probiótico <sup>5</sup>       | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,02   | 0,00   |
| Simbiótico <sup>6</sup>       | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,10   |
| Total                         | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| <b>Composições Calculadas</b> |        |        |        |        |        |
| EM (Kcal/kg)                  | 3250   | 3150   | 3150   | 3150   | 3150   |
| Proteína Bruta%               | 13,29  | 13,29  | 13,29  | 13,29  | 13,29  |
| Lisina Digestível %           | 0,82   | 0,82   | 0,82   | 0,82   | 0,82   |
| Metionina Dig %               | 0,26   | 0,26   | 0,26   | 0,26   | 0,26   |
| Met+ Cis Digestível %         | 0,48   | 0,48   | 0,48   | 0,48   | 0,48   |
| Treonina Digestível %         | 0,53   | 0,53   | 0,53   | 0,53   | 0,53   |
| Triptofano Digestível %       | 0,16   | 0,16   | 0,16   | 0,16   | 0,16   |
| Valina Digestível %           | 0,58   | 0,58   | 0,58   | 0,58   | 0,58   |
| Leucina Digestível            | 1,16   | 1,17   | 1,17   | 1,17   | 1,17   |
| Isoleucina Digestível         | 0,50   | 0,50   | 0,50   | 0,50   | 0,50   |
| Fenilalanina Digestível       | 0,61   | 0,61   | 0,61   | 0,61   | 0,61   |
| Fenil + Tir. Digestível       | 1,06   | 1,06   | 1,06   | 1,06   | 1,06   |
| Histidina Digestível          | 0,35   | 0,35   | 0,35   | 0,35   | 0,35   |
| Cálcio %                      | 0,38   | 0,38   | 0,38   | 0,38   | 0,38   |
| Fósforo Disponível %          | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   |
| Fibra Bruta %                 | 2,43   | 2,46   | 2,46   | 2,46   | 2,46   |
| Sódio %                       | 0,17   | 0,17   | 0,17   | 0,17   | 0,17   |

<sup>1</sup> Inerte: areia lavada; <sup>2</sup> Composição do suplemento mineral e vitamínico por kg de produto: Ferro (min): 8.750 mg, Cobre (min): 3.750 mg, Manganês (min): 6.250 mg, Zinco (min): 18,75 g, Iodo (min): 250 mg, Selênio (min) 75mg, Vitamina A (min): 1.000.000UI, Vitamina D3 (min): 150.000UI, Vitamina E (min): 3.000UI, Vitamina K3 (min): 750mg, Vitamina B1(min): 150mg, Vitamina B2 (min): 875mg, Vitamina B6(min) 250mg, Vitamina B12 (min): 4.500mcg, Niacina (min): 5.000mg, Pantotenato de Cálcio (min): 2.500mg, Ácido Fólico (min): 250mg, Biotina (min): 7,5mg, Cloreto de Colina (min): 40 g; <sup>3</sup>Fitase: Smizyme Phytase 10.000FTU/g; <sup>4</sup> Xilanaze: Smizyme Xylanase 10.000U/g; <sup>5</sup> Probiótico: Smibiotics (*Bacillus Subtilis* 10<sup>10</sup>, *Bacilos Licheniformes* 10<sup>10</sup>); <sup>6</sup> Simbiótico: Vitabiotic (*Bacillus Subtilis* 10<sup>10</sup>, *Bacilos Licheniformes* 10<sup>10</sup>, Mananoligossacarídeos 7%, Glucanas e Betaglucanas 13%).

As dietas referência foram balanceadas para atender no mínimo as exigências nutricionais de suínos machos castrados de alto potencial genético e desempenho regular médio, nas fases de crescimento um e dois preconizadas por Rostagno et al. (2017). Já, as

dietas basais não atendiam as exigências de energia metabolizável para impor um desafio nutricional aos animais. Com exceção do teor energético as dietas em cada fase eram isonutritivas.

Todas as dietas tinham em sua composição a enzima fitase (0,01%), portanto sua contribuição na matriz nutricional foi considerada, havendo valorização para aminoácidos digestíveis: lisina, metionina, metionina + cistina, treonina, triptofano, leucina, isoleucina e valina, assim como para o fósforo disponível, cálcio e proteína bruta (Anexo 1). Também foi feita a valorização da energia metabolizável nas dietas que continham xilanase (100 kcal/kg de ração).

No ensaio de desempenho os animais permaneceram nos boxes por 30 dias, recebendo ração e água *ad libitum*. Para obter os dados referentes às características produtivas foram realizadas três pesagens (Figura 5) dos leitões: a primeira no início do experimento, a segunda 22 dias após, na ocasião da troca das dietas crescimento 1 para crescimento 2 e a terceira, no final do experimento.



**Figura 5.** Pesagem no início do experimento

O consumo de ração foi estimado considerando a quantidade de ração adicionada, menos a quantidade desperdiçada pelos animais e as sobras nos cochos, ao final de cada período experimental.

### **3.5 Coleta da Materiais Biológicos**

Após encerrado o ensaio de desempenho, um leitão macho de cada unidade experimental foi mantido nos boxes recebendo a dieta experimental durante sete dias. No fim deste período, foi realizado o abate humanitário para coleta de materiais biológicos. Foram escolhidos, para abate, os leitões que tinham o peso mais próximo do peso médio da parcela a qual pertencia.

O método de insensibilização adotado foi a eletronarose, e logo após o atordoamento, foi executada a sangria dos animais via secção dos grandes vasos do pescoço.

Com o animal abatido, em decúbito dorsal sobre uma mesa, foi realizada uma incisão na linha média para abertura da cavidade abdominal e exposição das alças intestinais. Em seguida foi realizada a coleta de tecidos do intestino delgado, além dos conteúdos ileal e cecal.

Foram coletados segmentos de aproximadamente cinco centímetros de comprimento de cada segmento do intestino delgado e do ceco, para análises da histologia intestinal.

Respeitou-se um espaço de 15 cm após o esfíncter pilórico para a coleta do duodeno, 1,5 metros da junção íleo cecal para coleta do jejuno, e 20 cm da junção íleo cecal para coleta do íleo, como descrito por Oetting et al., (2006).

Imediatamente a coleta os tecidos intestinais foram lavados com água destilada e armazenados em frascos de vidro previamente identificados contendo formol (Figura 6) onde permaneceram até o envio para confecção das lâminas em outra instituição.



**Figura 6.** Segmentos intestinais

Todo o conteúdo cecal de cada animal foi coletado, acondicionado em um saco plástico estéril com a identificação do animal e armazenado em um freezer. No final das coletas o conteúdo cecal dos cinco animais de cada tratamento foi reunido em outro saco plástico estéril e homogeneizado, originando cinco pools referentes aos tratamentos experimentais. Em seguida, uma alíquota de cada pool foi colocada em um eppendorf estéril de 2 ml (Figura 7) com a identificação do tratamento, e armazenada em freezer a -20 °C, até o envio para análise da diversidade microbiana.



**Figura 7.** Eppendorfs com os pools de conteúdo cecal

Foi realizado o rompimento da articulação entre os ossos cárpicos da fileira proximal e os ossos radio e ulna, para remoção das patas direitas de cada animal e obtenção dos ossos metacárpicos para análises posteriores.



### 3.6 Parâmetros Ósseos

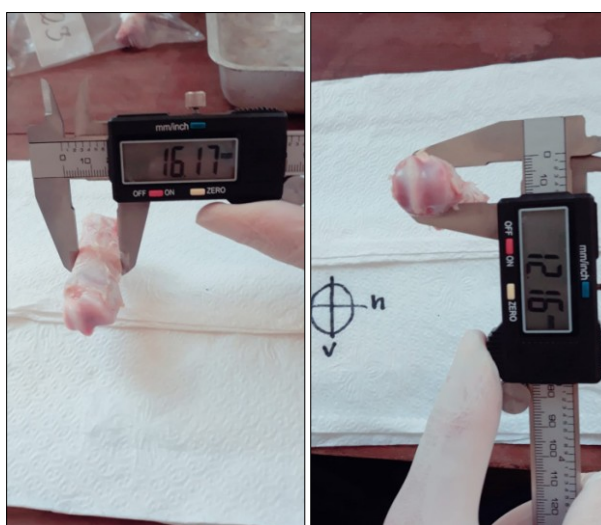
As análises referentes às características físicas e químicas dos ossos foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) da UFRRJ.

Com o auxílio de um bisturi cirúrgico, o osso metacárpo da pata direita foi retirado, lavado e dissecado. Após secagem em temperatura ambiente, foi feita a pesagem em balança digital com precisão de  $\pm 0,0001$  gramas para determinação do peso in natura (Figura 8). Em seguida, com um paquímetro digital, foi mensurado o comprimento do osso, (Figura 8) assim como seus diâmetros vertical e horizontal (Figura 9). Procedimentos adaptados de Ferreira (2015).

Foi calculado o índice de Seedor, por divisão do peso do osso in natura (mg) pelo seu comprimento (mm) (SEEDOR, 1993). O valor do índice está relacionado à densidade óssea, portanto quanto maior, mais denso é o osso.



**Figura 8.** Avaliação do peso in natura e comprimento do metacarpo



**Figura 9.** Medição do diâmetro vertical e diâmetro horizontal do metacarpo

Para determinação dos teores de matéria seca, matéria mineral e fósforo total dos ossos, foram utilizadas metodologias descritas por Silva e Queiroz (2012). As análises ocorreram de forma sequencial. Após determinação da matéria seca em estufa ventilada, os ossos foram queimados em forno mufla, durante 4 horas a temperatura de 600 °C, resultando no valor de matéria mineral. De posse das cinzas (Figura 10) foi preparada a solução mineral (Figura 10), para então ser realizada a quantificação do teor de fósforo pelo método colorimétrico.



**Figura 10.** Ossos após queima na mufla e solução mineral

### 3.7 Diversidade Microbiana

As análises de avaliação da diversidade microbiana foram realizadas em laboratório externo, (Neopropecta Microbiome Technologies, SA) com o emprego da metodologia de diagnóstico microbiológico digital (DMD), preconizada por Christoff et al., (2017).

Inicialmente foram executados processos de extração e purificação do DNA das amostras. Em seguida, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) com primers específicos para a amplificação de uma região genômica que codifica o RNA ribossomal das bactérias, sendo eleito o gene marcador 16S rRNA. Posteriormente foi realizado o sequenciamento de nova geração.

Foram escolhidos primers para amplificação da região V3-V4 seguindo as condições: os primers do primeiro PCR continham as sequências de Illumina baseadas no adaptador de estrutura TruSeq (Illumina, San Diego, CA), permitindo a segunda PCR com sequências de indexação. Para o PCR, as reações foram realizadas em triplicatas utilizando Platinum Taq (Invitrogen, EUA) com as condições: 95 ° C por 5 min, 25 ciclos de 95 ° C por 45s, 55 ° C por 30s e 72 ° C por 45s e extensão final de 72 ° C por 2 min. Já para o PCR 2 as condições foram 95° C durante 5 min, 10 ciclos de 95°C durante 45 s, 66 ° C durante 30 s e 72° C durante 45 s e uma extensão final de 72° C durante 2 min . A reação de PCR final foi limpa utilizando esferas de AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA) e as amostras foram reunidas nas bibliotecas de sequenciamento para quantificação. As estimações de amplificação foram realizadas com ensaios Picogreen dsDNA (Invitrogen, EUA) e, em seguida, as bibliotecas reunidas foram diluídas para quantificação precisa de qPCR usando KAPA Library Quantification Kit para plataformas Illumina (KAPA Biosystems, Woburn, MA).

