

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA β -MANANASE SOBRE O DESEMPENHO,
DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE
CORTE**

**Bárbara Vitória Marçal
Médica Veterinária**

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA β -MANANASE SOBRE O DESEMPENHO,
DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE
CORTE**

Bárbara Vitória Marçal

Orientadora: Dra. Nilva Kazue Sakomura

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2024

M313e Marçal, Bárbara Vitória
Efeito da B-mananase sobre o desempenho, digestibilidade e saúde intestinal em frangos de corte / Bárbara Vitória Marçal.
-- Jaboticabal, 2024
59 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

1. Nutrição de monogástricos. 2. Avicultura. 3. Aditivo nutricional. 4. Microbiota intestinal. 5. Enzima. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Na alimentação de animais monogástricos é comum o uso de processos biotecnológicos para a destruição de fatores anti-nutricionais, assim como o emprego de enzimas, como é o caso da fitase e xilanase, invenções amplamente utilizadas pela indústria a partir da difusão do conhecimento científico. Contudo, existem outros fatores anti-nutricionais que quando eliminados são capazes de melhorar o aproveitamento dos nutrientes e o desempenho produtivo dos animais.

Dentre eles está o β -manano, um polissacarídeo não amiláceo encontrado nas porções fibrosas dos vegetais, responsável por dificultar a difusão e aderência de enzimas digestivas a seus substratos. A inclusão da enzima β -mananase nas dietas de permite: redução na viscosidade da digesta no lúmen intestinal, o aumento da digestibilidade de energia aparente, a melhora na saúde intestinal e a redução da umidade das excretas.

Deste modo, aprofundar a avaliação do efeito da β -mananase é essencial para a compreensão de seu mecanismo de ação e alterações no metabolismo de frangos de corte.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

When feeding monogastric animals, it is common to use biotechnological processes to destroy anti-nutritional factors, as well as the use of enzymes, such as phytase and xylanase, inventions widely used by industry following the dissemination of scientific knowledge. However, there are other anti-nutritional factors that, when eliminated, are capable of improving the use of nutrients and the productive performance of animals.

Among them is β -mannan, a non-starch polysaccharide found in the fibrous portions of vegetables, responsible for hindering the diffusion and adherence of digestive enzymes and their substrates. The inclusion of the enzyme β -mannanase in diets allows: reduction in the viscosity of digesta in the intestinal lumen, increased apparent energy digestibility, improved intestinal health and reduced humidity.

Therefore, further evaluating the effect of β -mannanase is essential for understanding its mechanism of action and changes in the metabolism of broiler chickens.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA β -MANANASE SOBRE O DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

AUTORA: BÁRBARA VITÓRIA MARÇAL

ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
SANDRA REGINA FREITAS PINHEIRO
Data: 20/08/2024 12:20:36-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. SANDRA REGINA FREITAS PINHEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Agrárias / Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) - Diamantina/MG

Documento assinado digitalmente
LEILANE ROCHA BARROS DOURADO
Data: 20/08/2024 10:02:55-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. LEILANE ROCHA BARROS DOURADO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal do Piauí (UFPI) - Bom Jesus, PI

Jaboticabal, 24 de junho de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Bárbara Vitória Marçal, nascida no dia 25 de março de 1998 em São José - SC, filha de Marcus Vinícius Marçal e Eliane Enésia de Souza. Médica Veterinária pela Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências Agrárias, Campus de Curitibanos - título obtido em outubro de 2021. Durante a graduação (2019-2021) foi monitora bolsista da disciplina de Nutrição Animal para os cursos de Medicina Veterinária e Engenharia Agrônômica, sob supervisão da Prof^a. Dr^a. Aline Félix Schneider Bedin. Realizou seu estágio curricular obrigatório na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Suínos e Aves, em Concórdia - SC, onde desenvolveu seu trabalho de conclusão de curso. Em janeiro de 2022 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Eliane e Marcus, a minha base. Faltam-me palavras para agradecer tamanha compreensão, zelo e amor. Agradeço também aos meus avós, tios e tias, primos e primas por vibrarem minhas conquistas como se fossem suas.

Ao meu namorado, Otávio, agradeço o carinho, apoio nas horas mais difíceis e incentivo para conclusão desta etapa. Temos muito pela frente!

Agradeço à minha orientadora, prof.^a Dr^a. Nilva Kazue Sakomura, pela confiança em deixar aos meus cuidados este estudo, além de toda paciência e ensinamentos compartilhados ao longo desse período.

Deixo registrado a minha imensa gratidão a todos os integrantes do Laboratório de Ciências Avícolas (LAVINESP). A dedicação do grupo para que os trabalhos sejam desenvolvidos com êxito é inspiradora, levo comigo um pouco de cada um. Agradeço em especial o Dr. Raully Lucas, que nunca mediu esforços para me auxiliar, desde a minha chegada até a conclusão deste trabalho. Você é uma pessoa fora da curva.

A minha companheira de casa, Me. Larissa Pereira Maria, que tive a sorte de dividir minhas conquistas, medos e acertos durante o mestrado. Obrigada por sempre me acolher com uma palavra amiga e tornar este período mais leve.

A Elanco Animal Health Incorporated pelo apoio financeiro para que esse estudo fosse desenvolvido, e ao Dr. Marcos Kipper, pelo suporte técnico durante a condução da pesquisa.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus Jaboticabal, pelo acolhimento e estrutura concedida.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para obtenção do título de Mestre.

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

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 Introdução	1
1.2 Avicultura brasileira	1
1.3 Aditivos enzimáticos em dietas para monogástricos	2
1.4 Polissacarídeos não amiláceos.....	3
1.5 Polissacarídeos não amiláceos solúveis.....	4
1.6 Polissacarídeos não amiláceos insolúveis	5
1.7 β -mananos	5
1.6 β -mananase	7
1.7 Referências bibliográficas	8
CAPÍTULO 2 - EFEITO DA β-MANANASE SOBRE O DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE	11
2.1 Introdução	11
2.2 Material e Métodos.....	13
2.2.1 Instalações e equipamentos	13
2.2.2 Delineamento e dietas experimentais	13
2.2.3 Desempenho produtivo.....	17
2.2.4 Coeficientes aparentes de digestibilidade ileal de nutrientes.....	17
2.2.5 Morfometria Intestinal	17
2.2.6 Microbiota cecal.....	18
2.2.7 Análise estatística	19
2.3 Resultados	20
2.3.1 Parâmetros de Desempenho e coeficientes de digestibilidade.....	20
2.3.2 Morfometria Intestinal	21
2.3.3 Microbiota cecal	24
2.4 Discussão	31
2.4.1 Parâmetros de desempenho.....	31
2.4.2 Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia bruta	33
2.4.3 Morfometria intestinal.....	34
2.4.4 Microbioma cecal	35
2.5 Conclusão	39
2.6 Referências bibliográficas	40
CAPÍTULO 3 - IMPLICAÇÕES	47



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito da beta-mananase sobre o desempenho e digestibilidade em frangos de corte"**, protocolo nº 640/22, sob a responsabilidade da Profª Drª Nilva Kazue Sakomura, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2022.

Vigência do Projeto	14/03/2022 a 14/03/2023
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> / Cobb 500
Nº de animais	1050
Peso / Idade	40g – 1 dia – 2.900g / 42 dias
Sexo	Machos
Origem	Incubatório Pluma agroavícola – Descalvado - SP

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2022.

Fabiana Pilarski
Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

EFEITO DA β -MANANASE SOBRE O DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO - Os β -mananos presentes nas porções fibrosas de vegetais estão associados ao aumento da viscosidade gastrointestinal, redução do esvaziamento gástrico e digestibilidade dos nutrientes. A suplementação das dietas com β -mananase exógena é uma alternativa para lidar com os efeitos adversos deste fator anti-nutricional, visto sua resistência a maioria dos processos químicos e físicos usados para o tratamento e inativação. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação da enzima β -mananase sobre o desempenho, morfometria intestinal, microbiota intestinal e digestibilidade de frangos de corte. Foram utilizados 990 frangos de corte machos da linhagem Ross 308, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em três tratamentos com 10 repetições de 33 aves por unidade experimental. Os tratamentos avaliados foram: T1 - controle positivo (atendendo os requerimentos nutricionais); T2 - controle negativo (com redução de 36 kcal/kg de energia metabolizável); e T3 - controle negativo com adição da enzima β -mananase. O desempenho produtivo foi avaliado aos 21 e 42 dias de idade dos animais, no entanto, não foram observadas diferenças para nenhum dos tratamentos estudados ($P > 0,05$). A suplementação com Hemicell apresentou maior energia digestível no período de 1 a 21 dias de idade das aves, em relação aos tratamentos CP e CN. A relação vilo:cripta no duodeno foi maior no tratamento com a suplementação da β -mananase, quando comparado aos demais tratamentos. Ainda, durante o período experimental, o tratamento contendo a β -mananase apresentou aumento na riqueza e diversidade da microbiota intestinal. Além disso, aos 22 dias de idade, os táxons da microbiota dos tratamentos CN e Hemicell diferiram entre si, utilizando o parâmetro Unifrac. Com base nos critérios avaliados neste estudo, a suplementação de dietas para frangos com β -mananase pode ser utilizada como estratégia nutricional para frangos de corte, obtendo resultados positivos na morfometria intestinal, microbiota cecal e coeficientes de digestibilidade aparente de energia bruta.

Palavras-chave: aditivo nutricional; avicultura; enzima; microbiota; morfometria intestinal; polissacarídeo não amiláceo.

EFFECT OF MANANASE ON PERFORMANCE, DIGESTIBILITY AND INTESTINAL HEALTH IN BROIL CHICKENS

ABSTRACT - The β -mannans present in the fibrous portions of vegetables are associated with increased gastrointestinal damage, reduced gastric emptying and nutrient digestibility. Supplementing diets with exogenous β -mannanase is an alternative to deal with the adverse effects of this antinutritional factor, given its resistance to most chemical and physical processes used for treatment and inactivation. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effect of β -mannanase enzyme supplementation on performance, intestinal morphometry, intestinal microbiota and digestibility of broilers. A total of 990 male broilers of the Ross 308 line were used, distributed in a completely randomized design in three treatments with 10 replicates of 33 birds per experimental unit. The studies evaluated were: T1 - positive control (meeting nutritional requirements); T2 - negative control (with a reduction of 36 kcal/kg of metabolizable energy); and T3 - negative control with addition of the enzyme β -mannanase. The productive performance was evaluated at 21 and 42 days of age of the animals, however, no differences were found for any of the treated treatments ($P > 0.05$). Supplementation with Hemicell showed greater digestible energy in the period from 1 to 21 days of age of the birds, in relation to the CP and CN treatments. The villus:crypt ratio in the duodenum was higher in the treatment with β -mannanase supplementation, when compared to the other treatments. Nevertheless, during the experimental period, the treatment containing β -mannanase showed an increase in the richness and diversity of the intestinal microbiota. Furthermore, at 22 days of age, the microbiota taxa of the CN and Hemicell treatments differed from each other, using the Unifrac parameter. Based on the criteria evaluated in this study, supplementation of chicken diets with β -mannanase can be used as a nutritional strategy for broilers, obtaining positive results in intestinal morphometry, cecal microbiota and apparent digestibility coefficients of gross energy.

Keywords: nutritional additive; poultry farming; enzyme; microbiota; intestinal morphometry; non-starch polysaccharide.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

O avanço da produção avícola se deve principalmente ao aperfeiçoamento dos seguimentos relacionados a atividade e aos investimentos em tecnologias e pesquisas. A nutrição representa a maior parcela do custo de produção de frangos de corte, assim, devem ser utilizados meios para atingir um melhor aproveitamento dos alimentos fornecidos (Júnior Ferreira, 2014).

As dietas para aves são compostas basicamente por ingredientes de origem vegetal, como o milho e o farelo de soja, que apresentam em sua constituição componentes capazes de indisponibilizar moléculas ou até mesmo prejudicar a digestibilidade dos nutrientes, denominados fatores anti-nutricionais (Barros, 2012). Dentre eles, os polissacarídeos não amiláceos (PNA's), prejudicam a difusão e aderência entre as enzimas digestivas e os substratos, resultando em perdas no desempenho produtivo dos animais (Choct, 2001).

Alguns fatores anti-nutricionais podem ser minimizados por meio da suplementação de aditivos enzimáticos nas dietas de animais monogástricos, considerando que estes não sintetizam endogenamente determinadas enzimas ou a síntese ocorre em taxas insuficientes (Campestrini et al., 2005). Dentre as diversas enzimas exógenas disponíveis, a β -mananase hidrolisa o PNA denominado β -manano, proporcionando redução na viscosidade da digesta no lúmen intestinal, aumento da digestibilidade de energia aparente, melhora na saúde intestinal e redução da umidade nas excretas de frangos de corte (Daskiran et al., 2004; Li et al., 2010; Mussini et al., 2011; Kong e Lee, 2011).

Neste sentido, o desenvolvimento de pesquisas para aprofundar a avaliação da β -mananase são essenciais para a compreensão do mecanismo de ação e alterações no metabolismo de frangos de corte.

1.2 Avicultura brasileira

O Brasil tem se destacado mundialmente pela contribuição no setor agropecuário e neste contexto, a avicultura foi o ramo que mais cresceu nos últimos anos. De acordo com Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), durante o ano

de 2023, o Brasil foi o segundo maior produtor de carne de frango do mundo com 14.833 mil toneladas, ficando atrás somente do Estados Unidos, com 21.095 mil toneladas.

Dentre as áreas responsáveis pelo desempenho positivo do setor destacam-se o melhoramento genético, nutrição, técnicas de manejo e sanidade (Pessôa et al., 2012). Dados divulgados também pela Embrapa, em janeiro de 2024, revelam que 68,20% dos custos para a produção de frangos de corte estão relacionados com a nutrição. Portanto, devem ser utilizadas ferramentas que melhorem o aproveitamento dos alimentos fornecidos, permitindo máxima eficiência alimentar e desempenho produtivo nas criações avícolas.

Alimentos de origem vegetal apresentam em sua constituição, componentes que indisponibilizam moléculas ou até mesmo prejudicam a digestibilidade dos nutrientes, sendo assim denominados como fatores anti-nutricionais (Júnior Ferreira, 2014). Buscando solucionar estes e outros problemas, nutricionistas desenvolvem pesquisas para que estes efeitos sejam reduzidos ou eliminados. Os fatores anti-nutricionais podem ser minimizados com o uso de aditivos alimentares enzimáticos, que através da catalisação de reações disponibilizam nutrientes, aumentando a energia e a digestibilidade.

1.3 Aditivos enzimáticos em dietas para monogástricos

Segundo a Instrução Normativa nº 44, de 15 dezembro de 2015, a definição de aditivo para produtos destinados a alimentação animal é toda a substância, microorganismos ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais. Neste sentido, os aditivos enzimáticos não apresentam função nutricional direta, mas auxiliam no processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes nas dietas.

Enzimas são proteínas globulares que atuam como catalisadores, ou seja, aceleram reações nos sistemas biológicos (Champe e Harvey, 1989). Estas apresentam alta especificidade para os seus substratos e possuem sítio ativo, que

atuam na ruptura de uma determinada ligação química (Penz Júnior, 1998) sob uma determinada condição favorável de temperatura e pH (Nelson e Cox, 2002). O uso destas enzimas na alimentação de animais monogástricos é uma prática consolidada e diversas empresas no mercado são responsáveis por produzi-las, fornecendo as enzimas de maneira isoladas ou em associação com outros ingredientes (blends) (Daskiran et al., 2004; Selle et al., 2009; Kong e Lee, 2011). A incorporação de enzimas nas dietas tem como finalidade complementar quantitativamente as enzimas digestórias endógenas dos animais (proteases, amilases, lipases), e fornecer enzimas que os animais não são capazes de sintetizar naturalmente (Campestrini et al., 2005).

1.4 Polissacarídeos não amiláceos

Os polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas (Choct, 1997), os quais são diferenciados a partir da constituição das unidades de monossacarídeos, tipos de ligações químicas, comprimento da cadeia e grau de ramificação da mesma (Nelson e Cox, 2002).

O termo polissacarídeos não amiláceos (PNA's) faz referência a variedade de moléculas de polissacarídeos presentes na parede celular dos vegetais (Choct, 1997). Os componentes dos PNA's distinguem-se em três padrões principais: os polissacarídeos da fibra (principalmente celulose), a matriz de polissacarídeos (hemicelulose e pectinas) e as substâncias incrustadas (compostos polifenóis, lignina) (Barros, 2012).

Os polissacarídeos são classificados como solúveis e insolúveis em função da capacidade de formar soluções homogêneas e heterogêneas com a água (Lima e Viola, 2001). Sua digestibilidade é afetada pela natureza das ligações, que conferem resistência ao processo de hidrólise no trato digestivo. A baixa digestibilidade da fibra reduz a energia do alimento, comprometendo a utilização dos nutrientes. Isso ocorre principalmente em PNA's solúveis, que ao formarem um gel viscoso (Conte et al., 2003), dificultam a taxa de difusão de substratos e enzimas digestivas, e impedem as interações na superfície da mucosa intestinal (Choct, 2001).

Ainda há os polissacarídeos neutros, como os arabinoxilanos (pentoses), β -glucanos e pequenas quantidades de celulose, que constituem os principais PNA's da fração fibrosa do endosperma de grãos dos cereais (Nagashiro, 2007). O milho e o

sorgo apresentam níveis de PNA's totais relativamente baixos, aproximadamente 8,1 e 4,8% da matéria seca, respectivamente. Desses, grande parte é constituída de PNA's insolúveis, arabinosilanos e celulose (Choct, 1997; Huisman et al., 2000).

O arranjo da estrutura dentro da parede celular afeta as propriedades químicas e físicas dos polissacarídeos, influenciando fisiologicamente a digestão e absorção dos nutrientes presentes no alimento (Bach, 2001). Dentre os efeitos causados pelos PNA's, a alteração do tempo de trânsito intestinal, mudança na estrutura da mucosa intestinal e variação na regulação hormonal devido à oscilação na taxa de absorção de nutrientes são as mais prejudiciais (Vahouny, 1982). O valor nutricional dos ingredientes relaciona-se negativamente com a concentração de PNA's (Choct, 1997; Barros, 2012).

1.5 Polissacarídeos não amiláceos solúveis

Os PNA's solúveis são constituintes da parede celular primária da e camada secundária da fibra, como a hemicelulose, pectinas e gomas respectivamente (Dhawan e Kaur, 2007). São os principais responsáveis pela formação de gel e aumento na viscosidade do conteúdo intestinal, que são características que impedem a digestão e absorção de nutrientes pelas aves (Torres, 2003). De acordo com Mourinho (2006), os PNA's solúveis interagem com o glicocálix da borda em escova das células intestinais, aumentando a espessura da camada de água na mucosa, tendo como consequência, o comprometimento da absorção dos nutrientes pela parede intestinal.

A solubilidade do polissacarídeo não amiláceo depende da sua estrutura química e sua ligação com os demais componentes da parede celular. No entanto, os efeitos deletérios sobre a digestão e absorção de nutrientes, ocorre independentemente da fonte de PNA solúvel (Choct, 2002).

Além disso, pode ocorrer a alteração na microflora intestinal em resposta ao aumento do tempo de permanência da digesta no trato gastrointestinal causado pelos PNA's solúveis (Van Der Klis e Van Voorst, 1993). Esse cenário é responsável pela diminuição da tensão de oxigênio, que favorece o crescimento de bactérias anaeróbicas, levando a produção de toxinas e desconjugação de sais biliares, responsáveis pela digestão de gordura (Choct, 1997).

1.6 Polissacarídeos não amiláceos insolúveis

Os PNA's insolúveis são formados pelas celulosas, as ligninas e algumas hemiceluloses. São fibras de baixa digestibilidade para os animais monogástricos, além de reduzirem a digestibilidade de outros nutrientes (Andriguetto et al., 2002).

Quando em excesso, os PNA's insolúveis podem acabar aumentando a taxa de passagem do quimo pelo trato digestivo, conseqüentemente reduzindo o tempo de ação de enzimas sobre a digesta e diminuindo a digestibilidade dos nutrientes (Warpechowski, 1996). Contudo, quando essas fibras insolúveis são fornecidas em quantidades moderadas, pode ocorrer um efeito benéfico para o animal, aumentando a digestibilidade do amido. Segundo Bertechini (2006), este efeito deve-se a capacidade das fibras de se acumularem na moela, o que resulta na regulação da taxa de passagem da digesta e da digestão de nutrientes no intestino.

1.7 β -mananos

De acordo com Dierick (1989), os β -mananos apresentam estrutura linear composta por unidades de β -1-4 manoses, 1-6 galactoses e unidades de glicose unidas a uma cadeia principal de β -manana (Figura 1).

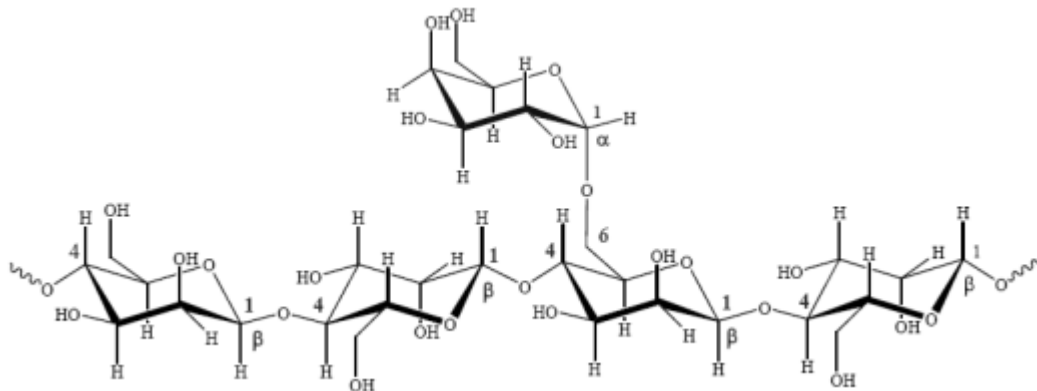


Figura 1. Representação esquemática da estrutura de 1,4- β manano.

Fonte: Adaptado de Mudau, 2006.

Este polissacarídeo é encontrado na casca e porções fibrosas dos alimentos (como por exemplo o farelo de soja), e possui fatores anti-nutricionais relacionados com o aumento da viscosidade gastrointestinal, redução do esvaziamento gástrico e digestibilidade dos nutrientes (Reid, 1985).

A redução na absorção de nutrientes está relacionada com a interação entre os β -mananos e o glicocálix (espécie de muco localizado sobre a mucosa intestinal), ocasionando o espessamento da camada de muco que dificulta fisicamente a absorção. Desta maneira, os nutrientes não absorvidos dentro do lúmen intestinal proporcionam um ambiente favorável para a proliferação de microorganismos, patogênicos ou não. Dentre os não patogênicos, o crescimento de organismos que degradam sais biliares prejudica a taxa de absorção de gordura e aminoácidos (Smits et al., 1998).

Em frangos de corte criados sobre camas, o acréscimo no percentual de água da excreta (decorrente do excesso de viscosidade da digesta) aumenta a ocorrência de calos de patas. Portanto, estes fatores associados são relacionados com lotes desuniformes, especialmente se os animais já apresentam algum problema sanitário (Quadros, 2019).

Os β -mananos também são encontrados na superfície de microorganismos patogênicos, sendo identificados pelo sistema imune inato animal quando ocorre o contato com a superfície do patógeno (Duncan et al., 2002). Desta maneira, os β -mananos presentes nos alimentos são capazes de ativar a reação cruzada do sistema imunológico (Zhang e Tizard, 1996). Com a ativação do sistema imune, citocinas são liberadas e ocorre a repartição de recursos energéticos, ou seja, parte da energia que seria utilizada para outros fins no organismo animal é desviada para produção de células de defesa). Este processo inflamatório é prejudicial para a saúde intestinal dos animais e reduz a quantidade de energia disponível para o crescimento (Nunes e Malmlöf, 1992).

Embora a concentração de β -mananos seja relativamente baixa nas dietas com milho e soja, deve-se dar a devida atenção em virtude dos fatores anti-nutricionais que esses apresentam. A destruição parcial ou total destas substâncias é um tanto quanto complexa, já que a maioria dos polissacarídeos apresentam resistência à processos químicos e físicos de tratamento, e até mesmo, exposição à alta temperaturas (Quadros, 2019). Sendo assim, a suplementação das dietas com β -mananase exógena é uma alternativa para lidar com os efeitos adversos dos β -mananos.

1.6 β -mananase

A enzima β -mananase é uma endocarbohidrase obtida a partir da fermentação de bactérias *Bacillus lentus*, responsável por clivar aleatoriamente as ligações 1,4- β glicosídicas da cadeia principal de mananos, galactomananos, glucomananos e galactoglucomananos, obtendo como produto durante a hidrólise: manobiose, manotriose e manose (Dhawan e Kaur, 2007).

O grau de degradação é afetado pela extensão e padrão de substituições na cadeia principal, no qual pode ocorrer um efeito inibitório sobre a ação de exoenzimas. A hidrólise da estrutura do manano requer ação sinérgica de endo e exoenzimas com clivagem das cadeias laterais (Moreira et al., 2008).

A hidrólise realizada pela β -mananase promove a redução da viscosidade da digesta, podendo melhorar a retenção de nutrientes em dietas com alto nível de fibra. Em aves, a quebra dos β -mananos parece ocorrer mais rapidamente quando comparado aos suínos, beneficiando a absorção dos nutrientes e reduzindo a umidade das excretas (Almirall et al., 1995).

Outra importante ação da β -mananase é a redução da inflamação intestinal, que aumenta a disponibilidade de energia para o processo de crescimento do animal. Neste sentido, a β -mananase pode ser considerada uma ferramenta importante para promover maiores ganhos produtivos e econômicos, uma vez que melhora a saúde intestinal e a aumenta a energia da dieta (Quadros, 2019).

1.7 Referências bibliográficas

- Almirall, M. et al. The differences in intestinal viscosity produced by barley and β -glucanase alter digesta enzyme activities and ileal nutrient digestibilities more in broiler chicks than in cocks. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 947-955, 1995.
- Andriguetto, J. M.; Perly, L.; Minardi, I.; Gemael, A.; Flemming, J. S.; Souza, G. A.; Bona Filho, A. **Nutrição Animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal e os alimentos**. São Paulo: Nobel, v. 2, p. 395, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. Relatório anual 2024. São Paulo, 77 p., 2024.
- Bach, K. E. The nutritional significance of dietary fibre analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 3-20, 2001.
- Barros, V. R. S. M. **Utilização de β -mananase e mananoligossacarídeo em rações de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, p. 73. 2012.
- Bertechini, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, p. 301, 2006.
- Campestrini, E.; Silva, V. T. M.; Appet, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p. 254-267, 2005.
- Champe, P.C.; Harvey, R.A. Enzimas. In: **Bioquímica Ilustrada: Artes médicas**, São Paulo, 2. ed., p. 53-66, 1989.
- Choct, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, June issue, p.13-26, 1997.
- Choct, M. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: Bedford, M.R.; Partridge, G.G. (Eds.) **Enzymes in farm animal nutrition**. **CABI Publishing**, p. 406, 2001.
- Choct, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p.13-26, 1997.
- Conte, A. J.; Teixeira, A. S.; Fialho, E.T.; Schoulten, N. A.; Bertechini, A.G. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as Características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo Farelo de Arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1147-1156, 2003.
- Daskiran, M.; Teeter, R.G.; Fodge, D.; Hsiao, H.Y. An evaluation of endo-mannanase (Hemicell) effects on broiler performance and energy use in diets carrying in-mannan content. **Poultry Science**, v.83, p. 662-668, 2004.

Dhawan, S.; Kaur, J. Microbial mananases: an overview of production and application. **Critical Review in Biotechnonology**, v. 27, p. 197-216, 2007.

Dierick, N. A. Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzymes and fermentation. **Archives of Animal Nutrition**, v.3, p. 241-251, 1989.

Duncan, C. J. *et al.* Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5683-5685, 2002.

Huisman, M. M. H.; Schols, H. A.; Voragen, A. G. J. Glucuronoarabinoxylans from maize kernel cell walls are more complex than those from sorghum kernel cell walls. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 269-279, 2000.