Para identificação das bactérias, foi realizado o sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. O equipamento utilizado para realização do



sequenciamento foi o MiSeq (Illumina Inc., USA), usando o Kit V2 de 300 ciclos, single-end, sem normalização das bibliotecas. As sequências de DNA dos microrganismos foram analisadas através de um *pipeline* proprietário (Neoprosecta Microbiome Technologies, Brasil). Para a detecção dos diferentes táxons de microrganismos presentes nas amostras, as sequências de DNA obtidas foram comparadas com um banco de dados contendo sequências de DNA já caracterizadas. Após as análises de bioinformática, os resultados do DMD foram disponibilizados na plataforma Neobiome.

### 3.8 Morfometria do Epitélio Intestinal

O preparo das lâminas para as análises histológicas dos cortes de intestino... foram realizados no Laboratório de Histologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil.

Os fragmentos dos órgãos já fixados em formol 10% tamponado foram fracionados em fatias de um cm de comprimento por três mm de largura, as quais foram depositadas em cassetes histológicos e acondicionados novamente na solução de formol tamponado por 24h, para assegurar a fixação dos tecidos.

Após a fixação, ocorreu o processamento dos tecidos em processador automático (Luptec PT05-TS). Para a desidratação dos tecidos os cassetes passaram por banhos sequenciais (1h de duração) de 7 álcoois em concentração crescente (50%, 70%, 90%, 100%, 100%, 100%, 100%). Em seguida foi realizada a diafanização com três banhos de xilol PA, para retirada do álcool, com posterior impregnação do material em dois banhos de parafina fundida (65 °C).

Os fragmentos já parafinizados foram inseridos em um bloco de parafina, utilizando uma central de inclusão (Luptec CI 2014). Os tecidos contidos nos blocos foram cortados no aparelho micrótomo na espessura de 4µm, e afixados nas lâminas de vidro após serem distendidos em banho Maria (45 °C).

Cada fragmento originou cinco cortes, distanciados em aproximadamente 80µm entre si. As lâminas foram levadas para estufa a 65°C, onde permaneceram acondicionadas por 24h, para se iniciar a desparafinização e propiciar a aderência do material ao vidro..

A coloração das lâminas foi executada utilizando a técnica Hematoxilina e Eosina. Para corar os cortes, as lâminas foram submetidas a dois banhos (10 min) com xilol para desparafinização. Posteriormente, o material passou por uma hidratação, em banhos (5 min) de álcoois (100%, 90% e 70%) e água corrente.

A etapa seguinte foi a coloração das lâminas por banho de Hematoxilina (2'30''), seguido de lavagem em água corrente (3 min) e posterior banho de Eosina (1'30'') com nova lavagem para remoção do excesso de corante. Sucessivamente, houve nova desidratação das lâminas em três banhos de álcool em concentração crescente (70%, 90% e 100%) e diafinização com outro banho de xilol. O último passo foi a fixação das lâminas nas lâminas com Entellan.

Para avaliar a morfometria do epitélio intestinal, cinco cortes do jejuno de cada animal foram observados em microscópio com câmera acoplada utilizando o aumento 10x. As imagens dos cortes foram capturadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biologia da UFRRJ, e a altura das vilosidades (µm) e profundidade das criptas (µm) foram mensuradas utilizando o software Pro-Imag J.

Em cada corte foram mensuradas três vilosidade íntegras e dispostas perpendicularmente à luz do órgão, e três criptas, duas mais próximas às extremidades do corte e outra próxima ao centro. Os valores de altura de vilosidade e profundidade de cripta foram somados para obter um valor médio de cada corte. Portanto, foram gerados para cada

animal, cinco valores de alturas de vilosidades e cinco valores de profundidade de cripta que resultaram em valores médios para estas variáveis, que foram submetidos a análise estatística.

### 3.9 Viabilidade Econômica das Dietas Experimentais

Para avaliar a viabilidade econômica das rações, foi calculada a receita líquida obtida com cada dieta, adaptado de Cantareli et al., (2009), o custo da ração por kg de peso vivo ganho, de acordo com Bellaver et al. (1985) e os índices de eficiência econômica (IEE) e de Custo (IC) propostos por Fialho et al. (1992).

Foi realizada a cotação do preço/kg dos ingredientes utilizados na fabricação das dietas no mês de junho de 2019, para chegar ao custo do kg de cada dieta experimental. Os valores dos insumos foram obtidos por consultas a fontes como, BMEF BOVESPA/EZALQ, CEPEA/EZALQ/USP e portais de lojas especializadas em produtos destinados a nutrição animal. De posse desse custo e do consumo médio dos animais durante o período experimental foi calculado do custo total com alimentação conforme a fórmula:

Custo com alimentação (R\$) = consumo total de ração (kg) \* custo da dieta (R\$).

Para isolar a variável peso inicial dos animais, foi calculado o custo inicial do suíno (C.suíno), de acordo com a seguinte fórmula:

C.suíno (R\$): peso do animal no início do ensaio (kg) \* preço do kg do suíno vivo (R\$)

Foi levado em conta o valor do suíno vivo sugerido na reunião dos frigoríficos e representantes comerciais do rio de janeiro, com a cotação realizada no dia 25 de junho de 2019, para determinação deste custo. Pela soma do custo com alimentação e custo do suíno, foi obtido o custo total, de acordo com a fórmula descrita:

C. total (R\$) = C. alimentação (R\$) + C. suíno (R\$)

Para o cálculo da receita bruta, foi considerado o preço do quilograma do suíno vivo, e seu peso no final do período experimental.

RB (R\$) = Peso do animal antes do abate (kg) \* preço do kg do suíno vivo (R\$).

De posse destes dados, foi calculada a receita líquida pela subtração do custo total da receita bruta: RL = RB (R\$) – C. total (R\$).

O custo das rações (CR) por quilograma de peso vivo ganho (Y<sub>i</sub>), foi calculado com o uso da fórmula:  $Y_i = (Q_i \times P_i) / G_i$ , onde:

Y<sub>i</sub> = custo da ração por quilograma de peso vivo ganho no i-ésimo tratamento;

P<sub>i</sub> = preço por quilograma da ração utilizada no i-ésimo tratamento;

Q<sub>i</sub> = quantidade de ração consumida no i-ésimo tratamento

G<sub>i</sub> = ganho de peso do i-ésimo tratamento.

O IEE e o IC foram obtido pelas fórmulas:  $IEE = (M_{Cei} / C_{tei}) \times 100$  e  $IC = (C_{tei} / M_{cei}) \times 100$ , onde:

M<sub>cei</sub> = Menor custo da ração por quilograma ganho, observado entre tratamentos

C<sub>tei</sub> = Custo do tratamento i considerado.

### 3.10 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram submetidas ao teste de teste de Tukey com nível de significância de 5 % de probabilidade (p= 0,05). As análises foram realizadas utilizando o software SISVAR, versão 5.6 (Build 86), de análises estatísticas e planejamento de experimento (FERREIRA, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Desempenho

Os resultados de desempenho dos leitões abtidos nos dois períodos experimentais são apresentados na Tabela 3.

No primeiro período experimental (1-22 dias) foi constada diferença significativa apenas para consumo diário de ração (CDR), de modo que os animais que receberam a dieta com redução energética (100 kcal de EM por quilograma de ração) com inclusão de xilanase e probiótico (BXP) apresentaram um menor ( $P < 0,05$ ) CDR em comparação àqueles que receberam a dieta com redução do valor energético sem os aditivos (B).

**Tabela 3.** Inclusão da xilanase de forma conjunta ou não com probiótico ou simbiótico, com ou sem redução da energia metabolizável, sobre o desempenho de suínos em crescimento (70 – 100 dias) em cada período experimental

| Período avaliado             | Tratamentos         |                    |                     |                    |                     |                  |                      |
|------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|------------------|----------------------|
|                              | 1 - 22 dias         |                    |                     |                    |                     |                  |                      |
| Variáveis                    | <sup>1</sup> R      | <sup>2</sup> B     | <sup>3</sup> BX     | <sup>4</sup> BXP   | <sup>5</sup> BXS    | <sup>6</sup> CV% | <sup>7</sup> P valor |
| Peso inicial (kg)            | 25,220              | 25,013             | 24,973              | 25,027             | 24,867              | 1,62             | 0,7676               |
| Consumo diário de ração (kg) | 2,216 <sup>ab</sup> | 2,321 <sup>b</sup> | 2,044 <sup>ab</sup> | 1,993 <sup>a</sup> | 2,141 <sup>ab</sup> | 7,44             | 0,0335               |
| Ganho de peso diário (kg)    | 0,999               | 1,016              | 0,951               | 0,966              | 0,981               | 7,59             | 0,6614               |
| Conversão alimentar (kg)     | 2,22                | 2,28               | 2,14                | 2,06               | 2,18                | 5,33             | 0,0684               |
| Peso final (Kg)              | 47,193              | 47,373             | 45,887              | 46,273             | 46,473              | 3,70             | 0,6285               |
| Período avaliado             | 23- 30 dias         |                    |                     |                    |                     |                  |                      |
| Peso inicial (kg)            | 47,193              | 47,373             | 45,887              | 46,273             | 46,473              | 3,70             | 0,6285               |
| Consumo diário de ração (Kg) | 2,725               | 2,899              | 2,871               | 2,589              | 2,710               | 8,05             | 0,2140               |
| Ganho de peso diário (kg)    | 1,042               | 1,052              | 1,128               | 0,978              | 1,058               | 7,37             | 0,0968               |
| Conversão alimentar (kg)     | 2,61                | 2,75               | 2,54                | 2,65               | 2,56                | 4,86             | 0,1114               |
| Peso final (Kg)              | 55,533              | 55,787             | 54,913              | 54,100             | 54,939              | 3,58             | 0,7021               |
| Período total                |                     |                    |                     |                    |                     |                  |                      |
| Peso inicial (kg)            | 25,220              | 25,013             | 24,973              | 25,027             | 24,867              | 1,62             | 0,7676               |
| Consumo diário de ração (Kg) | 2,352               | 2,475              | 2,264               | 2,152              | 2,292               | 7,26             | 0,0829               |
| Ganho de peso diário (kg)    | 1,010               | 1,026              | 0,998               | 0,969              | 1,002               | 6,4              | 0,7181               |
| Conversão alimentar (kg)     | 2,33 <sup>ab</sup>  | 2,41 <sup>b</sup>  | 2,26 <sup>ab</sup>  | 2,22 <sup>a</sup>  | 2,29 <sup>ab</sup>  | 4,13             | 0,0483               |
| Peso final (Kg)              | 55,533              | 55,787             | 54,913              | 54,100             | 54,939              | 3,58             | 0,7021               |

<sup>1</sup>R, dieta referência; <sup>2</sup>B, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável; <sup>3</sup>BX, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase; <sup>4</sup>BXP, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e probiótico; <sup>5</sup> BXS, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e simbiótico; <sup>6</sup>CV, coeficiente de variação; <sup>7</sup>P, probabilidade de significância; Médias seguidas por letras minúsculas na linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de tukey.