Jackson, M. E. Mannanase, alpha-galactosidade, and pectinase. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed.). Enzymes in farm animal nutrition. **CABI Publishing**, p. 54-84, 2001.

Júnior Ferreira, H. C. **Avaliação da enzima β -mananase em dietas para frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, p. 86. 2014.

Kong, C.; Lee, J.H. Beta-mannanase to starter and grower diets for broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p. 389-397, 2011.

Li, Y.; Chen, X.; Chen, Y, Li, Z.; Cao, Y. Effects -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, p. 59-67, 2010.

Lima, G. J. M. M.; Viola, E. S. Ingredientes energéticos: trigo e triticales na alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal. Campinas: **CBNA**, p. 33-61, 2001.

Moreira, L. R. S.; Filho, E. X. F. An overview of mannan structure and mannandegrading enzyme systems. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.79, p. 78-165, 2008.

Mudau, M. M. **The production, purification and characterization of endo-1,4- β -mannanase from newly isolated strains of *Scopulariopsis candida***. Magister Scientiae, University of the Free State bloemfontein 9300. South África. 2006.

Mussini, F. J.; Coto, C. A.; Goodgame, S.D.; Lu, C.; Karimi, A.J.; Lee, J.H. Beta-mannanase on nutrient digestibility in corn-soybean meal diets for broilers chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 774-777, 2011.

Nagashiro, C. Enzimas en la nutrición de aves. 2007. In: Conferência Apinco 2007 de Ciência e Tecnologia avícolas. p. 309-328. 2007.

Nelson, L. D.; Cox, M. M. Lehninger: princípios de bioquímica. São Paulo: Câmara brasileira do livro, 3ª ed., p. 189, 2002.

Nunes, C. S.; Malmlöf, K. Effects of guar gum and cellulose on glucose absorption, hormonal release and hepatic metabolism in the pig. **British Journal of Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 693-700, 1992.

Penz Júnior, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu - SP, p. 165-178. 1998.

Pessôa, G. B. S.; Tavernari, F. C.; Vieira, R. A.; Albino, L. F. T. Novos conceitos em Nutrição de Aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p. 755-774, 2012.

Quadros, V. R. **Desempenho de matrizes de corte suplementadas com β -mananase**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 62. 2019.

Reid, J. S. G. Galactomannans. In: Dey, P.M.; Dixon, R. A. (eds) Biochemistry of Storage Carbohydrates in Green Plants. **Academic Press**, p. 205-288, 1985.

Selle, P.H.; Ravindran, V.; Partridge, G. G. Beneficial effects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 153, p. 303-313, 2009.

Smits, C. et al. The inhibitory effect of carboxymethylcellulose with high viscosity on lipid absorption in broiler chickens coincides with reduced bile salt concentration and raised microbial numbers in the small intestine. **Poultry Science**, v. 77, n. 10, p. 1534-1539, 1998.

Vahouny, G. V. Dietary fiber, lipid metabolism, and atherosclerosis. **Federation Proceedings**, v. 41, p. 2801-2806, 1982.

Van der Klis, J. D.; Van Voorst, A. The effect of carboxy methyl cellulose (a soluble polysaccharide) on the rate of marker excretion from the gastrointestinal tract of broilers. **Poultry Science**, v.72, p. 503-5012, 1993

Warpechowski, M. B. Efeito da fibra insolúvel da dieta sobre a passagem no trato gastrintestinal de aves intactas, cecectomizadas e fistuladas no íleo terminal. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 125, 1996.

Zhang, L.; Tizard, I. R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. **Immunopharmacology**, v. 35, n. 2, p. 119-128, 1996.

CAPÍTULO 2 - EFEITO DA β -MANANASE SOBRE O DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

2.1 Introdução

As dietas para as aves de produção são compostas principalmente por ingredientes como o milho e o farelo de soja. Apesar de serem ingredientes amplamente utilizados e que quando associados garantem uma boa relação energia: proteína, esses ingredientes possuem frações anti-nutricionais que podem limitar o desempenho das aves (Barros, 2012). Dentre esses fatores, as β -mananas são especialmente relevantes, pois podem constituir de 0,28% a 50% da parede celular do endosperma do milho e de 0.25% a 0.87%, do farelo de soja (Kiarie et al., 2021). A redução da digestibilidade desses ingredientes devido aos seus fatores anti-nutricionais representa uma fonte potencial de energia para as aves (Meng et al., 2005). Além disso, as β -mananas derivadas de vegetais podem ser análogos de padrões moleculares associados a patógenos, capazes de induzir uma ativação metabolicamente dispendiosa do sistema imunológico inato (Worthley et al., 2005; Anderson et al., 2008; Dale et al., 2008)

O β -manano é classificado como um polissacarídeo amiláceo insolúvel, composto por unidades sequenciais de manose complexadas com galactose ou glicose, ligadas à estrutura do β -manano. Nas membranas celulares de várias bactérias, a manose possui diferentes estruturas moleculares (Yamada et al., 2003). Esta alteração na molécula de manose é uma das razões pelas quais a presença de β -mananas no intestino desencadeia uma resposta imune inata desnecessária, que pode prejudicar o desempenho das aves (Anderson et al., 2008) ao desviar nutrientes e energia para as respostas imunes, além de limitar o crescimento de frangos de corte (Hsiao et al., 2006).

Estudos anteriores descobriram que as β -mananas no intestino podem levar ao aumento da proliferação de monócitos e macrófagos, bem como à maior produção de citocinas (Olmeda-Geniec et al., 2015). Esta resposta complexa associadas a ingredientes que contenham β -mananas pode resultar em perdas desnecessárias na utilização energética da dieta (Arsenault et al., 2017).

Em relação aos frangos de corte, existem duas condições que intensificam os efeitos deletérios das β -mananas. Primeiro, as dietas são compostas principalmente de vegetais. Em segundo lugar, a atividade da enzima (endógena) β -mananase no metabolismo é quase insignificante, impedindo a hidrólise e a digestão dos PNA's presentes nas paredes celulares dos vegetais da dieta (Kocher et al., 2003).

A adição de β -enzimas exógenas às dietas de frangos de corte permite uma degradação considerável de β -galactomananos em frações menores de β -mananas e mananoligossacarídeos, que não podem mais desencadear uma resposta imune inata (Kocher et al., 2003). Isso resulta na redução da viscosidade da digesta no lúmen intestinal, no aumento da digestibilidade da energia aparente, na melhoria da saúde intestinal e na redução do teor de umidade das excretas dos frangos de corte (Li et al., 2010; Kong e Lee, 2011).

O uso da enzima β -mananase pode reduzir a capacidade das β -mananas de desencadear respostas imunes inatas (Olmeda-Geniec et al., 2015), o que por sua vez reduz a inflamação intestinal (Jackson et al., 2003; Olmeda-Geniec et al., 2015) e aumenta a digestibilidade de nutrientes e energia (Zangiabadi e Torki, 2010; Ferreira et al., 2016).

Em outro estudo realizado por Scapini et al. (2019), observou-se que a suplementação de β -mananase em dieta à base de milho e farelo de soja contribuiu positivamente para a qualidade do epitélio intestinal em frangos de corte, melhorando a relação vilosidade-cripta. Todos esses resultados e dados são consistentes com a hipótese de que a redução da inflamação intestinal é um fator importante na melhoria do desempenho quando a β -mananase é adicionada a dietas com alto teor de β -mananas. Verificou-se também que a presença de β -mananase nas dietas de frangos de corte aumentou a energia metabolizável aparente (EMA), a eficiência alimentar e o ganho de peso corporal (Zangiabadi e Torki, 2010).

Nossa hipótese é que a suplementação de β -mananase em dietas para frangos de corte permite o aumento da hidrólise de β -mananas e reduz efeitos prejudiciais, como a ativação do sistema imunológico e inflamação no epitélio, resultando em melhor digestibilidade de nutrientes e energia. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação da β -enzima no desempenho produtivo, digestibilidade energética e proteica, na morfometria e saúde intestinal.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Ciências Avícolas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, no município de Jaboticabal estado de São Paulo, durante os meses de abril e maio de 2022. O estudo foi aprovado (protocolo nº: 640/22) e conduzido com base nas orientações do Comitê de Ética Animal da Faculdade de Zootecnia e Veterinária da mesma universidade.

2.2.1 Instalações e equipamentos

O experimento foi conduzido em um galpão de alvenaria, equipado com placas evaporativas e exaustores, favorecendo o controle de temperatura, umidade e velocidade do ar conforme as recomendações do manual da linhagem (Aviagen, 2018). O monitoramento da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (UR) foi realizado com auxílio de termohidrômetros posicionados estrategicamente pelo aviário. As médias de temperatura e umidade foram registradas durante todo o período experimental, obtendo 23,1°C de temperatura média e 49,5% de umidade relativa média.

Os boxes experimentais (3m x 1m) contavam com bebedouros tipo nipple e comedouros tubulares e foram revestidos por cama de maravalha. Os ajustes dos comedouros e bebedouros foram realizados diariamente conforme o crescimento das aves.

O aquecimento na fase inicial foi realizado por meio de campanulas elétricas, na proporção de uma campânula por unidade experimental. As aves foram submetidas à iluminação contínua até completarem 14 dias de idade e partir do 15º dia, foi adotado e mantido até o final do experimento, um programa de 18 horas de luz e 6 horas de escuro.

2.2.2 Delineamento e dietas experimentais

Foram utilizados um total de 990 pintos de corte Ross 308, machos, sexados, com um dia de idade, obtidos de um incubatório comercial local. As aves foram sujeitas a programa vacinal, que incluía imunização contra Marek no primeiro dia e subsequentes vacinações contra doenças de Newcastle e Gumboro aos setes dias de idade. As aves foram alojadas e distribuídas em delineamento inteiramente

casualizado, com três tratamentos e 10 repetições de 33 aves por unidade experimental (boxes).

As dietas experimentais foram estabelecidas para atender às exigências nutricionais de frangos de corte machos de alto desempenho preconizadas por Rostagno et al. (2017), e foram formuladas a base de milho e farelo de soja. O programa alimentar foi dividido em quatro fases: pré-inicial (1 a 14 dias de idade), inicial (15 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias de idade), conforme a Tabela 1.

Os três tratamentos experimentais foram os seguintes: 1 - Controle Positivo (dieta basal); 2 - Controle Negativo (dieta basal com redução de 36 kcal/kg de energia metabolizável); e 3 - Hemicell (controle negativo com adição de β -mananase). A enzima β -mananase foi fornecida com a inclusão do aditivo nutricional Hemicell (Elanco®, SP, Brasil), na proporção de 300g/tonelada. A determinação da energia e proteína digestível aparente das dietas experimentais foi realizada com a inclusão do indicador Celite®. Para ajuste das dietas, o farelo de trigo foi utilizado como ingrediente inerte e a sua composição nutricional foi considerada durante a formulação.

As aves tiveram livre acesso as rações experimentais e a água durante todo o ensaio.

Nutrientes	Composição calculada											
	3015	2980	3024	3050	3014	3059	3150	3114	3159	3200	3164	3209
Energia metabolizável, (Kcal/kg)	3015	2980	3024	3050	3014	3059	3150	3114	3159	3200	3164	3209
Proteína bruta, (%)	24,00	24,00	24,00	23,00	23,00	23,00	20,00	20,00	20,00	19,00	19,00	19,00
Cálcio total, (%)	0,93	0,93	0,93	0,88	0,88	0,88	0,76	0,76	0,76	0,64	0,64	0,64
Fósforo, (%)	0,44	0,44	0,44	0,41	0,41	0,41	0,37	0,37	0,37	0,36	0,36	0,36
Potássio, (%)	0,91	0,91	0,91	0,89	0,89	0,89	0,78	0,78	0,78	0,73	0,73	0,73
Sódio, (%)	0,22	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,20	0,20	0,20	0,19	0,19	0,19
Cloro, (%)	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,24	0,24	0,24
Lisina Dig, (%)	1,28	1,28	1,28	1,20	1,20	1,20	1,12	1,12	1,12	1,01	1,01	1,01
Metionina Dig, (%)	0,64	0,64	0,64	0,62	0,62	0,62	0,56	0,56	0,56	0,49	0,49	0,49
Metionina + Cistina Dig, (%)	0,95	0,95	0,95	0,92	0,92	0,92	0,84	0,84	0,84	0,75	0,75	0,75
Treonina Dig, (%)	0,84	0,84	0,84	0,82	0,82	0,82	0,74	0,74	0,74	0,66	0,66	0,66
Triptofano Dig, (%)	0,26	0,26	0,26	0,25	0,25	0,25	0,22	0,22	0,22	0,20	0,20	0,20
Arginina Dig, (%)	1,51	1,51	1,51	1,47	1,47	1,47	1,25	1,25	1,25	1,15	1,15	1,15
Glicina + Serina Dig, (%)	2,08	2,08	2,08	2,00	2,00	2,00	1,72	1,72	1,72	1,60	1,60	1,60
Valina Dig, (%)	0,98	0,98	0,98	0,96	0,96	0,96	0,84	0,84	0,84	0,78	0,78	0,78
Isoleucina Dig, (%)	0,90	0,90	0,90	0,89	0,89	0,89	0,76	0,76	0,76	0,70	0,70	0,70
Leucina Dig, (%)	1,79	1,79	1,79	1,75	1,75	1,75	1,59	1,59	1,59	1,50	1,50	1,50
Histidina Dig, (%)	0,56	0,56	0,56	0,54	0,54	0,54	0,48	0,48	0,48	0,45	0,45	0,45
Fenilalanina Dig, (%)	1,04	1,04	1,04	1,02	1,02	1,02	0,89	0,89	0,89	0,83	0,83	0,83

PC: controle positivo; CN: controle negativo; Hemicell: controle negativo com adição de β -mananase; ¹A matriz de fitase para cálcio e fósforo é de 0,165% e 0,150%, respectivamente, para a inclusão de 500 FTU/kg; ²Conteúdo/kg de pré-mistura = Vitamina A (min) 11,000,000 UI; Vitamina D3 (min) 4,000,000 UI; Vitamina E (min) 55,000 UI; Vitamina K3 (min) 3,000 mg. Vitamina B1 (min) 2.300 mg. Vitamina B2 (min) 7.000 mg, Ácido Pantotênico (min) 12g. Vitamina B6 (min) 4.000 mg. Vitamina B12 (min) 25.000 mcg. Ácido Nicotínico (min) 60g. Ácido Fólico (min) 2.000 mg. Biotina (min) 250 mg. Selênio (min) 300 mg; ³Conteúdo/kg de pré-mistura= ferro (min) 100g. Cuprum (min) 20g. Manganês (min) 130g. Zinco (min) 130g. Iodo (min) 2.000mg; ⁴Inerte: farelo de trigo.