Este maior CRD pelos leitões do TB, pode ser explicado pela regulação do consumo de ração pelos animais que ocorre, por um dos mecanismos de controle, pelo nível de energia, já bem sabido que menor teor de energia na ração leva a aumento no consumo e, maior teor de energia na ração resulta em menor consumo. Para os leitões do tratamento BXP, pode ser que a inclusão da xilanase e do probiótico, na dieta com menor valor de EM, tenha promovido melhor metabolizabilidade da energia digesta, induzindo a menor consumo de ração.

No segundo período avaliado (22-30 dias), não foi detectada diferença ( $P>0,05$ ) nas variáveis de desempenho. Tal resultado, pode ser decorrente da curta duração (oito dias) do período estudado. Cardoso (2018), relatou que a microbiota pode ser influenciada por diversos fatores, dentre estes a dieta. Dada a importância que a microbiota normal tem para a saúde e o desempenho dos suínos, uma alteração em sua composição poderia estar relacionada a mudanças na dieta podendo afetar a resposta produtiva. Entretanto, Unno et al. (2015) ao estudarem a administração do melhorador de desempenho ASP250 na dieta de leitões, por um período de nove semanas, observaram que a microbiota teve comportamento instável até a 4ª semana em ambos os grupos (tratado e controle) e não houve diferença no ganho de peso dos animais em todo o período de observação. De modo similar ao descrito pelos autores citados, possivelmente os animais não se adaptaram às dietas, ou seja, a duração do período avaliado não foi suficiente para que os efeitos dos aditivos sobre a microbiota e o desempenho dos animais fosse detectado.

No período total, os animais que receberam a dieta BXP apresentaram melhora ( $P<0,05$ ) na conversão alimentar (CA) em relação aos que consumiram a dieta B, pela provável melhor metabolizabilidade da energia da digesta. Esta melhora pode ter ocorrido em função de um efeito sinérgico entre xilanase e o probiótico. Weeis et al. (2013) ao utilizarem xilanase em conjunto com probióticos em dietas de leitões, constataram melhora no coeficiente de digestibilidade ileal da FDN. Já Upadhaya et al. (2015) ao avaliarem a inclusão de um probiótico cuja base era a mesma que a do produto utilizado nesta pesquisa (*B. subtilis* e *Bacillus licheniformis*) na dieta de suínos em crescimento, constaram aumento do GPD, entretanto, as variáveis eficiência alimentar e CDR, não foram alteradas. Ainda, os pesquisadores citados relataram que espécies de *Bacillus* podem produzir enzimas que hidrolisam polissacarídeos não amiláceos presentes no farelo de soja aumentando a digestibilidade da dieta. No presente estudo, o uso do probiótico com a xilanase pode ter melhorado a obtenção dos nutrientes da dieta através da diminuição da viscosidade da digesta, permitindo que os animais mostrassem maior eficiência alimentar em comparação aos que receberam a dieta com redução energética sem os aditivos.

O uso da xilanase aliada ao simbiótico (BXS), ou de forma individual (BX), não alterou ( $P>0,05$ ) o desempenho dos suínos. Cho e Kim (2013) relataram que a utilização de  $\beta$ -mananase e xilanase em dieta de suínos em crescimento, com redução de 120 kcal/kg na energia digestível, resultou em melhor CA dos animais em comparação aqueles alimentados com a dieta controle, sem redução do nível energético, sem suplementação enzimática, considerando todo período experimental, diferentemente do verificado neste trabalho. Entretanto, os autores constataram que a diminuição energética, aliada a inclusão das enzimas não afetou o GMD e CMD dos animais, não havendo diferença em relação ao tratamento controle. Os resultados do presente experimento foram semelhantes aos daqueles autores, sendo que os animais que receberam dietas com redução de 100 kcal/kg de EM e, com adição de xilanase seja de forma individual ou conjunto com probiótico ou simbiótico, não apresentaram diferenças significativas no desempenho em relação aos que receberam a dieta referência sem a redução energética e sem os aditivos.

De modo similar ao verificado, Oliveira (2018), também não observou diferenças ( $P>0,05$ ) no desempenho de leitões na fase de creche, ao utilizarem xilanase associada ou não com parede de levedura nas dietas em relação ao controle.

Diferente do que foi constatado neste estudo, onde a inclusão de xilanase em dietas com fitase não melhorou o desempenho, Ndou et al., (2015), ao utilizarem diferentes fontes de xilanase em dietas que continham fitase, constataram maior GPD e melhor eficiência alimentar de marrãs em crescimento, em comparação dieta controle sem xilanase. Discrepâncias nas respostas nos ensaios de desempenho, constatadas por diferentes autores, podem ser atribuídas ao tipo e quantidade dos cereais utilizados nas dietas, as idades dos

animais, o grau da deficiência de nutrientes limitantes e a extensão em que a enzima possa ter causado aumento no conteúdo de nutrientes digestíveis (Adeola e Cowieson, 2011; Lee et al. 2018).

Zang et al., (2018), postularam que resultados conflitantes entre pesquisas podem ser atribuídos ao teor de arabinoxilanos nas dietas, diferenças na fração de cereais bem como distintas atividades de hidrólise enzimática.

A redução do nível energético de 100 kcal de EM por quilograma de ração (B) não afetou o desempenho dos suínos quando comparado ao tratamento sem redução deste nível (R). A manutenção do desempenho dos suínos, mediante a redução energética pode estar relacionada a presença da fitase, que possivelmente melhorou a digestibilidade da ração. O desafio nutricional utilizado, redução de 100 kcal/kg, não foi suficiente para respostas mais conclusivas sobre a utilização dos aditivos.

## 4.2 Características Ósseas

Não houve alteração significativa ( $P > 0,05$ ) do Índice Seedor, nem das demais características físicas do metacarpo dos suínos (Tabela 4). Estes resultados corroboraram com aqueles descritos por Ferreira (2015), que não observou alterações dessas variáveis no metacarpo de suínos em crescimento, recebendo dietas com redução de fósforo e energia metabolizável e inclusão de xilanase e fitase, em comparação com o tratamento controle sem redução de níveis nutricionais e sem as enzimas.

**Tabela 4.** Características físicas e químicas do terceiro osso metacarpo de suínos aos 107 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não xilanase de forma conjunta ou não com probiótico ou simbiótico, com ou sem redução da energia metabolizável

| Variáveis                | Tratamentos       |                   |                    |                     |                     |                  | <sup>7</sup> P valor |
|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------|----------------------|
|                          | <sup>1</sup> T1 R | <sup>2</sup> T2 B | <sup>3</sup> T3 BX | <sup>4</sup> T4 BXP | <sup>5</sup> T5 BXS | <sup>6</sup> CV% |                      |
| Peso in natura (g)       | 16,24             | 17,26             | 16,25              | 16,17               | 16,54               | 7,0              | 0,5611               |
| Comprimento (mm)         | 63,94             | 65,38             | 63,57              | 62,29               | 63,27               | 4,01             | 0,4514               |
| Diâmetro horizontal (mm) | 15,22             | 15,13             | 15,23              | 15,11               | 15,94               | 4,07             | 0,2314               |
| Diâmetro vertical (mm)   | 12,34             | 12,92             | 12,83              | 12,42               | 12,78               | 4,73             | 0,4650               |
| Índice Seedor            | 253,00            | 263,00            | 255,00             | 258,60              | 261,40              | 3,87             | 0,4434               |
| Matéria mineral %        | 34,37             | 34,03             | 33,95              | 33,92               | 32,15               | 4,13             | 0,1462               |
| Fósforo ósseo %          | 12,81             | 12,45             | 12,03              | 11,85               | 11,42               | 6,81             | 0,1238               |

<sup>1</sup>R, dieta referência; <sup>2</sup>B, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável; <sup>3</sup>BX, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase; <sup>4</sup>BXP, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e probiótico; <sup>5</sup>BXS, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e simbiótico; <sup>6</sup>CV, coeficiente de variação; <sup>7</sup>P, probabilidade de significância; Médias seguidas por letras minúsculas na linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste tukey.

A inclusão de xilanase nas dietas ao reduzir a viscosidade da digesta poderia potencializar a atividade da fitase uma vez que supostamente a atuação da enzima sobre o substrato fitato seria facilitada, melhorando a disponibilidade de nutrientes como alguns minerais e aminosácidos, promovendo alterações nas características químicas e físicas do osso. Esta hipótese foi embasada no sentido de que a melhora na degradação da fibra, pode também beneficiar a disponibilidade do fósforo (Lindberg et al., 2007) ou cálcio, e isso pode exercer influência no tamanho e densidade do osso e conseqüentemente na quantidade de cinzas ósseas. Ou seja, quanto maior a disponibilidade de minerais (Ca e P), maior será a síntese óssea (She et al., 2017). Segundo Santana et al. (2017) a mineralização óssea está

relacionada com sua densidade, deste modo maior deposição mineral resulta em maior densidade e consequente aumento da resistência.

Não foram constatadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) no teor de cinzas ósseas nem no teor de fósforo dos metacarpos, indicando que os tratamentos não influenciaram na mineralização óssea.

A ausência de efeitos significativos possivelmente está associada à presença da enzima fitase em todas as dietas experimentais, uma vez que esta enzima ao melhorar a disponibilidade dos nutrientes dentre eles o cálcio e o fósforo principais constituintes das cinzas ósseas, afeta benéficamente a mineralização óssea e consequentemente sua composição química para todos os animais independentemente de qual tratamento tenham sido submetidos. Algo semelhante foi verificado no estudo de Lindberg et al. (2007) que, ao avaliarem inclusão de fitase e xilanase em dietas de suínos em crescimento, constataram que as dietas que continham fitase associada ou não com xilanase melhoraram ( $P< 0,05$ ) a digestibilidade ileal dos minerais cálcio e fósforo, em relação às dietas apenas com xilanase, ou sem a suplementação enzimática.

Entretanto, Zeng et al. (2018) ao estudaram a inclusão de fitase e um produto composto por carboidrases em dietas de suínos em crescimento e verificaram que as carboidrases combinadas ou não com fitase melhoraram a digestibilidade ileal do ácido fítico e PNAs nas dietas que continham farelo de trigo, enquanto a inclusão de fitase melhorou a digestibilidade do cálcio e do fósforo. Tais efeitos podem ter sido motivados pela maior quantidade de farelo de trigo utilizada no referido trabalho (20%) promovendo maior teor de arabinoxilanos na dieta dando a xilanase maior chance de exercer seus efeitos benéficos.

Possivelmente na presente pesquisa o teor de arabinosilanos na dieta não foi suficientemente elevado para promover aumento na viscosidade da digesta a ponto de afetar a ação da fitase, o que explicaria a falta de resultados detectáveis.