2.2.3 Desempenho produtivo

As variáveis de desempenho produtivo: peso corporal (PC) e consumo de ração (CR), foram registradas aos 21 e 42 dias de idade, no qual todas as aves do ensaio foram pesadas para obtenção do peso corporal (n = 990). O ganho de peso (GPC) foi calculado e usado para determinar a taxa de conversão alimentar (CA). A CA foi calculada a partir dos valores de GPC e CR, além de ser corrigida diariamente para a mortalidade conforme a metodologia elucidada por Sakomura e Rostagno (2016).

2.2.4 Coeficientes aparentes de digestibilidade ileal de nutrientes

Para a análise de digestibilidade ileal, foram selecionadas seis aves por box aos 21 dias e aos 42 dias, quatro aves por box. Os animais foram realocados em boxes sobressalentes para continuarem recebendo a dieta da fase anterior contendo Celite®, até o momento da eutanásia aos 22 e 43 dias, respectivamente. A eutanásia foi realizada por deslocamento cervical e o conteúdo ileal coletado a partir do segundo terço da parte distal do íleo (cortou-se 5 cm da junção ileocecal em direção ao divertículo de Meckel, e a 5 cm de distância do divertículo de Meckel em direção ao ceco), conforme o método descrito por Sakomura e Rostagno (2016).

As amostras de digestas foram acondicionadas em potes plásticos e congeladas em ultra freezer (ColdLab CL374-86V, EUA), a - 85°C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram pesadas e liofilizadas (liofilizador Edwards Supermudulyo-220, EUA) a - 80°C em uma pressão de 10^{-1} atm e moagem em moedor de bolas (Marconi MA 350, Brasil). Ao final do processo as amostras foram processadas e enviadas para o laboratório para serem analisadas quanto a matéria seca (AOAC, 2005: método 920.39), proteína bruta (AOAC, 2005: método 2001.11) e cinza ácida (IKA C 2000 basic, EUA).

2.2.5 Morfometria Intestinal

A avaliação da morfometria intestinal foi realizada aos 22 e 43 dias de idade das aves. Para realizar a coleta dos segmentos intestinais (jejuno, duodeno e íleo), uma ave por box foi eutanasiada por deslocamento cervical. Após a abertura da cavidade celomática, as seções foram coletadas com cautela, para que medissem entre 1,5 e 2,0 cm de comprimento e evitassem autólise. Os fragmentos intestinais

foram retirados dentro dos dois terços intermediários de cada um dos segmentos. O conteúdo presente no interior do tubo intestinal foi eliminado com o auxílio de seringa e formaldeído a 10%, para então serem armazenados em recipientes com solução formalina e enviados ao laboratório (Mercolab, Cascavel - Paraná, Brasil) responsável pela continuidade das análises.

O processamento das amostras iniciou-se com o seccionamento dos fragmentos nas disposições hemecilíndrica, transversal e longitudinal, cada uma com espessura aproximada de 1mm (Gava, 2012). Na sequência, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, clarificadas em xileno, impregnadas e embebidas em parafina. A partir desse ponto, as amostras foram microtomizadas para obtenção de cortes semi-seriados de 4 µm de espessura, que por fim foram corados em hematoxilina e eosina conforme o método descrito por Luna (1968).

Com o auxílio de um microscópio óptico (Olympus CX31, Evident Corporation, Tóquio, Japão) foi realizada a leitura de 10 campos de cada fragmento avaliado, em objetiva de 10x. A mensuração da altura das vilosidades e profundidade das criptas foi realizada a partir do software Toup View, sendo realizado 10 leituras de vilosidades completas para duodeno, jejuno e íleo.

2.2.6 Microbiota cecal

A determinação da microbiota cecal das aves foi realizada com 22 e 43 dias de idade, a partir da coleta do conteúdo cecal da ave utilizada para a análise de morfometria intestinal (n = 10).

A extração do DNA das amostras foi realizada utilizando o kit comercial “ZR Fecal DNA MiniPrep®” da Zymo Research, seguindo o protocolo do fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260nm. Para avaliar a integridade do DNA, todas as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1%.

Para amplificação da região hiper variável V3V4 do gene ribossômico 16S rRNA, foram utilizados primers universais descritos na metodologia. As condições de PCR consistiram em uma etapa inicial a 95°C por 3 minutos, seguida de 25 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos, com uma etapa final de extensão a 72°C por 5 minutos. As amostras amplificadas foram

utilizadas para construção da biblioteca metagenômica utilizando o kit comercial “Nextera DNA Library Preparation Kit” da Illumina®. As amostras agrupadas foram então sequenciadas no sequenciador Illumina® “MiSeq” (Degnan e Ochman, 2012).

As leituras obtidas do sequenciador foram analisadas utilizando a plataforma QIIME2 (Quantitative Insights into Microbial Ecology) (Caporaso et al., 2010). O fluxo de trabalho de análise incluiu a remoção de sequências de baixa qualidade, filtração, remoção de químeras e classificação taxonômica. As sequências foram classificadas em gêneros bacterianos usando Variantes de Sequência de Amplicon (ASVs), comparando-as com um banco de dados. O banco de dados SILVA de sequências ribossômicas (Yilmaz et al., 2014), especificamente a atualização de 2019 (SILVA 138), foi utilizado para comparação de sequências. Para gerar a classificação das comunidades bacterianas com base na identificação do ASV, foram utilizadas 20.536 leituras por amostra para normalizar os dados e garantir a comparabilidade entre amostras com diferentes números de leitura.

2.2.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software MiniTab Statistical versão 19. Os dados foram verificados quanto à normalidade dos erros e homoscedasticidade antes de serem submetidos à análise de variância (ANOVA). Os outliers foram identificados por meio de análise de erros residuais e posteriormente removidos. Para a comparação estatística dos dados de desempenho e coeficientes de digestibilidade aparente de proteína e energia bruta foi utilizado o teste de médias Tukey, adotando um nível de significância de $P < 0,05$. A comparação estatística entre as análises morfométricas foram realizadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Kruskal e Wallis, 1952). Resultados com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Para a análise estatística do microbioma cecal, as diversidades alfas foram calculadas usando o pacote “phyloseq” (McMurdie e Holmes, 2013) e a biblioteca “vegan” (Oksanen et al., 2007), e comparadas usando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Kruskal e Wallis, 1952), seguido pelo teste Post-hoc de Dunn (Dunn, 1964). Resultados com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A diversidade beta foi realizada usando análise de variância multivariada permutacional

(perMANOVA) do pipeline Qiimell com 10.000 permutações. Todas as análises estatísticas adicionais foram realizadas utilizando o software "R".

2.3 Resultados

2.3.1 Parâmetros de Desempenho e coeficientes de digestibilidade

A suplementação das dietas com a β -mananase não apresentou diferença significativamente para nenhuma das variáveis de desempenho estudadas conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Desempenho produtivo de frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade.

Tratamentos	1 - 21 dias			22 - 42 dias		
	GP ¹ (kg)	CR ² (kg)	CA ³ (kg/kg)	GP ¹ (kg)	CR ² (kg)	CA ³ (kg/kg)
CP	1,000	1,180	1,180	2,57	4,08	1,59
CN	0,990	1,180	1,190	2,51	4,01	1,59
Hemicell	0,980	1,180	1,200	2,56	4,05	1,58
Média	0,990	1,180	1,190	2,54	4,04	1,58
DP ⁴	0,026	0,034	0,026	0,104	0,112	0,029
P-valor	0,245	0,455	0,078	0,361	0,319	0,767

CP: controle positivo; CN: controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; Hemicell: controle negativo com adição de β -mananase. ¹Ganho de peso. ²Consumo de ração. ³Conversão alimentar. ⁴Desvio padrão. a, b Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas com base no teste de Tukey (p-valor < 0,5).

Foi observado diferença estatística (P<0,05) entre os coeficientes de digestibilidade aparente para proteína bruta e energia entre os tratamentos estudados em função da idade das aves (Tabela 3). Aos 22 dias de idade, não houve diferença significativa (P>0,05) para o coeficiente de PB entre os tratamentos. Entretanto, aos 43 dias, as aves do tratamento CP apresentaram maior coeficiente de digestibilidade aparente de PB em relação ao CN, e por sua vez, o tratamento Hemicell não diferiu dos outros tratamentos.

Aos 22 dias de idade, as aves alimentadas com a dieta CP e CN apresentaram menor energia digestível do que aquelas que receberam a dieta suplementada com β -mananase. Por outro lado, aos 43 dias de idade, o tratamento CP apresentou maior energia digestível em relação aos tratamentos CN e Hemicell.

Tabela 3. Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta e da energia digestível, aos 22 e 43 dias de idade dos frangos de corte estudados.

Idade	Tratamentos	PB (%) ¹	ED (kcal/kg MS) ²
22	CP	84,76	3583b
	CN	85,52	3667ab
	Hemicell	85,62	3730a
P-valor		0,580	0,043
EPM ³		0,357	24,7
43	CP	89,05a	3949a
	CN	87,67b	3807b
	Hemicell	87,99ab	3831b
P-valor		0,041	0,032
EPM ³		0,520	30,2

CP: controle positivo; CN: controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; Hemicell: controle negativo com adição de β -mananase; ¹Proteína bruta; ²Digestibilidade da energia; ³Erro padrão da média. a, b Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatística com base no teste de Tukey ($p < 0,5$).

2.3.2 Morfometria Intestinal

As variáveis morfométricas dos cortes de intestino (duodeno, jejuno e íleo) foram estatisticamente significativas ($P < 0,05$) em ambas as idades, conforme apresentado na Tabela 4.

Aos 22 dias de idade, a profundidade de cripta no duodeno foi significativamente ($P < 0,05$) maior no tratamento CN, em relação ao tratamento com a β -mananase. Por outro lado, a relação vilo:cripta no duodeno foi significativamente ($P < 0,05$) maior no tratamento com inclusão de Hemicell do que os demais tratamentos. Do mesmo modo, a altura de vilo no íleo também demonstrou diferença significativa ($P < 0,05$) nos tratamentos CP e Hemicell.

Aos 43 dias de idade, as variáveis altura de vilo e a profundidade de cripta no duodeno foram significativamente ($P < 0,05$) maiores nos tratamentos CP e CN, em relação ao Hemicell. Enquanto a altura de vilo no jejuno apresentou valores maiores apenas para o CP, não havendo diferença entre o CN e o tratamento Hemicell. A profundidade de cripta neste segmento intestinal foi maior nos tratamentos Hemicell e CN em relação ao tratamento CP. Já a relação vilo:cripta foi maior no tratamento CP, em relação ao demais tratamentos, enquanto os tratamentos Hemicell e CN obtiveram resultados semelhantes.

A altura do vilo no íleo foi maior ($P < 0,05$) no tratamento CP quando comparado aos tratamentos CN e Hemicell, que apresentaram valores semelhantes para a

variável. A profundidade de cripta no mesmo segmento foi maior no tratamento Hemicell, enquanto os tratamentos CP e CN obtiveram uma menor profundidade de cripta e foram estatisticamente iguais. A relação vilo:cripta foi superior nos tratamentos CP e CN, em relação ao Hemicell.

Tabela 4. Medidas morfométricas da mucosa do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 22 e 43 dias de idade alimentados com dietas suplementas ou não com β -mananase.

Idade	Tratamentos	Duodeno			Jejuno			Íleo		
		AV ¹ , μm	PC ² , μm	V/C ³ , μm	AV ¹ , μm	PC ² , μm	V/C ³ , μm	AV, μm	PC ² , μm	V/C ³ , μm
22	CP	1,91	0,158ab	12,40b	0,905	0,134	7,40	0,78a	0,129	6,30
	CN	2,01	0,167 ^a	11,80b	0,883	0,136	6,50	0,74b	0,128	6,10
	Hemicell	2,00	0,149b	14,00a	0,925	0,129	7,40	0,79a	0,130	6,40
	P-valor	0,096	0,004	0,007	0,314	0,087	0,206	0,020	0,962	0,449
	EPM ⁴	0,022	0,002	0,228	0,009	0,002	0,129	0,007	0,002	0,101
43	CP	2,18a	0,189 ^a	12,32	1,415a	0,135b	11,06a	1,119a	0,131b	9,17a
	CN	2,25a	0,180 ^a	13,14	1,291b	0,156a	8,78b	1,018b	0,131b	8,20a
	Hemicell	1,85b	0,164b	11,88	1,256b	0,165a	8,17b	0,973b	0,146a	6,91b
	P-valor	0,000	0,000	0,222	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
	EPM ⁴	0,385	0,002	0,300	0,009	0,002	0,169	0,014	0,002	0,177

CP: controle positivo; CN: controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; Hemicell: controle negativo com adição de β -mananase; ¹Altura de vilosidade; ²Profundidade de cripta; ³Relação vilo:cripta; ⁴Erro padrão da média; a,b Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatística com base no teste Kruskal-Wallis (p-valor < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo).

2.3.3 *Microbiota cecal*

O microbioma do conteúdo do ceco foi estudado quanto à diversidade alfa e beta, composição taxonômica e abundância diferencial de táxons.

2.3.3.1 *Diversidade alfa*

A análise da diversidade alfa, estimada pelas métricas Chao1, OTU's, Fisher, índice de Simpson, entropia de Shannon e equidade de Pielou, revelou diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos e suas respectivas datas de amostragem (Figura 1A a 1F).

A aferição pela métrica Chao1 (Figura 1A) revelou que o microbioma do ceco para os tratamentos CP e Hemicell apresentaram maior diversidade alfa aos 43 dias de amostragem. Foi constatado que a diversidade do microbioma do tratamento CN foi maior do que o tratamento Hemicell aos 22 dias.