### 4.3 Morfometria Intestinal

Em relação à morfometria intestinal (figura 11) houve alteração ( $P<0,05$ ) apenas na relação altura das vilosidades: profundidade das criptas observada com o tratamento xilanase e simbiótico (BXS) em comparação ao (B) (tabela 5).

**Tabela 5.** Parâmetros morfométricos do jejuno, altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação entre altura das vilosidades e profundidade da cripta, de suínos aos 107 dias de idade

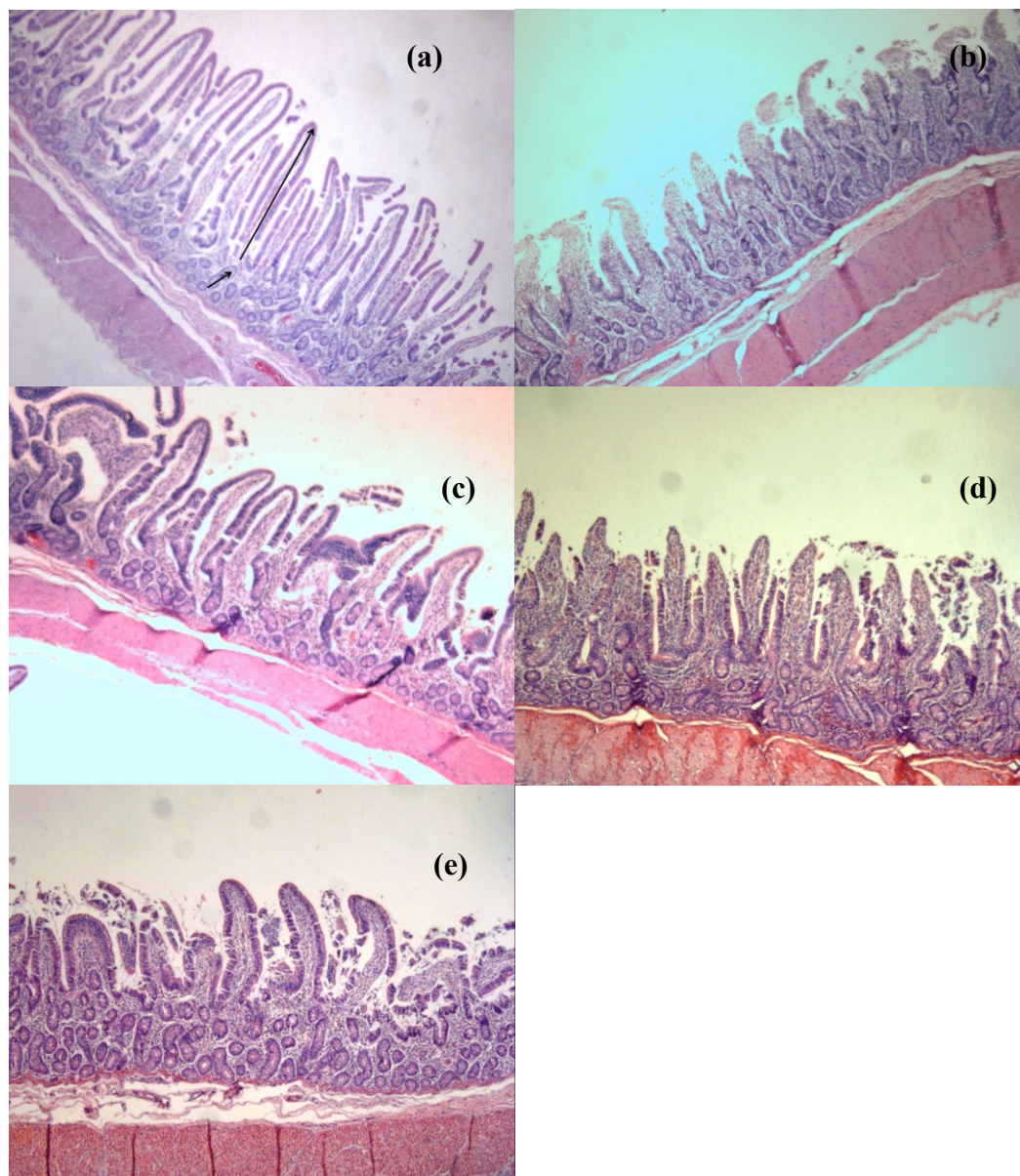
| Variáveis                                  | Tratamentos        |                   |                    |                    |                   | <sup>6</sup> CV % | <sup>7</sup> P valor |
|--|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------|
|  | <sup>1</sup> R     | <sup>2</sup> B    | <sup>3</sup> BX    | <sup>4</sup> BXP   | <sup>5</sup> BXS  |                   |                      |
| Altura das vilosidades ( $\mu\text{m}$ )   | 647,31             | 633,28            | 673,95             | 615,33             | 651,38            | 10,10             | 0,6944               |
| Profundidade das criptas ( $\mu\text{m}$ ) | 253,77             | 265,41            | 245,20             | 221,69             | 201,68            | 14,06             | 0,0527               |
| Relação AV: PC                             | 2,64 <sup>ab</sup> | 2,41 <sup>b</sup> | 2,78 <sup>ab</sup> | 2,79 <sup>ab</sup> | 3,27 <sup>a</sup> | 13,48             | 0,0304               |

<sup>1</sup>R, dieta referência; <sup>2</sup>B, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável; <sup>3</sup>BX, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase; <sup>4</sup>BXP, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e probiótico; <sup>5</sup>BXS, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e simbiótico; <sup>6</sup>CV, coeficiente de variação; <sup>7</sup>P, probabilidade de significância; Médias seguidas por letras minúsculas na linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste tukey.

A utilização destes aditivos beneficiou a integridade da mucosa, caracterizado pela maior relação AV:PC. Ao se considerar que a parede de levedura é um dos constituintes do simbiótico estudado, Liu et al. (2017) obtiveram resultados semelhantes, ao utilizarem a parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas de leitões. Os autores observaram

aumento na altura das vilosidades e relação altura das vilosidades: profundidade das criptas do jejuno, sem diferença significativa para a profundidade das criptas.

Não se observou alteração significativa ( $P>0,05$ ) na altura das vilosidades e na profundidade das criptas do jejuno, com a adição de xilanase, probiótico ou simbiótico na dieta de suínos em crescimento.



Seta maior = vilosidades e seta menor = criptas, (a) T1R, (b) T2B, (c) T3BX, (d) T4BXP e (e) T%BXS

**Figura 11.** Imagens da mucosa do jejuno dos suínos

A inclusão de xilanase associada ou não com probiótico na dieta (BX e BXP) não influenciou ( $P>0,05$ ) a morfometria da mucosa. De forma similar, Pascoal et al., (2008), não relataram diferenças significativas para a altura de vilosidades do jejuno, ao adicionarem níveis crescentes de um complexo enzimático ( $\alpha$ - galactosidase,  $\beta$ -glucanase, galactomananase e xilanase) em dietas de leitões. Entretanto, os autores verificaram que houve aumento da relação altura da vilosidade/profundidade da cripta.

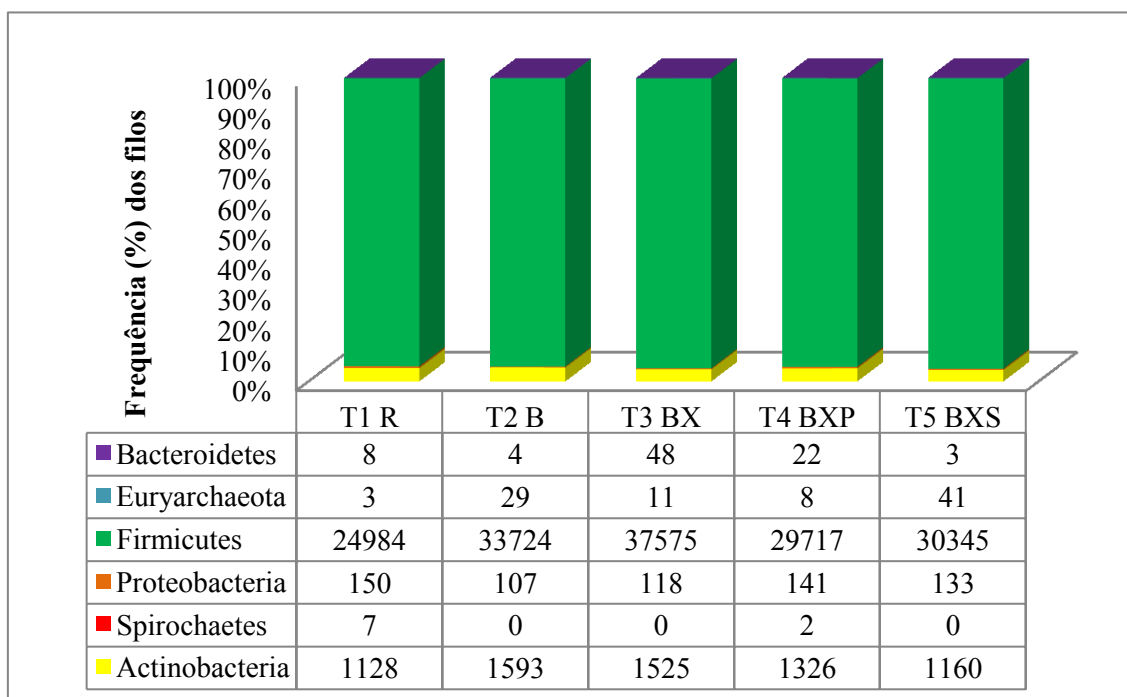
Passos et al. (2015) também não notaram diferenças significativas para estas medidas histológicas, em seu estudo, avaliando níveis de xilanase em dietas de suínos em crescimento.



Pesquisas utilizando probióticos também não mostraram efeitos sobre tais variáveis, o que vai à mesma direção aos resultados deste estudo, em que a inclusão de xilanase associada ao probiótico não alterou ( $P>0,05$ ) a mucosa morfometria do jejuno. Como no trabalho Bon et al., (2010) avaliando a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae ssp. boulardii* CNCM I-1079 (seis semanas após o desmame) seguida por *Pediococcus acidilactici* CNCM MA na dieta de suínos, e Giannenas et al. (2016) que relataram que a utilização de probiótico composto por *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 na dieta de suínos em terminação não promoveu diferença na altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação altura das vilosidades: profundidade das criptas, no jejuno. O material biológico analisado no presente estudo foi oriundo de animais já no fim da fase de crescimento. Em adição a isto, deve-se salientar que durante todo o período experimental não foram observados quaisquer sinais de desordem entérica nos animais. Tais condições podem ter contribuído para que o BXP não tivesse causado efeito significativo, já que em suínos efeitos mais consistentes e positivos com a utilização de probióticos foram observados mais facilmente em leitões na fase de cria, em relação a animais na fase de crescimento, e, além disso, efeitos benéficos oriundos da administração destes microrganismos podem ser mais evidentes quando os animais são submetidos a desafios sanitários ou a substâncias químicas (Yirga, 2015; Liu et al. 2018). Outra consideração, refere-se a eficácia de um determinado aditivo, que está atrelada ao nível de inclusão, e suas características, o que torna complexa a comparação entre resultados de pesquisas (ALMEIDA et al. 2017).

#### 4.4 Diversidade Microbiana Intestinal

Em relação à diversidade microbiana, o filo Firmicutes que compreende bactérias gram-positivas, anaeróbicas estritas ou não (Cardoso, 2018), foi o que apresentou maior abundância, com frequências (% de UTOs) acima de 95% independente do tratamento, seguido dos filios actinobacteria e proteobacteria (Figura 12).



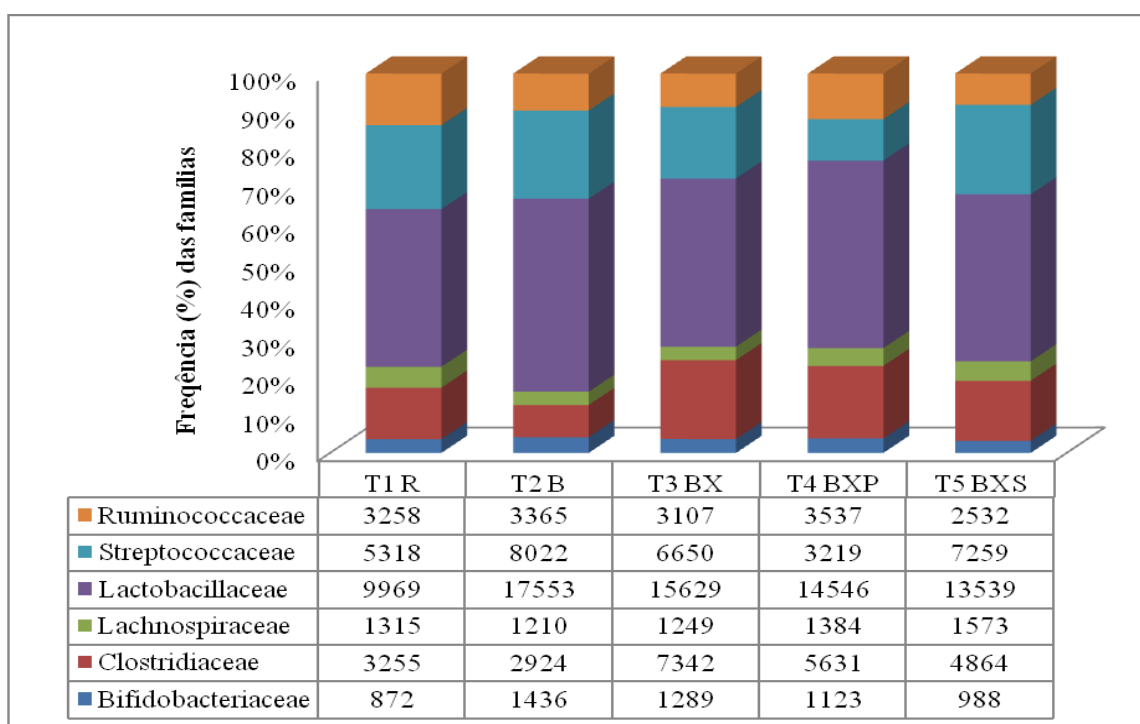
**Figura 12.** Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) atribuídas ao nível de filo, expressando a composição da microbiota no conteúdo cecal de suínos aos 107 dias de idade.



Pajarillo et al.(2014) também observaram maior participação do filo firmicutes nas fezes de leitões no pré e pós desmame, enquanto Zineldin et al. (2018) constaram maior abundância deste filo nas fezes de leitões em crescimento. Semelhante a estes resultados, Satter et al. (2015), constataram o mesmo comportamento para a composição da microbiota no íleo, ceco e colón de leitões, com prevalência de UTOs para o gênero *Lactobacillus*, independente do tratamento.

No trabalho Zhang et al. (2018a), foi constatada predominância deste Filo nos conteúdos ileal e cecal de suínos em crescimento recebendo dietas a base de trigo ou milho suplementadas ou não com xilanase. Zhao et al. (2015) relataram maior abundância dos filos Firmicutes e Proteobacteria e Bacteroidetes no ceco de suínos com seis meses de idade.

A família lactobacillaceae foi a que apresentou maior abundancia relativa de UTOs em todos os tratamentos (Figura 13) com as seguintes frequências: 49,51% no B (Dieta basal), 46,60% no BXP (Dieta basal + xilanase e probiótico), 42,73% no BXS (Dieta basal + xilanase e simbiótico), 39,79% no BX (Dieta basal + xilanase) e 37, 93% no R (Dieta referência).



**Figura 13.** Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de famílias que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias).

Sattler et al. (2015), também relataram maior frequência para esta família no ceco e cólon de leitões, no entanto, observaram aumento desta frequência com a utilização de um simbiótico (Inulina e *E. faecium*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *B. thermophilum*), ou prebiótico (inulina) em comparação ao tratamento controle sem aditivos, o que não foi observado no presente estudo.

Em suínos, a microbiota presente nos intestinos pode atuar como coadjuvante na digestão, com o quê pode ocorrer melhor aproveitamento das dietas, sendo distinta entre animais com diferentes eficiências alimentares (FHOUSE et al. 2016). De acordo com estes autores, *Lactobacillus* são mais frequentes em animais com maior eficiência.

Segundo Dawarah et al. (2017) estas bactérias ao reduzirem o pH do intestino, dificultam a proliferação de bactérias enteropatogênicas oportunistas, que se desenvolvem melhor em ambiente alcalino.

A família *Streptococcaceae* também esteve em frequência considerável no conteúdo cecal dos suínos independente do tratamento, alcançando o número de UTOs menor apenas que aquele observado para a família *Lactobacillaceae*. De acordo com Zhang et al. (2018a), o gênero *Streptococcus*, é um dos mais importantes e abundantes na microbiota cecal de leitões.

A família *Ruminococcaceae*, apareceu entre as famílias com as maiores frequências em todos os tratamentos. Zhang et al. (2018a), relataram que ao quebrarem polissacarídeos das plantas, os *Ruminococcus* possuem vantagem competitiva, o que pode ter colaborado para a abundância de UTOs destes microrganismos. Em estudo realizado por Zhang et al. (2018b), maior abundância para *Ruminococcaceae* foi encontrada no conteúdo cecal de suínos em crescimento, que receberam dietas a base de trigo ou milho com adição de xilanase, em relação ao que foi encontrado no intestino dos animais do tratamento controle.

Os animais que receberam a dieta com inclusão de xilanase associada ou não aos aditivos probiótico e simbiótico, tiveram maior frequência de UTOs para *Clostridiaceae* (BX= 18,69% BXP= 18,04% BXS= 15,35% R= 12,39% e B= 8,25%).

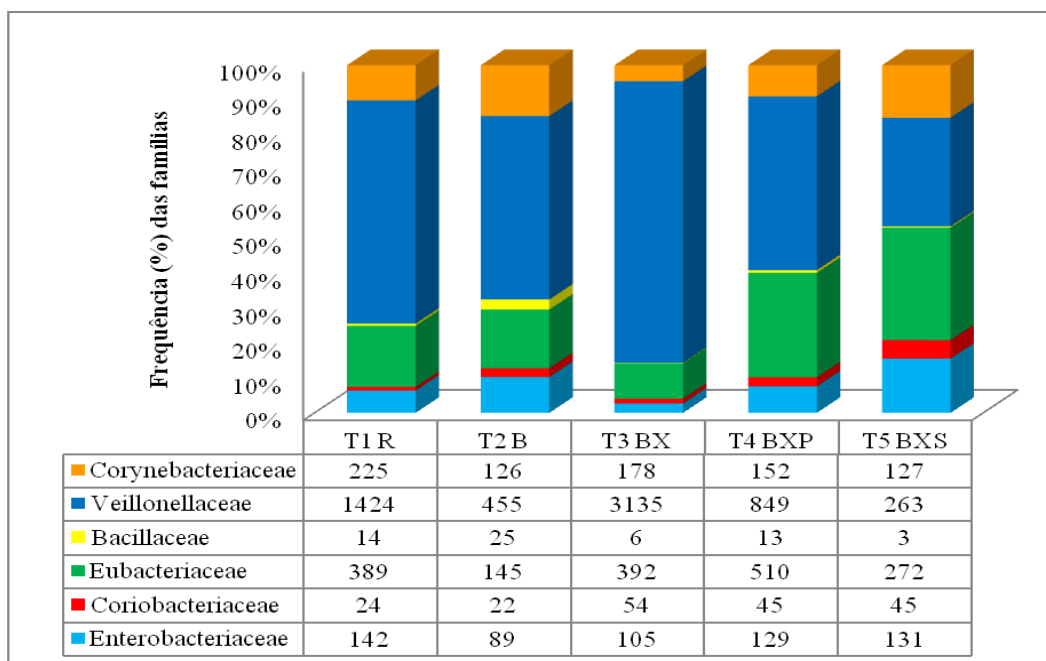
Zhang et al. (2018b), estudando diferentes tipos de xilanase em dietas de suínos em crescimento, alimentados com dietas a base de trigo, relataram que a prevalência de *clostridiaceae* no conteúdo cecal foi influenciado em razão do tipo da enzima utilizada. Os autores verificaram que apenas duas das cinco xilanases utilizadas foram capazes de promover aumento na frequência desta família em comparação ao tratamento controle, sendo uma delas originada de *Bacillus subtilis* e a outra de *Trichoderma reesei*. Pode-se inferir que a origem da enzima utilizada nas dietas também possa ser um dos fatores que venham influenciar a composição microbiana no TGI. No presente estudo a enzima xilanase utilizada é de origem bacteriana.

Em relação à *Bifidobacteriaceae*, a frequência de UTOs não se alterou em função do tratamento. Embora seja relatado que as bifidobactérias tenham como substrato principal os oligossacarídeos, algumas delas também podem fermentar polissacarídeos (KTRIEN et al. 2000). Essa versatilidade possivelmente contribuiu para a similaridade em percentual de UTOs nos diferentes tratamentos.