Para a métrica OTU's (Figura 1B), o tratamento CP apresentou maior diversidade aos 43 dias de idade. O tratamento Hemicell, manifestou maior diversidade aos 43 dias quando comparado a primeira data de amostragem. O tratamento CN e Hemicell diferiram estatisticamente quanto a diversidade alfa aos 22 dias, sendo a maior diversidade observada no tratamento CN.

Na métrica Fisher (Figura 1C), o microbioma do tratamento CP e Hemicell apresentaram maior diversidade alfa aos 43 dias de amostragem. O tratamento CN apresentou maior diversidade alfa do que o tratamento Hemicell aos 22 dias.

Para o índice de Simpson (Figura 1D), o microbioma do tratamento CN proporcionou maior diversidade alfa quando comparado ao tratamento Hemicell aos 22 dias de idade das aves.

Por fim, para a entropia de Shannon (Figura 1E), o microbioma do tratamento CN expressou maior diversidade alfa do que o tratamento Hemicell aos 22 dias. Ainda, foi observado que a diversidade alfa do tratamento Hemicell foi maior diversidade aos 43 dias de amostragem.

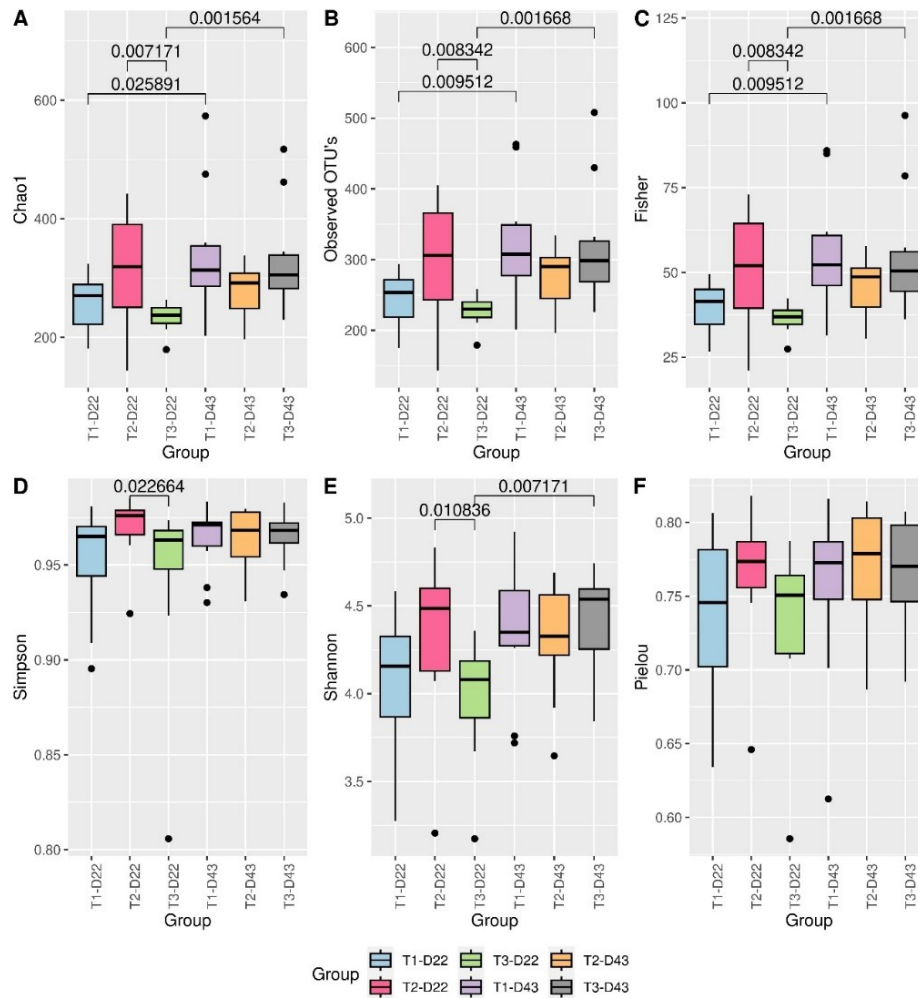


Figura 1. Diversidade alfa estimada pelo parâmetro Chao1 (A), OTU's (B), Fisher (C), Índice de Simpson (D), Entropia de Shannon (E), e equidade de Pielou's (F). A comparação estatística entre os grupos foi realizada por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Teste post-hoc Dunn's. Resultados estatísticos abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

2.3.3.2 Diversidade beta

A análise de diversidade beta (Figura 2) foi estimada pelos parâmetros com significância estatística para Bray-Curtis ($p = 0,0001$), Jaccard ($p = 0,0001$), UniFrac ($p = 0,0001$) e Unifrac ponderado ($p = 0,0001$). Todas as comparações foram feitas considerando a abundância e a relação filogenética entre os táxons.

Foi observado diferença na dissimilaridade dos táxons presentes em todos os tratamentos, aos 22 e 43 dias de idade das aves, em todas as métricas (Figura 2A a 2D). Aos 22 dias, os tratamentos CN e Hemicell apresentaram diferenças entre si pela métrica Unifrac.

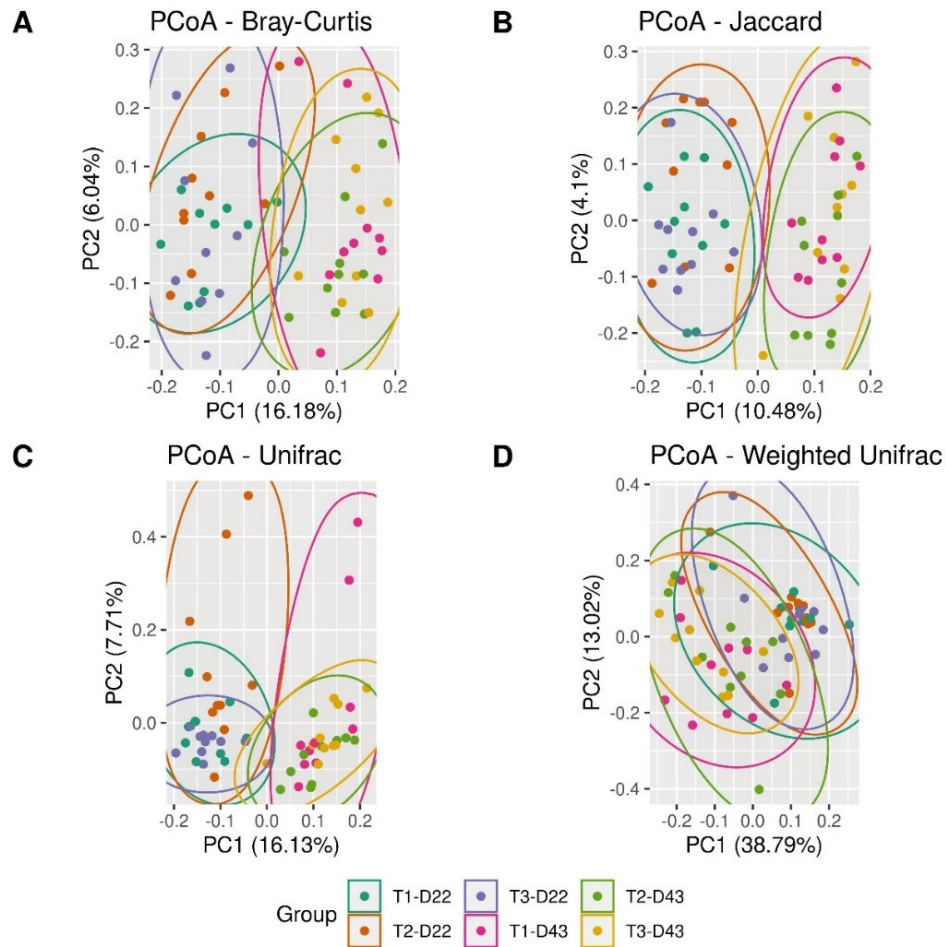


Figura 2. Diversidade beta estimada pelos parâmetros Bray-Curtis (A), Jaccard (B), UniFrac (C), e Unifrac ponderado (D). Elipses coloridas foram adicionadas automaticamente usando a bibliografia ggforce em R. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

2.3.3.3 Composição da comunidade bacteriana

A relação *Firmicutes/Bacteroidetes* foi calculada para cada amostra analisada (Figura 3). Foram observadas diferenças significativas em todos os tratamentos nas idades de amostragem, sendo observado relações maiores aos 22 dias de idade das aves.

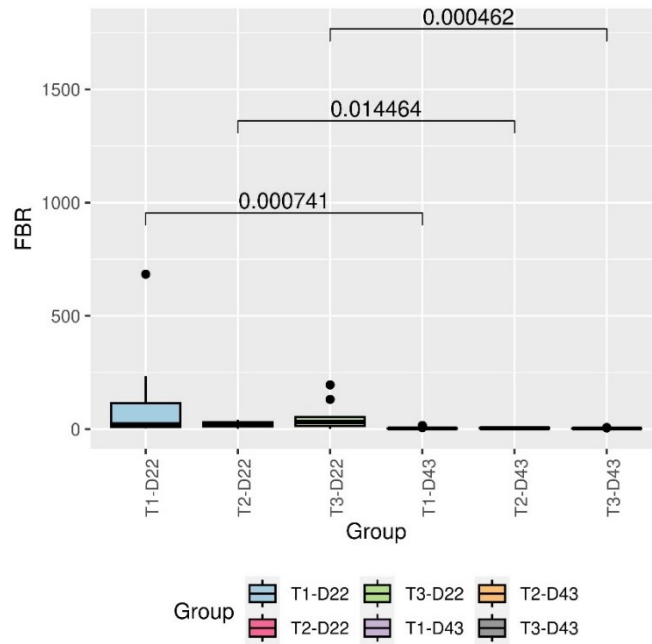


Figura 3. O gráfico de barras mostra a proporção de táxons Firmicutes e Bacteroidetes nos grupos testados. Diferenças com valor de $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

Os filós, classes, ordens, famílias, gêneros e espécies com abundâncias médias relativas acima de 2% em pelo menos um dos tratamentos testados foram apresentadas nos gráficos.

Conforme a Figura 4A os filós mais abundantes nas amostras foram Firmicutes e Bacteroidota. Já as classes mais abundantes foram Clostridia, Bacteroidia e Bacilli, de acordo com a Figura 4B.

Oscillospirales, Lachnospirales, Bacteroidales e Lactobacillales foram as ordens abundantes nas amostras, conforme mostra a Figura 4C.

As famílias mais abundantes nas amostras foram Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidaceae, Rikenellaceae, Acetivibronaceae, Oscillospiraceae, Butyrivibrionaceae, Lactobacillaceae, e Anaerotruncaceae, conforme a Figura 4D.

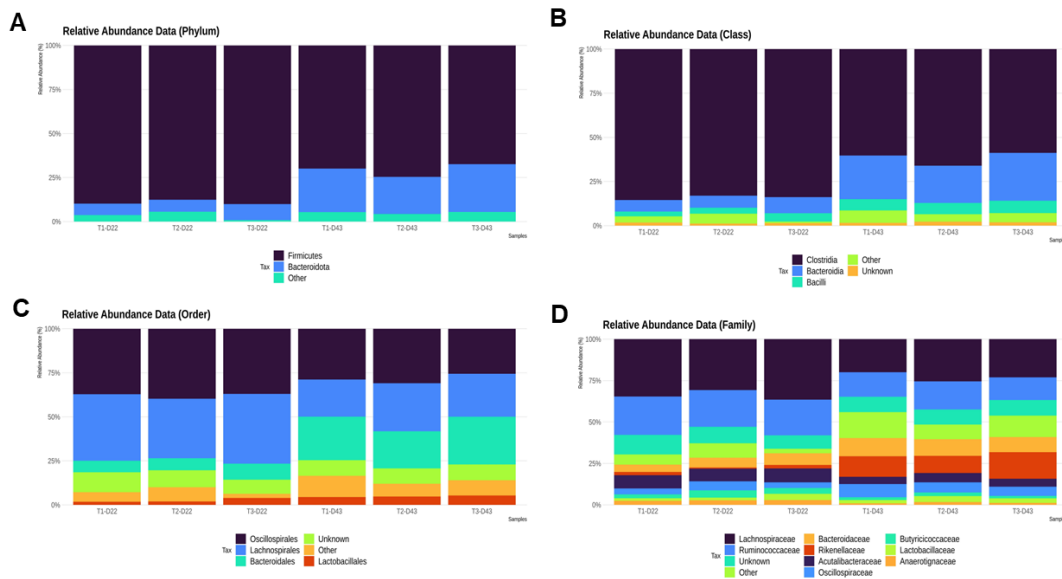


Figura 4. A) O gráfico de barras mostra a abundância de filos nos grupos testados. B) O gráfico de barras mostra a abundância de classes nos grupos testados. C) O gráfico de barras mostra a abundância de ordens nos grupos testados. D) O gráfico de barras mostra a abundância de famílias nos grupos testados. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

Gemmiger, Faecalibacterium, Prevotellamassilia, Alistipes, Mediterraneibacter, Eubacterium, Tidjanibacter, Agathobaculum, Enterocloster, Anaerotignum, Lactobacillus e Bacteroides foram os gêneros mais abundantes nas amostras, de acordo com a Figura 5A.

Já as espécies mais abundantes nas amostras foram: *Gemmiger formicilis*, *Prevotellamassilia* sp004558535, *Faecalibacterium* sp002160895, *Alistipes onderdonkii*, *Tidjanibacter inops*, *Mediterraneibacter* sp002159505, *Agathobaculum* sp900291975 e *Eubacterium* sp011958665, conforme demonstrado na Figura 5B.

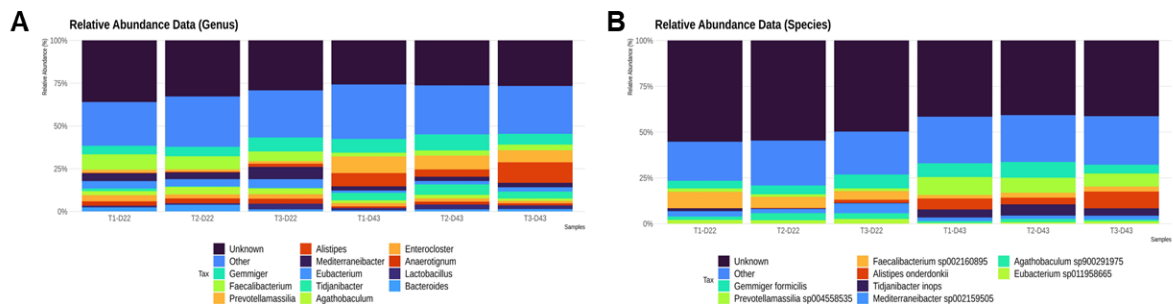


Figura 5. A) O gráfico de barras mostra a abundância relativa de gêneros nos grupos testados. B) O gráfico de barras mostra a abundância relativa das espécies nos grupos testados. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

2.3.3.4 Diferenças na abundância de táxons

Apenas os táxons com diferenças estatisticamente significativas na abundância relativa Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) foram avaliados.

Foram observadas diferenças significativas nos tratamentos CP e Hemicell nas datas de amostragem, nas famílias Acutalibacteraceae, Bacteroidaceae, Lachnospiraceae e Rikenellaceae (Figura 6A a 6C e 6E). Foi verificada diferença estatística na família Oscillospiraceae aos 22 dias de amostragem, sendo observada maior abundância no CN em relação ao tratamento Hemicell (Figura 6D). Foi observado diferença significativa na família Rikenellaceae no tratamento CN, sendo mais abundante aos 43 dias de amostragem (Figura 6E).

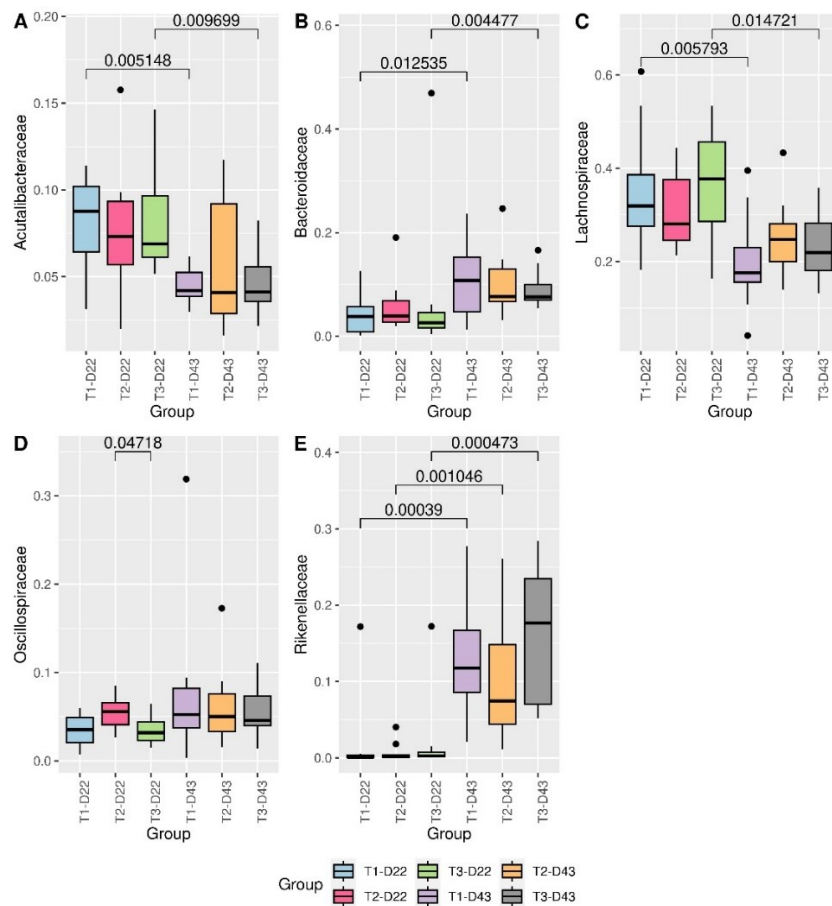


Figura 6. Abundância diferencial das famílias Acutalibacteraceae (A), Bacteroidaceae (B), Lachnospiraceae (C), Oscillospiraceae (D), e Rikenellaceae (E). A comparação estatística entre os grupos foi realizada entre por meio do teste não paramétrico Kruskal-Wallis e teste post-hoc de Dunn's. Resultados estatísticos abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças estatísticas na abundância dos gêneros *Alistipes*, *Prevotellamassilia* e *Tidjanibacter* (Figura 7A, 7E e 7F), sendo maior a abundância para os 43 dias de idade.

Também houve diferença estatística ($P < 0,05$) no tratamento CN em relação a abundância dos gêneros *Bacteroides* e *Lactobacillus* (Figura 7B e 7C), de acordo com a idade de amostragem. Deste modo, foi observada maior abundância do gênero *Bacteroides* aos 22 dias quando comparado aos 43 dias. O gênero *Lactobacillus* foi mais abundante aos 43 dias de amostragem para o tratamento com a β -mananase.

O gênero *Mediterraneibacter* apresentou maior abundância aos 22 dias de amostragem no tratamento Hemicell (Figura 7D). Além disso, o gênero *Lactobacillus* apresentou diferença significativa na abundância no tratamento CP, em que foi mais abundante aos 43 dias de amostragem em relação aos 22 dias (Figura 7C).

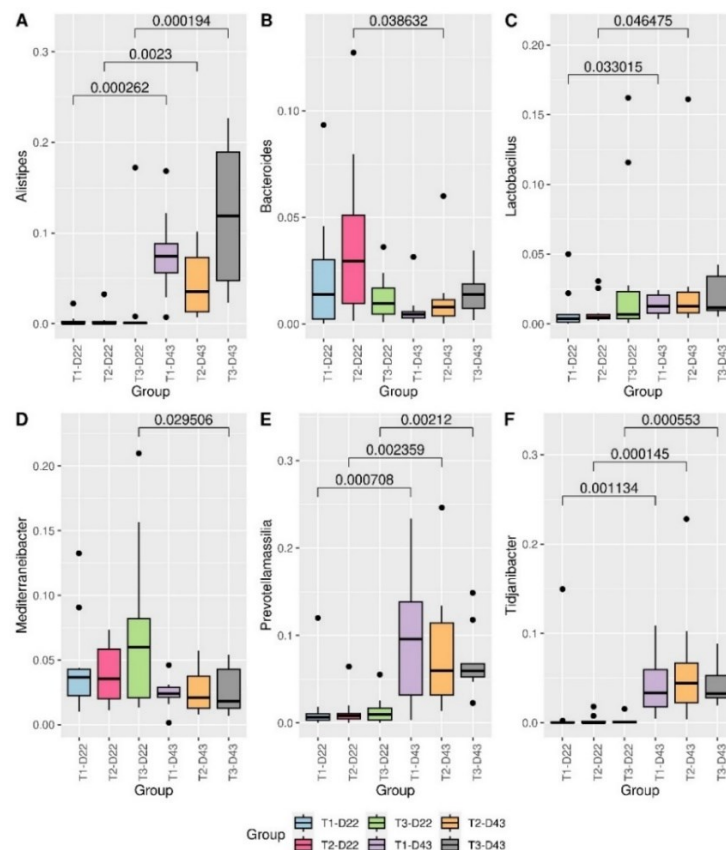


Figura 7. Abundância diferencial dos gêneros *Alistipes* (A), *Bacteroides* (B), *Lactobacillus* (C), *Mediterraneibacter* (D), *Prevotellamassilia* (E), e *Tidjanibacter* (F). Resultados estatísticos abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

A espécie *Agathobaculum sp900291975* apresentou diferença ($P < 0,05$) na abundância para o tratamento Hemicell, sendo mais abundante aos 22 dias de amostragem em relação aos 43 dias. Todos os tratamentos avaliados (CP, CN e Hemicell) apresentaram diferenças entre as datas de amostragem para as espécies *Alistipes onderdonkii*, *Prevotellamassilia sp004558535* e *Tidjanibacter inops* (Figura 8B a 8D), apresentando maior abundância aos 43 dias de amostragem.

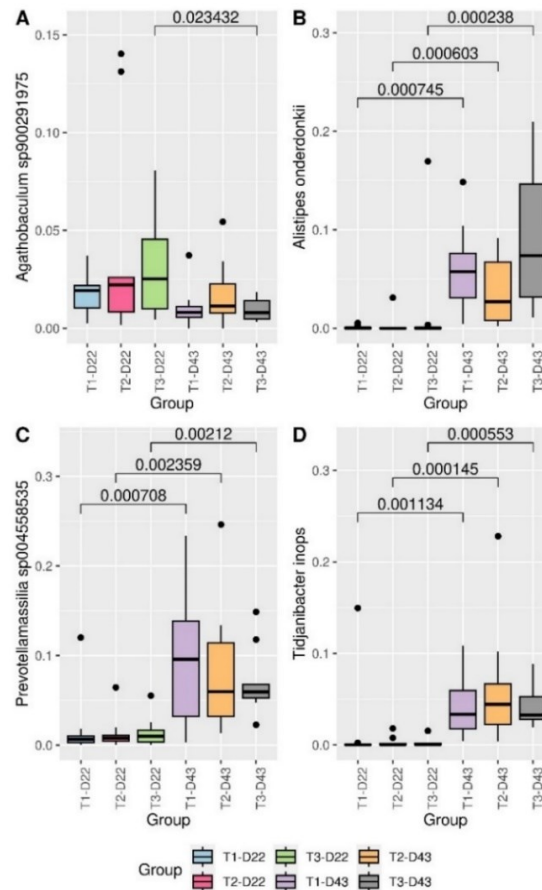


Figura 8. Abundância diferencial das espécies *Agathobaculum sp900291975* (A), *Alistipes onderdonkii* (B), *Prevotellamassilia sp004558535* (C), e *Tidjanibacter inops* (D). A comparação estatística entre os grupos foi realizada entre por meio do teste não paramétrico Kruskal-Wallis e teste post-hoc de Dunn's. Resultados estatísticos abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os tratamentos foram: T1 - controle positivo; T2 - controle negativo com redução de 36 kcal/kg de EM; T3 - controle negativo com adição de β -mananase.

2.4 Discussão

2.4.1 Parâmetros de desempenho

Neste estudo, a suplementação das dietas com β -mananase não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) para nenhuma das variáveis de desempenho

produtivo. Porém, no período de 21 a 42 dias de idade das aves, o tratamento Hemicell apresentou numericamente menor consumo de ração e melhor conversão alimentar, quando comparado ao tratamento controle. O resultado pode ser atribuído ao efeito da economia de energia devido à não ativação do sistema imunológico (Vangroenweghe, 2021) e diminuição da viscosidade da digesta, o que permite a ação de outras enzimas digestivas e conseqüentemente, uma melhora na digestibilidade (Li et al., 2010).

Adicionalmente, a dieta do grupo controle negativo foi formulada com redução de 36 kcal/kg de energia metabolizável em relação à dieta basal, esse valor foi adotado considerando o valor da matriz energética da β -mananase. Podemos afirmar que esta redução energética não foi suficiente para resultar em diferenças significativas no desempenho produtivo dos animais deste tratamento, em relação ao grupo suplementado com Hemicell.

Essa afirmação é corroborada pelos autores Yaqoob et al. (2022) e Hussein et al. (2020), que relataram que o desempenho zootécnico de frangos não é comprometido pela redução nos níveis de energia, no caso da suplementação enzimática. Outro ponto é que devido à redução mínima de energia, os animais ainda poderiam ter aumentado o consumo para compensar a redução no nível de energia (Richards e Proszkowiec-Weglarz, 2007).

Em função da ampla variação nos resultados de desempenho de aves submetidas a dietas com inclusão de β -mananase, Kipper et al. (2020) realizaram um estudo metanalítico para determinar o efeito da β -mananase. Os autores identificaram uma grande variação em termos de unidades de β -enzima contidas nos produtos comerciais utilizados. Além disso, a inclusão dietética desses produtos foi diferente entre os estudos.

Sens et al. (2020) avaliaram os efeitos da inclusão de β -mananase no desempenho zootécnico de perus de corte de 1 a 21 dias de idade. Observou-se que o consumo de ração do tratamento contendo a enzima (ração basal com redução de 150 kcal/kg de EM e adição de β -mananase na concentração de 110 mil UI por kg de ração) não diferiu estatisticamente das dietas com redução energética e sem a enzima. Quanto ao ganho de peso, o tratamento com adição da β -enzima foi

significativamente maior em comparação aos demais tratamentos. Para conversão alimentar, não foram observadas diferenças significativas entre os três tratamentos.

Zou et al. (2006) investigaram os efeitos da β -mananase no desempenho de frangos de corte alimentados com a mesma dieta basal (à base de milho e farelo de soja) e inclusão da enzima, nas concentrações de 0, 0,025, 0,05 e 0,075%. Os autores não observaram diferenças significativas no consumo médio de ração nos períodos de 0 a 3 semanas e 0 a 6 semanas de idade das aves. Porém, a adição da enzima aumentou significativamente o ganho de peso nos períodos de 4 a 6 e 0 a 6 semanas de idade das aves. A conversão alimentar dos grupos 0,025 e 0,05% foi estatisticamente melhor que a do grupo controle, nos períodos de 4 a 6 semanas e 0 a 6 semanas de idade dos animais testados.

2.4.2 Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia bruta

Para Sorbara (2008), os efeitos negativos das β -mananas são causados principalmente pelo aumento da viscosidade da digesta. Como consequência, ocorre redução da digestão, uma vez que ocorre diminuição da taxa de difusão de enzimas endógenas para substratos alimentares e de nutrientes para os locais de absorção localizados na parede intestinal. Além disso, as β -mananas desencadeiam uma resposta imunitária dispendiosa para o metabolismo animal. Mesmo que em pequenas quantidades, a passagem desses PNAs pela luz intestinal provoca um poderoso estímulo do sistema imune inato na mucosa, resultando na proliferação de monócitos e macrófagos, e maior produção de citocinas (Johnson e Gee, 1986; Ross et al., 2002).

A falta de enzimas apropriadas para a hidrólise de PNA's em animais não ruminantes justifica a inclusão da enzima β -mananase nas dietas. A β -enzima é responsável pela despolimerização aleatória de ligações β -1,4-manana na cadeia principal de polímeros de manana, como mananas, galactomananas e galactoglucomananas (Stalbrand et al., 1993; Vries e Visser, 2001). A sua ação garante uma rápida diminuição da viscosidade, permitindo a ação de outras enzimas.