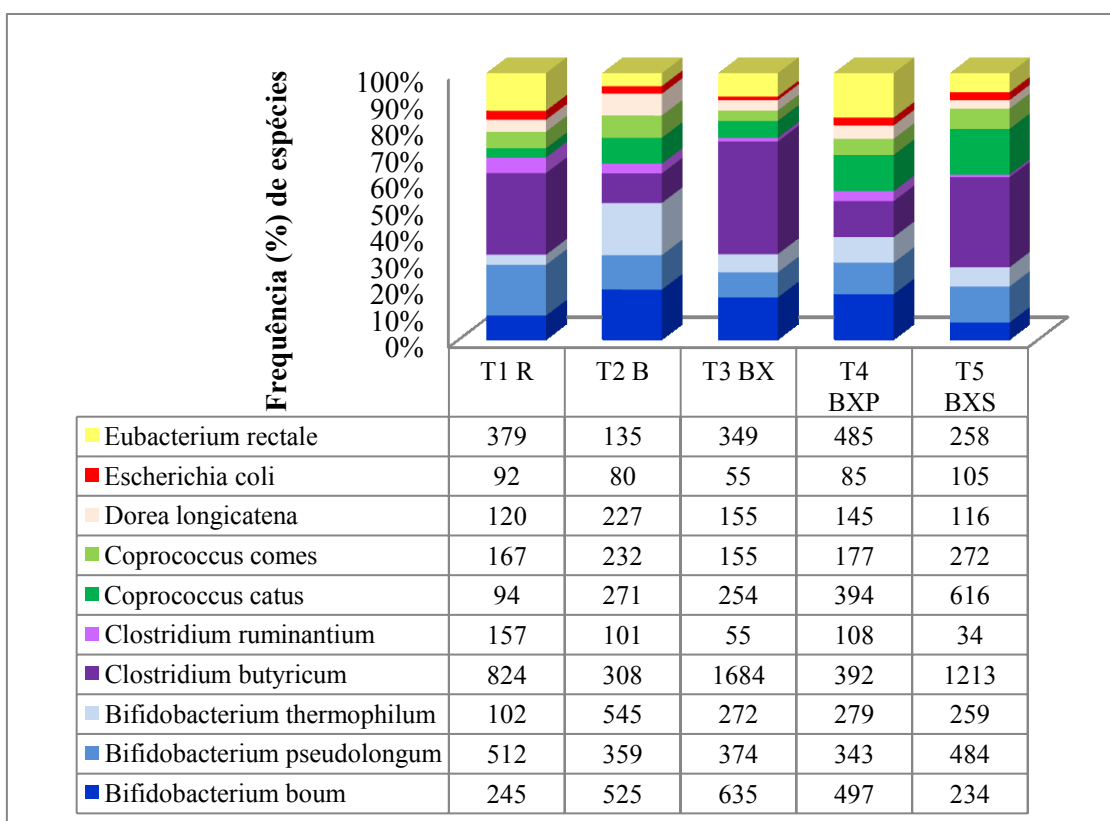
No presente estudo, o tratamento que apresentou menor abundância relativa para *Enterobacteriaceae* (Figura 14) foi o tratamento dieta basal (B), de 0,25%, seguido pelo tratamento dieta basal com inclusão de xilanase (BX) 0,27%. As dietas basais com xilanase associadas à probiótico e simbiótico (BXP e BXS) apresentaram a mesma abundância para esta família 0,41%, enquanto a maior abundância 0,54% foi encontrada no tratamento dieta referência (R).

Oliveira (2018) ao avaliarem a inclusão de xilanase associada ou não à levedura em dietas de leitões na fase de creche, verificaram diminuição de *Clostridiaceae* e *Enterobacteriaceae* na digesta ileal do intestino dos animais submetidos ao tratamento com levedura mais enzima. No mesmo estudo, a inclusão de xilanase também foi capaz de reduzir a população de *Enterobacteriaceae* no conteúdo ileal.

Menor número de UTOs para *Escherichia coli* foi encontrado para o tratamento com inclusão de xilanase (Figura 15), enquanto para os demais tratamentos a frequência desta espécie se manteve semelhante. Dowarah et al. (2017), ao avaliarem a inclusão de probióticos (*L. acidophilus* NCDC-15 e *P. acidilactici* FT28) em dietas de suínos em crescimento, constataram diminuição na contagem de *E. coli* e *Clostridia* nas fezes. Ao passo que Lee et al. (2018), investigando a inclusão de níveis de xilanase em dietas a base de milho e farelo de soja, relataram que a contagem de *Lactobacillus* na digesta ileal e nas fezes dos suínos em crescimento aumentou significativamente com a utilização da enzima, enquanto a contagem de *E. coli* nas fezes diminuiu.



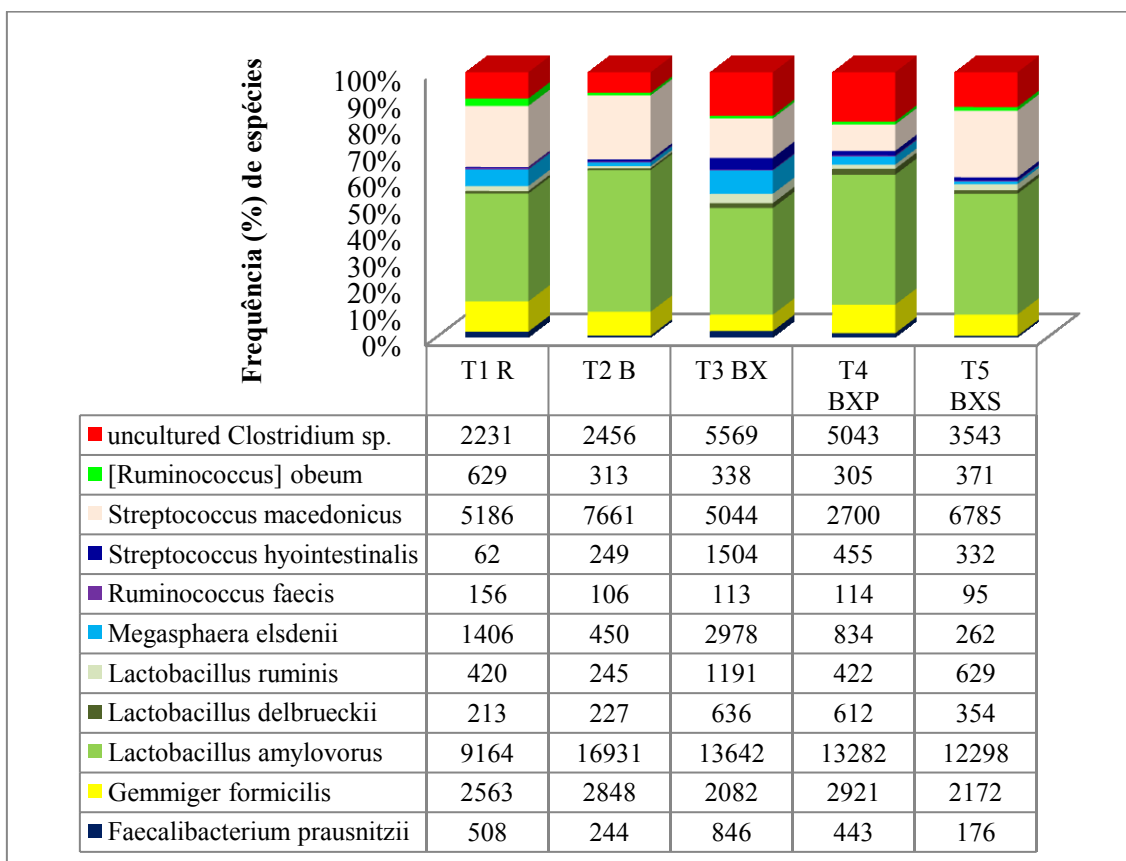
**Figura 14.** Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de famílias que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias).



**Figura 15.** Abundância relativa de UTOs (unidades taxonômicas operacionais) de espécies que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias).

Para a espécie *Megasphaera elsdenii* a maior frequência (%) foi observada no conteúdo cecal dos animais que receberam a dieta com inclusão de xilanase (Figura 16). Zhang et al. (2018a), constataram aumento na abundância relativa desta espécie (% do total de

sequências) nas fezes de suínos em crescimento que receberam dietas a base de farelo de trigo com inclusão de um complexo enzimático que continha xilanase, celulase e fitase. Já Zhang et al. (2018b), ao avaliarem os efeitos da inclusão de cinco diferentes tipos de xilanase na dieta de suínos em crescimento a base de milho ou farelo de trigo, observaram uma redução na abundância de *Megasphaera*, no conteúdo cecal dos animais que receberam dietas a base de trigo com xilanase. Os resultados contrastantes, possivelmente podem ser atribuídos a diferenças nos ingredientes utilizados nas dietas nos diferentes experimentos bem como teor e características estruturais dos PNAs.



**Figura 16.** Abundância relativa de UTOS (unidades taxonômicas operacionais) de espécies que apresentaram maior frequência no conteúdo cecal de suínos em crescimento (107 dias).

Kich e Meneguzzi (2018) evidenciaram que a melhoria da saúde intestinal constitui importante estratégia à suinocultura tecnificada. Objetiva-se limitar a expansão de patógenos, aumentar a saúde do hospedeiro e os índices produtivos. Para o alcance de tais objetivos, faz-se necessário conhecer a dinâmica das comunidades microbianas intestinais em conjunto com produtos (aditivos) que promovam o equilíbrio no intestino de suínos.

#### 4.5 Avaliação Econômica

Os dados referentes a avaliação econômica das dietas estão representados na Tabela 6. Pode-se observar que as dietas com redução do teor energético com ou sem aditivos zootécnicos apresentaram o menor custo por quilograma. Como as dietas apresentavam a mesma base de ingredientes, as alterações no custo de kg de ração foram estritamente em função da redução energética e dos aditivos, que por sua vez, são utilizados em pequenas quantidades. Isto explica a pequena variação no custo entre as dietas.

O maior custo total foi observado com a dieta referência (R) correspondendo a aumentos de R\$ 9,71 ou 5,2% em relação ao tratamento dieta basal com inclusão de xilanase e probiótico (BXP), R\$ 6,8 ou 3,6% em relação ao tratamento dieta basal com inclusão de xilanase (BX), R\$ 6,24 ou 3,3% em relação ao tratamento dieta basal com inclusão de xilanase e simbiótico (BXS) e R\$ 0,74 ou 0,38% em relação à dieta basal (B).

A maior receita líquida foi obtida com a dieta BXS correspondendo em melhora de R\$ 4,94 ou 6,4% em relação a dieta R, R\$ 2,95 ou 3,7% em relação a B, R\$ 2,25 ou 2,84% em relação a BXP, e R\$ 1,18 ou 1,47% em relação ao BX.

**Tabela 6.** Viabilidade econômica do uso das dietas experimentais

| Variáveis                      | Tratamentos    |                |                 |                  |                  |
|--------------------------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|
|                                | <sup>1</sup> R | <sup>2</sup> B | <sup>3</sup> BX | <sup>4</sup> BXP | <sup>5</sup> BXS |
| Custo kg/ração (R\$)           | 1,03           | 0,98           | 0,98            | 0,98             | 0,98             |
| Custo total (R\$)              | 195,48         | 194,74         | 188,68          | 185,77           | 189,24           |
| Custo de ração/kg ganho (R\$)  | 2,38           | 2,35           | 2,21            | 2,17             | 2,24             |
| Receita bruta (R\$)            | 272,11         | 273,35         | 269,07          | 265,09           | 269,2            |
| Receita líquida (R\$)          | 76,63          | 78,62          | 80,39           | 79,32            | 81,57            |
| Índice de eficiência econômica | 91,34          | 92,48          | 98,23           | 100              | 96,88            |
| Índice de custo                | 109,48         | 108,13         | 101,8           | 100              | 103,22           |

<sup>1</sup>R, dieta referência; <sup>2</sup>B, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável; <sup>3</sup>BX, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase; <sup>4</sup>BXP, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e probiótico; <sup>5</sup>BXS, dieta basal com redução de 100kcal/kg de energia metabolizável com inclusão de xilanase e simbiótico;.