Nesse sentido, avaliamos o efeito da enzima na digestibilidade da proteína bruta e da energia. Observou-se que aos 43 dias de idade das aves o tratamento controle apresentou maiores valores para o coeficiente de digestibilidade aparente da

proteína bruta em relação aos animais alimentados com as dietas controle negativo e Hemicell, porém o tratamento suplementado com a enzima proporcionou valores semelhantes aos outros grupos.

Ferreira et al. (2016) também avaliou o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta em frangos de corte com 42 dias de idade e observou aumento do coeficiente pela adição de β -mananase. Do mesmo modo, Mussini et al. (2011), em estudo com níveis de inclusão de β -mananase (0, 0,025, 0,050 e 0,1%) em rações para frangos de corte, alimentados com dieta à base de milho e farelo de soja, observaram aumento linear nos coeficientes de digestibilidade aparente dos aminoácidos lisina, metionina, treonina, triptofano, arginina, leucina, isoleucina, cistina e valina, pois os níveis de inclusão enzimática foram aumentados. Portanto, sugere-se que o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta apresente o mesmo comportamento de aumento linear.

No presente estudo, a avaliação da energia digestível aparente mostrou que aos 22 dias de idade das aves, as dietas basal e hipocalórica sem adição de enzimas apresentaram menor energia digestível em comparação às aves do grupo suplementado. Isto indica um aumento na energia digestível aparente disponível devido à ação enzimática da β -mananase nos substratos dietéticos fornecedores de energia.

2.4.3 Morfometria intestinal

O número e o tamanho das vilosidades são proporcionais ao número de células que as compõem. Assim, as vilosidades longas possuem maior número de células e, conseqüentemente, uma maior área para absorção de nutrientes (Macari e Maiorka, 2000). Em geral, maior altura dos vilos e relação vilo/cripta estão associadas a uma boa diferenciação da mucosa intestinal (Jeurissen et al., 2002). E criptas mais rasas indicam melhor saúde intestinal (Viola e Vieira, 2007).

A partir dos achados em nosso estudo, pode-se concluir que a suplementação da enzima β -mananase alterou a morfologia de diferentes partes do trato digestivo. Nesse sentido, os resultados da morfometria do segmento duodenal indicam que as aves que receberam dietas contendo a enzima apresentaram criptas mais rasas e maior relação vilosidade/cripta quando comparadas aos demais tratamentos.

Ao contrário do ensaio conduzido por Sens et al. (2020), em que as aves que receberam dietas com energia reduzida e contendo a enzima não diferiram significativamente em profundidade de cripta em relação ao grupo que consumiu a dieta basal.

Adicionalmente, a morfometria do jejuno revela que as aves do grupo controle apresentaram melhores parâmetros morfométricos, ou seja, maior altura de vilo, menor profundidade de cripta e maior relação vilo/cripta em comparação aos tratamentos controle negativo e Hemicell.

Em contraste, Yaqoob et al. (2022) apontam que a morfologia do jejuno melhorou significativamente com o nível mais alto de suplementação de β -mananase. A altura das vilosidades e a relação entre altura das vilosidades e profundidade das criptas no tratamento com redução de 90 kcal/kg de EM e inclusão de 600 mg/kg de β -mananase foram estatisticamente maiores do que no grupo que recebeu a dieta basal. Tal aumento, pode estar relacionado ao fato da enzima β -mananase hidrolisar as β -mananas do farelo de soja em mananoligossacarídeos (Huang et al., 2003), agentes tróficos que podem estimular o desenvolvimento da mucosa do intestino, acelerando o processo mitótico na região cripta-vilosidade, aumentando assim o número de células e o tamanho das vilosidades (Maiorka et al., 2002).

2.4.4 Microbioma cecal

O intestino das aves geralmente é colonizado por microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos (Feitosa et al., 2020). A variedade da microbiota não está totalmente padronizada, fatores como dieta, manejo, clima, meio ambiente, raça, idade e genética afetam esse aspecto (Xiao et al., 2017).

A diversidade da microbiota é crucial para modular a funcionalidade do intestino, além de ser essencial para o metabolismo e utilização de nutrientes.

2.4.4.1 Diversidade alfa

A diversidade alfa retrata uma sinopse da diversidade em uma única população e, a partir disso, são feitas inferências básicas sobre os mecanismos e funcionalidades do microbioma (Lozupone; Knight, 2007). A riqueza da diversidade refere-se ao número de unidades taxonômicas operacionais (OTU's) raras presentes nas

amostras. Portanto, quanto maior o índice, maior o número de OTU's raras. O índice de diversidade é calculado considerando a abundância e o número de OTU's presentes em um fragmento. Além disso, o aumento do índice de Shannon diz respeito ao aumento da riqueza e equabilidade de espécies e, portanto, da diversidade (Derami, 2019).

A análise de diversidade alfa (Figura 1) no presente estudo demonstrou uma diferença significativa entre tratamentos aos 22 dias de idade das aves. O tratamento com redução energética sem adição da enzima β -mananase apresentou maior riqueza e diversidade de espécies bacterianas, quando comparado ao grupo de animais suplementados com a β -enzima. Os autores Blaut e Clavel (2007) identificaram que maior riqueza está ligada a uma boa saúde, mas a redução na riqueza e diversidade de espécies pode estar diretamente relacionada a patologias. Entretanto, a mesma análise realizada aos 43 dias de idade revelou que o tratamento Hemicell apresentou aumento na riqueza e diversidade da microbiota intestinal.

2.4.4.2 Diversidade beta

A diversidade beta é usada ao comparar o microbioma, para determinar o número de OTUs ou táxons compartilhados, entendendo assim como as ações das espécies microbianas variam entre numerosos microbiomas. Um índice de dissimilaridade é fornecido como resposta (Martiny et al., 2011). Além disso, as interpretações da derivação da diversidade beta podem ser quantitativas (UniFrac ponderado) ou qualitativas (UniFrac não ponderado) (Lozupone e Knight, 2007).

Nossos resultados (Figura 2) mostram dissimilaridade nos táxons presentes em todos os tratamentos, com o aumento da idade dos animais. Além disso, aos 22 dias de idade das aves, os táxons da microbiota dos tratamentos CN e Hemicell diferiram entre si, utilizando o parâmetro Unifrac.

2.4.4.3 Composição da comunidade bacteriana

A composição do microbioma intestinal sofre alterações ao longo da vida do animal devido a alterações na densidade celular e na função metabólica (Shang et al., 2018). Nesse sentido, observamos nas figuras 4 e 5 a mudança no padrão de

dispersão de cada uma das categorias hierárquicas dos táxons de acordo com a idade das aves: 22 e 43 dias.

Os filos mais abundantes nas amostras foram Firmicutes e Bacteroidota. Ewers et al. (2007) apontam que microrganismos do filo Firmicutes são responsáveis por criar um ambiente hostil para a colonização de bactérias intestinais patogênicas. Segundo Lunedo et al. (2017), aves com melhor conversão alimentar e melhor desempenho produtivo, apresentam maior abundância de bactérias do filo Firmicutes, entretanto, o filo Bacteroidota é mais encontrado em animais ineficientes no aproveitamento de nutrientes e deposição de tecidos. No entanto, a frequência de Firmicutes tende a diminuir com a idade das aves (Shaufi et al., 2015; Ranjitkar et al., 2016; Bortoluzzi et al., 2019), o que de fato observamos neste estudo.

A relação Firmicutes/Bacteroidota (F/B) tem sido utilizada como evidência para determinar a eficiência de um animal em aproveitar nutrientes da dieta. Portanto, uma alta relação promove o crescimento de frangos de corte (Singh et al., 2013; Salaheen et al., 2017; Hong et al., 2019). Neste estudo, verificamos que todos os tratamentos apresentaram maiores valores de F/B aos 22 dias de idade das aves, quando comparados aos 43 dias.

Além disso, as classes mais abundantes no ceco foram Clostridia, Bacteroidia e Bacilli, conforme mostrado na Figura 4B. O padrão de dispersão das classes muda aos 43 dias de idade das aves, a presença de Bacteroidia torna-se mais evidente nos grupos controle positivo e Hemicell. Os bacteroides são microrganismos comensais, crescem em condições anaeróbias e garantem o funcionamento intestinal normal, além de contribuírem para a estimulação imunológica e em alguns casos, tornam-se oportunistas e causam toxicidade ao organismo (Garcia et al., 2012).

Bacteroides são descritos por Borda-Molina et al. (2018) como um grupo com alta conversão alimentar. Segundo os autores, a microbiota intestinal das aves torna-se exigente em relação à dieta fornecida e com isso podem sucumbir ou desenvolver-se em proporções mais significativas, portanto, dietas ricas em fósforo estimulam o crescimento de bactérias da família Bacteroidaceae (Tilocca et al., 2020). O que pode

2.4.4.4 Diferenças na abundância de táxons

De acordo com Van Der Wielen et al. (2002), a composição taxonômica apresenta tendência à mudança contínua, em que aves mais velhas apresentam maior abundância de microrganismos e taxonomia variada. Observadas em conjunto, parte das modulações de células intestinais que ocorrem nas aves são resultados de famílias, gêneros e espécies que desempenham papel crucial na homeostase do trato gastrointestinal.

Neste sentido, a abundância das famílias Acutalibacteraceae, Bacteroidaceae, Lachnospiraceae e Rikenellaceae foram estatisticamente diferentes nos tratamentos controle positivo e Hemicell entre as datas de coleta, obtendo valores maiores nas aves mais jovens. A família Lachnospiraceae, pertencente ao filo Firmicutes, tem a função de fermentar no ceco polissacarídeos não digeríveis, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, que auxiliam no crescimento de células epiteliais que produzem butirato, um potente metabólito anti-inflamatório (Richards et al., 2019; Antonissen et al., 2016).

Aos 22 dias de idade das aves, a família Oscillospiraceae apresentou maior abundância no tratamento CN, quando comparado ao tratamento suplementado com a β -enzima. Esta família pertence ao filo Firmicutes, à classe Clostridia, ordem Clostridiales.

Todos os tratamentos diferiram entre si, nas datas de amostragem para os gêneros *Alistipes*, *Prevotellamassilia* e *Tidjanibacter*, no qual se tornaram abundantes aos 43 dias de idade das aves. O gênero *Alistipes* é conhecido por possuir propriedades anti-inflamatórias (Jiang et al., 2015). O gênero *Prevotella*, por sua vez, faz parte do filo Bacteroidota, e desempenha papel fundamental no metabolismo de carboidratos, como transformação de polissacarídeos, degradação de carboidratos não digeríveis e utilização de oligossacarídeos, incluindo participação na modulação do sistema imunológico, síndromes metabólicas e regulação do eixo cérebro-intestino (Stanley et al., 2015; Zhang et al., 2015; Zhang et al., 2019).

Também houve diferenças entre o grupo CN entre 22 e 43 dias de idade, nos gêneros *Bacteroides* e *Lactobacillus*. Na porção inferior do intestino delgado, *Lactobacillus* spp. foram citados como um fator causal no mau desempenho (De

Lange et al., 2010), sugerindo que a localização no trato gastrointestinal pode afetar o desempenho.

2.5 Conclusão

As β -mananas estão presentes em uma ampla variedade de alimentos vegetais utilizados na nutrição animal e são descritas como um dos principais fatores anti-nutricionais para animais não ruminantes, como as aves. As β -mananas são resistentes aos processos químicos e físicos comumente utilizados, neste sentido, a suplementação dietética de β -enzima exógena é uma boa alternativa para que os efeitos adversos associados aos polissacarídeos não amiláceos sejam evitados.

Embora os resultados da inclusão da β -mananase sobre o desempenho e a digestibilidade sejam variáveis na literatura, os efeitos na saúde intestinal são indiscutíveis. Ao adicioná-la nas dietas, deve-se levar em consideração o nível de inclusão indicado pelo fabricante, fonte de β -mananas na dieta e a necessidade de estratégias nutricionais dependendo do preço dos ingredientes.

Com base nos critérios avaliados neste estudo, concluímos que a suplementação de β -mananase em dietas para frangos pode ser utilizada como uma estratégia nutricional em granjas avícolas, em que é possível se obter bons resultados na morfometria intestinal, perfil de microbiota intestinal e melhores coeficientes de digestibilidade de proteína bruta e energia digestível.

2.6 Referências bibliográficas

Anderson, D. M.; Hsiao, H. Y.; Dale, N. M. Identification of an inflammatory compound for chicks in soybean meal - II. **Poultry Science**, v. 88, 2008.

Antonissen, G.; Eeckhaut, V.; Van Driessche, K.; Onrust, L.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R.; Moore, R. J.; Van-immersseel, F. Microbial shifts associated with necrotic enteritis. **Avian Pathology**, v. 45, p. 308-312, 2016. DOI: 10.1080/03079457.2016.1152625

Arsenault, R. J.; Lee, J. T.; Latham, R.; Carter, B.; Kogut, M. H. 2017. Changes in immune and metabolic gut response in broilers feed b-mannanase in b-mannan-containing diets. **Poultry Science**, v. 96, p. 4307-4316, 2017.

Aviagen. *Ross Broiler Pocket Guide: The Pocket Guide*. Aviagen, Huntsville, Alabama, USA, 2018.

Barros, V. R. S. M. Utilização de β -mananase e mananoligossacarídeo em rações de frangos de corte. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, p. 73. 2012.

Blaut, M.; Clavel, T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. **The Journal of Nutrition**, v. 137, 751S-5S, 2007. DOI: 10.1093/jn/137.3.751S

Borda-Molina, D.; Seifert, J.; Camarinha-silva, A. Current Perspectives of the Chicken Gastrointestinal Tract, and Its Microbiome. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 16, p. 131-139, 2018. DOI: 10.1016/j.csbj.2018.03.002

Bortoluzzi, C.; Scapini, L. B.; Ribeiro, M. V.; Pivetta, M. R.; Buzim, R.; Fernandes, J. I. M. Efeitos da suplementação de β - mananase na composição da microbiota intestinal de frangos de corte desafiados com vacina contra coccidiose. **Mais vivo Ciência**, v. 228, p. 187-194, 2019. DOI: 10.1016/j.livsci.2019.09.001

Caporaso, J. G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J.; Bittinger, K.; Bushman, F. D.; Costello, E. K.; Fierer, N.; Peña, A. G.; Goodrich, J. K.; Gordon, J. I. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, v. 7, p. 335-336, 2010. DOI:10.1038/nmeth.f.303.