A inclusão de xilanase e probiótico (BXP) resultou em melhor índice de eficiência econômica e índice de custo. Isso se deu ao fato de que os animais que a receberam apresentaram menor custo de ração por quilograma de peso ganho. Por outro lado os piores índices foram constatados com a utilização da dieta referência (R) e dieta basal (B), que por sua vez apresentaram os maiores custos de ração por quilograma de suíno produzido durante o período experimental.

## 5 CONCLUSÕES

Rações de suínos em crescimento suplementadas com xilanase, probiótico e simbiótico e com redução da energia metabolizável resultaram em desempenho semelhantes quando comparadas aos resultados dos suínos que receberam ração referência.

A xilanase aliada ao probiótico na ração melhorou a conversão alimentar em relação à dieta com redução energética sem estes aditivos.

A combinação de xilanase e simbiótico promoveu uma maior relação altura das vilosidades: profundidade das criptas.

A utilização conjunta de xilanase e probiótico resultou em melhor índice de eficiência econômica e melhor índice de custo.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEOLA, O.; COWIESON, A.J.; BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3189-3218, 2011.
- ALMEIDA, L.M.; PANISSON, J.C.; Bonardi, A.J.K.; Massuquetto, A.; Maiorka, A.; Scandolera, A.J.; Adição de simbiótico em ração de leitões com deafoio nutricional no período de creche. **Archives of Veterinary Science**, v.22, n.3, p.57-65, 2017.
- AWAD, W.; GHAREEB, K.; JOSEF BÖHM, J. Intestinal Structure and Function of Broiler Chickens on Diets Supplemented with a Synbiotic Containing *Enterococcus faecium* and Oligosaccharides. **International Journal of Molecular Sciences**, v.9, p.2205-2216, 2008.
- BARKO, P.C.; MCMICHAEL, M.A.; SWANSON, K.S.; WILLIAMS, D.A. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.32, p. 9-25, 2018.
- BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition, 2nd edition**. 2. ed. Wallingford: CABI, 2010.
- BELLAVER, C.; FIALHO, E. T.; PROTAS, J. F. S.; GOMES, P. C. Radícula de malte na alimentação de suínos em crescimento e terminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.8, p.969-74, 1985.
- BON, M.L.; DAVIES, H.E.; GLYNN, C.; THOMPSON, C.; MADDEN, M.; WISEMAN, J.; DODD, C.E.R.; HURDIDGE, L.; PAYNE, G.; TREUT, Y.L.; CRAIGON, J.; TÖTEMAYER, S.; MELLITS, K.H. Influence of probiotics on gut health in the weaned pig. **Livestock Science**, v. 133, p. 179–181, 2010.
- BRITO, J.M.; FERREIRA, A.H.C.; JÚNIOR, H.A.S.; ARARIPE, M.N.B.A.; JOÃO BATISTA LOPES<sup>3</sup>, DUARTE, A.R.; CARDOSO, E.S.; RODRIGUES, V.L. Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes – Revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.10, n.4, p. 2525 – 2545, 2013.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.
- CANTARELLI, V.S.; FIALHO, E.T.; ALMEIDA, E.C.; ZANGERONIMO, M.G.; AMARAL, N.O.; LIMA, J.A.F. Características da carcaça e viabilidade econômica do uso de cloridrato de ractopamina para suínos em terminação com alimentação à vontade ou restrita. Ili et al. **Ciência Rural**, v.39, n.3, 2009.
- CARDOSO, M.R.I.; Interferência da microbiota na saúde intestinal: interação com antimicrobianos. In: Simpósio Brasil Sul de Suinocultura e Brasil Sul Pig Fair, 11º e 10º, 2018, Santa Catarina. **Anais ...** Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2018. 75-80 p.
- CELI, P.; COWIESON, A.J.; FRU-NJI, F.; STEINERT, R.E.; KLUENTERB, A.-M.; VERLHACD, V. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New

opportunities for sustainable animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 234, p. 88–100, 2017.

CHAMONE, J.M.A.; MELO, M.T.P.; AROUCA, C.L.C.; BARBOSA, M.M.; SOUZA, F.A.; DOS SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. **Revista Eletrônica Nutritime** v.7, n.5, p.1353-1363, 2010.

CHEN, H.; MAO, X.B.; HE, J.; YU, B.; HUANG, Z.Q.; YU, J.; ZHENG, P.; CHEN, D.W. Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 110, p. 1837–1848, 2013.

CHEN, H.; MAO, X.B.; CHE, L.Q.; YU, B.; HE, J.; YU, J.; HAN, G.Q.; HUANG, Z.Q.; ZHENG, P.; CHEN, D.W. Impact of fiber types on gut microbiota, gut environment and gut function in fattening pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 195, p. 101-111, 2014.

CHO, J.H.; KIM, I.H. Effects of Beta Mannanase and Xylanase Supplementation in Low Energy Density Diets on Performances, Nutrient Digestibility, Blood Profiles and Meat Quality in Finishing Pigs. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8 (4), p. 622-630, 2013.

CHRISTOFF, A. P.; SEREIA, A. F. R; BOBERG, D. R; MORAES, R. L. V.; OLIVEIRA, L. F. V. **Bacterial identification through accurate library preparation and high-throughput sequencing**. Florianópolis: Neoprospecta Microbiome Technologies, Sa, 2017. 5 p.

DOWARAH, R.; VERMA, A.K.; AGARWAL, N. The use of Lactobacillus as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: A review. **Animal Nutrition**, v.3, p.1-6, 2017.

DOWARAH, R.; VERMA, A.K.; AGARWAL, N.; PATEL, B.H.M.; SINGH, P.; Effect of swine based probiotic on performance, diarrhoea scores, intestinal microbiota and gut health of grower-finisher crossbred pigs. **Livestock Science**, v.195, p. 74-79, 2017.

FAO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002; 30.04–01.05.2002, London, Ontario, Kanada.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

FIALHO, E. T.; BARBOSA, O.; FERREIRA, A. S.; GOMES, P. C.; GIROTTO, A. F. Utilização da cevada suplementada com óleo de soja para suínos em crescimento e terminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 1467-1475, 1992.

FOUHSE, J.M.; ZIJLSTRA, R.T.; WILLING, B.P. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. **Animal Frontiers**, v.6, n.3, p. 30-36, 2016.

GIANNENAS, I.; DOUKASB, D.; KARAMOUTSIOS, A.; TZORA, A.; BONOS, E.; SKOUFOS, I.; TSINAS, A.; CHRISTAKI, E.; TONTIS, D.; FLOROU-PANERI, P. Effects of *Enterococcus faecium*, mannan oligosaccharide, benzoic acid and their mixture on growth performance, intestinal microbiota, intestinal morphology and blood lymphocyte



subpopulations of fattening pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 220, p. 159-167, 2016.

HAMASALIM, H.J. Synbiotic as Feed Additives Relating to Animal Health and Performance. **Advances in Microbiology**, v.6, p. 288-302, 2016.

HYEUN BUM KIM, H. B.; ISAACSON, R.E. The pig gut microbial diversity: Understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. **Veterinary Microbiology**, v.177, p. 242–251, 2015.

ISAACSON, R.; KIM, H.B. The intestinal microbiome of the pig. **Animal Health Research Reviews**, v.13, n.1, p.100–109, 2012.

JHA, R.; BERRECOSO, J.F.D. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health and on the environment: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 212, p. 18-26, 2016.

JØRGENSEN, J.N.; LAGUNA, J.S.; MILLÁN, C.;CASABUENA, O.; GRACIA, M.I. Effects of a Bacillus-based probiotic and dietary energycontent on the performance and nutrient digestibility of wean to finish pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 54-61, 2016.

KIARIE, E.; OWUSU-ASIEDU, A.; PÉRON, A.; SIMMINS, P.H.; NYACHOTI, C.M. Efficacy of xylanase and b-glucanase blend in mixed grains and grain co-products-based diets for fattening pigs. **Livestock Science**, v. 148, p. 129–133, 2012.

KICH, J.D.; MENEGUZZI, M. Interferência da microbiota na saúde intestinal: Eubiose vs Disbiose. In: Simpósio Brasil Sul de Suinocultura e Brasil Sul Pig Fair, 11º e 10º, 2018, Santa Catarina. **Anais ...** Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2018. 70-74 p.

KLASING, K.C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**, v.48, n.5, p. 525-537, 2007.

KNUDSEN, K.E.B.; HEDEMANN, M.S.; LÆRKE, H.N.; The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.173, p. 41-53, 2012.

KONSTANTINOV, S.R.; FAVIER, C.F.; ZHU, W.Y.; WILLIAMS, B.A.; KLÜß, J.; SOUFFRANT, W.B.; DE VOS, W.M.; AKKERMANS, A.DL.; SMIDT, H. Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition. **Animal Research**, v.53, p. 317–324, 2004.

LEE, K.Y.; BALASUBRAMANIANA, B.; KIM, J.K.; KIM, I.H.; Dietary inclusion of xylanase improves growth performance, apparent total tract nutrient digestibility, apparent ileal digestibility of nutrients and amino acids and alters gut microbiota in growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.235, p. 105–109, 2018.

LESER, T.D.; AMENUVOR, J.Z.; JENSEN, T.K.; LINDECORONA, R.H.; BOYE, M.; MØLLER, K. Culture-Independent Analysis of Gut Bacteria: the Pig Gastrointestinal Tract Microbiota Revisited. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.2, p. 673–690, 2002.

LIAO, S.F.; NYACHOTI, M. Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. **Animal Nutrition**, v. 3, p.331- 343, 2017.

LINDBERG, J. E.; LYBERG, K.; SANDS, J. Influence of phytase and xylanase supplementation of a wheat-based diet on ileal and total tract digestibility in growing pigs. **Livestock Science**,v.109, p. 268-270, 2007.

LIU, G.; YU, L.; MARTÍNEZ, Y.; REN, W.; NI, H.; AL-DHABI, N.A.; DURAIKANDIYAN, V.; YIN, Y. Dietary *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall Extract Supplementation Alleviates Oxidative Stress and Modulates Serum Amino Acids Profiles in Weaned Piglets. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p.0-7, 2017, In: <https://doi.org/10.1155/2017/3967439>.

LIU, Q.; ZHANG, W.M.; ZHANG, Z.J.; ZHANG, Y.J.; ZHANG, Y.W.; CHEN, L.; ZHUANG, S. Effect of fiber source and enzyme addition on the apparent digestibility of nutrients and physicochemical properties of digesta in cannulated growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 216, p. 262–272, 2016.

LIU, W.C.; YE, M.; LIAO, J.H.; ZHAO, Z.H.; KIM, I.H.; AN, L.L. Application of complex probiotics in swine nutrition – a review. **Annals of Animal Science**, vol.18, n. 2, p. 335–350, 2018.

MARKOWIAK, P.; ŚLIŻEWSKA, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. **Gut Pathog**, p. 10:21, 2018. In <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0250-0>.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, v. 38, n.6, p.1687-1693, 2008.

MILTENBURG, G. Extratos herbais como substitutivo de antimicrobianos na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 19., 2000, Campinas. **Anais ...Campinas: CNBA**, 2000. p.87-100.

MOCHERLA, V.; SURYANARAYANA, A.N. Performance and Total tract Digestibility of Probiotic, Xylanase and Phytase in the Diets of Grower Pigs. **Journal of Agriculture and Sustainability**, v. 2 , n. 1, p. 86-97, 2013.

MOREIRA, I.; MOURINHO, F.L.; CARVALHO, P.L.O.; PAIANO, D. ; PIANO, L.M. ; JUNIOR, I.S.K. Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem complexo enzimático na alimentação de leitões na fase inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.38, n.12, p.2408-2416, 2009.

NASCIMENTO, P.P. Dissertação: Utilização de complexo enzimático em rações contendo milho ou sorgo para leitões em fase de creche. Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO, 2010, 81 p;

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

NDOU, S.P.; KIARIE, E.; AGYEKUMA, A.K.; HEO, J.M.; ROMERO, L.F.; ARENTD, S.; LORENTSEN, R.; NYACHOTI, C.M. Comparative efficacy of xylanases on growth performance and digestibility in growing pigs fed wheat and wheat bran or corn and corn DDGS-based diets supplemented with phytase. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 230-239, 2015.

NORTEY, T.N.; PATIENCE, J.F.; SANDS, J.S.; ZIJLSTRA, R.T. Xylanase supplementation improves energy digestibility of wheat by-products in grower pigs. **Livestock Science**, v.109, p. 96–99, 2007.

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

OLIVEIRA, H.R.V. Dissertação: Efeito da Xilanase Isolada ou Associada à Levedura na Dieta de Leitões a Base de Sorgo sobre o Desempenho e a Microbiota Intestinal. Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes – PR, 2018, 48 p;

O'SHEA, C.J.; MC ALPINE, P.O.; SOLAN, P.; CURRAN, T.; VARLEY, P.F.; WALSH, A.M.; DOHERTY, J.V.O. The effect of protease and xylanase enzymes on growth performance, nutrient digestibility, and manure odour in grower–finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.189, p. 88– 97, 2014.

OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P.H.; BRUFAU, J.; LIZARDO, R.; PÉRON, A. Effect of xylanase and  $\beta$ -glucanase on growth performance and nutrient digestibility in piglets fed wheat–barley-based diets. **Livestock Science**, v. 134, p.76–78, 2010.

PAIXÃO, L.A.; CASTRO, F.F.S. A colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.

PASCOAL, L. A. F.; SILVA, L. P. G.; MIRANDA, E. C.; MARTINS, T. D. D.; THOMAZ, M. C.; LAMENHA, M. I. A.; ALMEIDA, D. H. Complexo enzimático em dietas simples sobre os parâmetros séricos e a morfologia intestinal de leitões. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 117-129, 2008.

PAJARILLO, E.A.B.; CHAE, J.P.; BALOLONG, M.P.; KIM, H.B.; KANG, D.K. Assessment of fecal bacterial diversity among healthy piglets during the weaning transition. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 60, p. 140–146, 2014.

PASSOS, A.A.; PARK, I.; FERKET, P.; VON HEIMENDAHL, E.; KIM, S.W. Effect of dietary supplementation of xylanase on apparent ileal digestibility of nutrients, viscosity of digesta, and intestinal morphology of growing pigs fed corn and soybean meal based diet. **Animal Nutrition**, v.1, p. 19-23, 2015.

PLUSKE, J.R.; TURPIN, D.L.; KIM, J.C.; Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. **Animal Nutrition**, v.4, p. 187-196, 2018.

RAI, V.; YADAV, B.; LAKHANI, G. P.; Application of Probiotic and Prebiotic in Animals Production: A Review. **Environment & Ecology**, v.31, n.2B, p.873-876, 2013.

RICHARDS, J. D.; GONG, J.; DE LANGE, C. F. M. The gastrointestinal microbiota and its role in monogastric nutrition and health with an emphasis on pigs: Current understanding, possible modulations, and new technologies for ecological studies. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, p. 421–435, 2005.

ROBLES-HUAYNATE, R. A.; THOMAZ, M. C.; SANTANA, Á. E.; MASSON, G.C.I.H.; AMORIM, A.B.; SILVA, S. Z.; RUIZ, U.S.; WATANABE, P.H.; BUDIÑO, F. E.L. Effect of the probiotic addition in diets of weaned piglets on the characteristics of the digesting system and of performance. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.14, n.1, p.248-258, 2013.

ROSS, G.R.; GUSILS, C.; OLISZEWSKI, R.; HOLGADO, S.C.; GONZÁLEZ, S.N. Effects of probiotic administration in swine. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, vol. 109, n. 6, p.545–549, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S.L. T.; BRITO, C. O. 2017. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG, 2017.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, SP: Editora Funep, 2007. 286 p.

SANTANA, A. L. A.; CARVALHO, P. L. O.; CRISTOFORI, E. C.; CHAMBO, P. C. S.; BARBIZAN, M. NUNES, R. V.; GREGORY, C. R.; GENOVA, J. L. Supplementation of pig diets in the growth and termination phases with different calcium sources. **Tropical Animal Health Production**, 2017 doi.org/10.1007/s11250-017-1456-8

SATTLER, V.A.; BAYER, K.; SCHATZMAYR, G.; HASLBERGER, A.G.; KLOSE, V. Impact of a probiotic, inulin, or their combination on the piglets' microbiota at different intestinal locations. **Beneficial Microbes**, v.6, n.4, p. 473-483, 2015;

SEEDOR, J.G. The biophosphanate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 4, p. 265-270, 1993.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2006. 235 p.

SHE, Y.; LIU, Y.; V, C. G.; STEIN, H.H. Effects of graded levels of an Escherichia coli phytase on growth performance, apparent total tract digestibility of phosphorus, and on bone parameters of weanling pigs fed phosphorus-deficient corn-soybean meal based diets. **Animal feed Science and technology**, p.102-109, 2017.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2001. 235p.

SILVA, S.Z.; THOMAZ, M.C; WATANABE, P.H.; Rizal Alcides ROBLES HUAYNATE, A.; RUIZ,U.S.; PASCOAL, L.A.F.; SANTOS, V.M.; MASSON, G.C.I.H. Mananoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 102-110, 2012.

STERK , A.; VERDONK, J.M.A.J.; MUL, A.J.; SOENEN, B.; BEZENÇON, M.L.; FREHNER, M.; LOSA, R. Effect of xylanase supplementation to a cereal-based diet on the apparent faecal digestibility in weanling piglets. **Livestock Science**, v.108, p. 269–271, 2007.

UNNO, T.; KIM, J.; GUEVARRA, R.B.; NGUYEN, S.G. Effects of Antibiotic Growth Promoter and Characterization of Ecological Succession in Swine Gut Microbiota. **Journal of Microbiology and Biotechnology** , v.25, n.4, p.431- 438, 2015.

UPADHAYA, S.D.; KIM, S.C.; VALIENTES, R.A.; KIM, I.H.; The Effect of Bacillus based Feed Additive on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Fecal Gas Emission, and Pen Cleanup Characteristics of Growing-Finishing Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.28, n.7, p. 999-1005.

VAN LAERE, K.M.J.; HARTEMINK, R.; BOSVELD, M.; HENK A. SCHOLS, H.A.;VORAGEN, A.G.J. Fermentation of Plant Cell Wall Derived Polysaccharides and Their Corresponding Oligosaccharides by Intestinal Bacteria. **J. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p.1644-1652, 2000.

YIN , Y.L.; BAIDOOB, S.K.; SCHULZEC, H.; SIMMINS, P.H. Effects of supplementing diets containing hullless barley varieties having different levels of non-starch polysaccharides with b-glucanase and xylanase on the physiological status ofthe gastrointestinal tract and nutrient digestibility of weaned pigs. **Livestock Production Sciencen**, v.71, p. 97–107, 2001.

YIRGA, H. The Use of Probiotics in Animal Nutrition. **Journal of Probiotics and Health**, v.3, n. 2, p. 1-10, 2015.

WANG Y. Prebiotics: present and future in food science and technology. **Food Research International**, v.42, p. 8-12, 2009.

WEISS, E.; EKLUND1, M.; SEMASKAITE2, A.; URBAITYTE1, R.; METZLER-ZEBELI3, B.; SAUER1, N.; RATRIYANTO4, A.; GRUZAUSKAS2, R.; MOSENTHIN, R. Combinations of feed additives affect ileal fibre digestibility and bacterial numbers in ileal digesta of piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 58, n. 8, p. 351-359, 2013.

ZEINELDIN, M.; ALDRIDGE, B.; BLAIR, B.; KANCER, K.; LOWE, J. Impact of parenteral antimicrobial administration on the structure and diversity of the fecal microbiota of growing pigs. **Microbial pathogenesis**, v. 118, p. 220-229, 2018.

ZENG, Z.K.; LI, Q.Y.; TIAN, Q.Y.; XU, Y.T.; PIAO, X.S. The combination of carbohydrases and phytase to improve nutritional value and non-starch polysaccharides degradation for growing pigs fed diets with or without wheat bran. **Animal Feed Science and Technology**, v.235, p. 138–146, 2018.

ZHAO, W.; WANG, Y.; LIU, S.; HUANG, J.; ZHAI, Z.; HE, C.; DING, J.; WANG, J.; WANG, H.; FAN, W.; ZHAO, J.; MENG, H. The Dynamic Distribution of Porcine Microbiota across Different Ages and Gastrointestinal Tract Segments. **Plos One**, v.10, n.2, p. 1-13, 2015.

ZHANG, Y.J.; LIU, Q.; ZHANG, W.M.; ZHANG, Z.J.; WANG, W.L.; ZHUANG, S. Gastrointestinal microbial diversity and short-chain fatty acid production in pigs fed different fibrous diets with or without cell wall-degrading enzyme supplementation. **Livestock Science**, v.207, p. 105–116, 2018.

ZHANG, Z.; TUN, H.M.; LI, R.; GONZALEZ, B.J.M.; KEENES, H.C.; NYACHOTI, C.M.; KIARIE, E.; KHAFIPOUR, E. Impact of xylanases on gut microbiota of growing pigs fed corn- or wheat-based diets. **Animal Nutrition**, v.4, p. 339-350, 2018.

## 7 ANEXO

| Contribuição da Fitase à dieta |         |       |
|--------------------------------|---------|-------|
| Espécie                        | Suíno   |       |
| Dose                           | FTU/kg  | 1000  |
| Inclusão                       | g/ton   | 100   |
| Fósforo disponível             | %       | 0,16  |
| Cálcio                         | %       | 0,14  |
| Energia Metabolizável          | kcal/kg | 33    |
| Proteína Bruta                 | %       | 0,364 |
| Lisina digestível              | %       | 0,014 |
| Metionina digestível           | %       | 0,005 |
| Cistina digestível             | %       | 0,01  |
| Treonina digestível            | %       | 0,017 |
| Triptofano digestível          | %       | 0,004 |
| Isoleucina digestível          | %       | 0,013 |
| Valina digestível              | %       | 0,013 |
| Arginina digestível            | %       | 0,014 |
| Leucina digestível             | %       | 0,026 |
| Zn                             | ppm     | 5,85  |
| Fe                             | ppm     | 7,28  |