Dale, N. M.; Anderson, D. M.; Hsiao, H.Y. Identification of an inflammatory compound for chicks in soybean meal. **Poultry Science**, v. 87(Suppl. 1), p. 153 (Abstr.), 2008.

Daskiran, M.; Teeter, R.G.; Fodge, D.; Hsiao, H.Y. An evaluation of endo- β -mannanase (Hemicell) effects on broiler performance and energy use in diets carrying in β -mannan content. **Poultry Science**, v. 83, p. 662-668, 2004.

Degnan, P. H.; Ochman, H. Illumina-based analysis of microbial community diversity. **The ISME Journal**, v. 6, p. 183-194, 2012. DOI: 10.1038/ismej.2011.74

De Lange, C. F. M.; Pluske, J.; Gong, J.; Nyachoti, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in Young pigs. **Livestock Science**, v. 134, i. 1-3, p. 124-134, 2010. DOI:10.1016/j.livsci.2010.060117.

Derami, M. S. Comparação entre o microbioma do trato respiratório de aves saudáveis e aves diagnosticadas com colibacilose. Universidade Estadual de Campinas. Campinas - SP, 2019.

De Vries, R. P.; Visser, J. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. **Microbiology and molecular Biology Reviews**, v. 65, p. 497-522, 2001.

Dunn, O. J. Multiple Comparisons Using Rank Sums. **Technometrics**, v. 6, p. 241-252, 1964. DOI:/10.1080/00401706.1964.10490181

Ewers, C. et al. Avian pathogenic, uropathogenic and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? **International Journal of Medical Microbiology**, v. 297, n. 3, p. 163-176, 2007.

Feitosa, T. J. O.; et al. Microbiota intestinal das aves de produção: revisão bibliográfica. **Research Society and Development**, v. 9, 2020.

Ferreira, H. C.; Hannas, M. I.; Albino, L. F. T.; Rostagno, H. S.; Neme, R.; Faria, B. D.; Xavier, M. L.; Renno, L. N. Effect of the addition of β -mannanase on the performance, metabolizable energy, amino acid digestibility coefficients, and immune functions of broilers fed different nutritional levels. **Poultry Science**, v. 95, p. 1848-1857, 2016.

Garcia, G. D., Carvalho, M. A. R., Diniz, C. G., Marques, J. L., Nicoli, J. R., & Farias, L. M. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group strains recovered from broiler faeces. **British Poultry Science**, v. 53, p. 71-76, 2012. DOI: 0.1016/j.vetmic.2014.04.019

Gava, M. S. Metodologia de morfometria intestinal em frango de corte. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 61. 2012.

Hong, Y.; Cheng, Y.; Li, Y.; Li, X.; Zhou, Z.; Shi, D.; Li, Z.; Xiao, Y. Preliminary Study on the Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* TL on Cecal Bacterial Community Structure of Broiler Chickens. **Biomed Research International**, p. 1-11, 2019. DOI: 10.1155/2019/5431354.

Huang, X. W.; Liu, X. S.; Xu, F. Q. The effect of β -mannanase on growth performance of growing pigs. **Feed Research**, p. 29-31, 2003.

Hussein, E. O. S.; Suliman, G. M.; Alowaimer, A. N.; Ahmed, S. H.; Abd El-Hack, M. E.; Taha, A.E.; Swelum, A. A. Growth, carcass characteristics, and meat quality of broilers fed a low-energy diet supplemented with a multienzyme preparation. **Poultry Science**, v. 99, 1988-1994, 2020.

Hsiao, H. Y.; Anderson, D. M.; Dale, N.M. Levels of β -mannan in soybean meal. **Poultry Science**, v. 85, p. 1430-1432, 2006.

Jackson, M.; Anderson, D.; Hsiao, H. Y.; Mathis, G.; Fodge, D. 2003. Beneficial effect of b-mannanase feed enzyme on performance of chicks challenged with *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens*. **Avian Diseases**, v. 47, p. 759-763, 2003.

Jeurissen, S. H. M.; Lewis, F.; Klis, J. D. V.; Mroz, Z.; Rebel, J. M. J; Hurne, A. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity and Functionality. **Current Issues of Intestinal Microbiology**, v. 3, p. 1-14, 2002.

Jiang, H.; Ling, Z.; Zhang, Y.; Mao, H.; Ma, Z.; Yin, Y.; Wang, W.; Tang, W.; Tan, Z.; Shi, J.; Li, L.; Ruan, B. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 48, p. 186-194, 2015. DOI: 10.1016/j.bbi.2015.03.016

Johnson, I. T.; Gee, J. M. Gastrointestinal adaptation in response to soluble non-available polysaccharides in the rat. **British Journal of Nutrition**, v. 55, p. 497-505, 1986.

Kiarie, E. G.; Steelman, S.; Martinez, M.; Livingston, K. Significance of single b-mannanase supplementation on performance and energy utilization in broiler chickens, laying hens, turkeys, sows, and nurseryfinish pigs: a meta-analysis and systematic review. **Translational Animal Science**, v. 5, p.1-21, 2021.

Kipper, M. et al. Performance responses of broilers and pigs fed diets with b-mannanase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, p. e20180177, 2020.

Kruskal, W. H.; Wallis, W. A. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, p. 583-621, 1952. DOI: 10.1080/01621459.1952.10483441

Kocher, A.; Choct, M.; Ross, G.; Broz, J.; Chung, T. K. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal-based diets in broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v. 12, p. 275-283, 2003. DOI: 10.1093/japr/12.3.275

Kong, C.; Lee, J.H. Beta-mannanase to starter and grower diets for broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p. 389-397, 2011.

Li, Y.; Chen, X.; Chen, Y, LI, Z.; Cao, Y. Effects β -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, p. 59-67, 2010.

Lozupone CA, Knight R. Global patterns in bacterial diversity. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v. 104, p.11436-11440, 2007. DOI: 10.1073/pnas.0611525104

Luna, L. G. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3. ed. Nova York: McGraw-Hill, 1968.

Lunedo, R.; Pedroso, A.A. Microbiota intestinal. In: Macari, M.; Maiorka, A. Fisiologia das aves comerciais. (Cap. 29) Jaboticabal-SP: Funep/Fapesp/Facta, 2017.

Macari, M.; Maiorka, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2., 2000. Anais. Campinas: Facta, 2000, pp. 161-174.

Maiorka, A.; Boleli, I. C.; Macari, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari, M.; Furlan, R. L.; Gonzales, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, cap. 1, p. 1-17, 2002.

McMurdie, P. J.; Holmes, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS One**, v. 8, p. 612-617, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0061217

Martiny, J. B. H.; Eisen, J. A.; Penn, K.; Allison, S. D.; Horner-Devine, M. C. Drivers of bacterial beta-diversity depend on spatial scale. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v. 108, p. 7850-7854, 2011. DOI: 10.1073/pnas.1016308108

Meng, X.; Slominski, B. A.; Nyachoti, C. M.; Campbell, L. D.; Guenter, W. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. **Poultry Science**, v. 84, p. 37-47, 2005.

Mussini, F. J.; Coto, C. A.; Goodgame, S. D.; Lu, C.; Karimi, A. J.; Lee, J. H. Waldroup, P. W. Effect of a b-mananase on nutrient digestibility in Corn-Soybean meal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, v. 10, p. 774-777, 2011.

Oksanen, J.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'hara, B.; Stevens, M. H. H.; Oksanen, M.J.; Suggests, M. The vegan package. **Communications Ecology**, v. 10, p. 719, 2007.

Olmeda-Geniec, N.; Alemi, F.; Klasing, K. Effect of Hemicell HT enzyme on the immune system of chickens and their performance. South. **Poultry Science** - Socit. Meet., 2015.

Richards, M. P.; Proszkowiec-Weglarz, M. Mechanisms regulating feed intake, energy expenditure, and body weight in poultry. **Poultry Science**, v. 86(7), p. 1478-1490, 2007. DOI:10.1093/ps/86.7.1478

Richards, P.; Fothergill, J.; Bernardeau, M.; Wigley, P. Development of the Caecal Microbiota in Three Broiler Breeds. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 2019. DOI: 10.3389/fvets.2019.00201

Ross, S. A. et al. Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 50, p. 5683-5685, 2002.

Rostagno, H. S. et al. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. Universidade Federal de Viçosa, 4ª ed., p. 488, 2017.

Sorbara, J. O. B. Carboidrases em programas enzimáticos de rações para frangos de corte. 2008. 68f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2008.

Sakomura, N. K.; Rostagno, H. S. Métodos de pesquisa em Nutrição de Monogástrico. Jaboticabal: FUNEP, 2ª ed., p. 20. 2016.

Salaheen, S.; Kim, S. W.; Haley, B. J.; Van Kessel, J. A. S.; Biswas, D. Alternative Growth Promoters Modulate Broiler Gut Microbiome and Enhance Body Weight Gain. **Frontiers in Microbiology**, v. 26, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02088

Scapini, L. A.; Cristo, A. B.; Schmidt, J. M.; Buzim, R.; Nogueira, L. K.; Palma, C.; Fernandes, J. I. M. Effect of b-mannanase supplementation in conventional diets on the performance, immune competence and intestinal quality of broilers challenged with *Eimeria* sp. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, p. 1048-1057, 2019.

Shang, Y. et al. Chicken Gut Microbiota: Importance and Detection Technology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. 23, 2018.

Shaufi, M. A. M; Sieo, C. C.; Chong, C. W.; Gan, H. M.; Ho, Y.W. Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses. **Gut Pathogens**, v. 26, n. 7:4, 2015. DOI: 10.1186/s13099-015-0051-7

Stalbrand, H.; Siika-aho, M.; Viikari, L. Purification and characterization of two beta-mannanases from *Trichoderma reesei*. **Jornal Biotechnology**, v. 29, p. 229-242, 1993.

Stanley, D.; Geier, MS; Chen, H.; Hugo, RJ; Moore, R. J. Comparison of fecal and cecal microbiota reveals qualitative similarities but quantitative differences. **Microbiologia BMC**, v. 15, n. 51, 2015. DOI:10.1186/s12866-015-0388-6.

Sens, R. F.; Almeida, L. M.; Bassi, L. S.; Panisson, J. C; Maiorca, A.; Oliveira, S. G. Effects of the enzyme β -mannanase on the intestinal morphology and performance of 21 days old turkeys. **Archives of Veterinary Science**, v. 25, n. 2, p. 71-78, 2020.

Singh, P.; Karimi, A.; Devendra, K.; Waldroup, P. W.; Cho, K. K.; Kwon, Y. M. Influence of penicillin on the microbial diversity of the cecal microbiota in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 92, p. 272-276, 2013. DOI: 10.3382/ps.2012-02603

Tilocca, B.; Cao, A.; Migheli, Q. Scent of a killer: Microbial Volatilome and its role in the biological control of plant pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00041

Van der Wielen, P. W. J. J.; Keuzenkamp, D. A.; Lipman, L. J. A. et al. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. **Microbial Ecology**, v. 44, n. 3, p. 286-293, 2002.

Vangroenweghe, F.; Poulsen, K.; Thas, O. Supplementation of a β -mannanase enzyme reduces post-weaning diarrhea and antibiotic use in piglets on an alternative diet with additional soybean meal. **Porcine Health Management**, v. 7, p. 1-12, 2021. DOI: 10.1186/s40813-021-00191-5

Viola, E.S.; Vieira, S.L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p.1097-1104, 2007.

Worthley, D. L.; Bardy, P. G.; Mullighan, C. G. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. **Internal Medicine Journal**, v. 35, p. 548-555, 2005.

Xiao, Y.; Xiang, Y.; Zhou, W.; Chen, J.; Li, K.; Yang, H. Microbial Community mapping in intestinal tract of broiler Chicken. **Poultry Science**, v. 96, i. 5, p. 1387-1393, 2017. DOI: 10.3382/ps/pew372

Yamada, K.; Tokunaga, Y.; Ikeda, A.; Ohkura, K.I.; Kaku-Ohkura, S.; Mamiya, S.; Lim, B. O.; Tachibana, H. 2003. Effect of dietary fiber on the lipid metabolism and immune function of aged Sprague-Dawley rats. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 67, p. 429-433, 2003.

Yaqoob, M.U.; Yousaf, M.; Khan, M.I.; Wang, M. Effect of β -Mannanase Supplementation on Growth Performance, Ileal Digestibility, Carcass Traits, Intestinal Morphology, and Meat Quality in Broilers Fed Low-ME Diets. **Animals (Basel)**, v. 12, n. 9, 2022. DOI: 10.3390/ani12091126

Yilmaz, P.; Parfrey, L.W.; Yarza, P.; Gerken, J.; Priesse, E.; Quast, C.; Schweer, T.; Peplies, J.; Ludwig, W.; Glöckner, F.O. The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. **Nucleic Acids Research**, v. 42, p. 643-648, 2014. DOI: 10.1093/nar/gkt1209

Zangiabadi, H.; Torki, M. The effect of β -mannanase-based enzyme on growth performance and humoral immune response of broiler chickens fed diets containing graded levels of whole dates. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, p.1209-1217, 2010.

Zou, X. T.; Qiao, X. J.; Xu, Z. R. Effect of β -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. **Poultry Science**, v.85, p.2176-2179, 2006.

CAPÍTULO 3 - IMPLICAÇÕES

A nutrição representa a maior fração dos custos de produção de frango de corte. Sendo assim, são crescentes os estudos para determinar o melhor aproveitamento dos ingredientes das dietas e reduzir o impacto dos fatores anti-nutricionais associados a eles.

As rações disponíveis nas indústrias, tem como objetivo fornecer um alimento que atenda as exigências nutricionais, com um baixo custo e alto rendimento. A maioria dos fatores anti-nutricionais não apresentam efeitos tóxicos aos animais e por esse motivo, parte dos nutricionistas negligenciam a presença destes compostos e seus efeitos sobre a saúde intestinal das aves, o que acaba por causar uma queda no desempenho, lesões no trato gastrintestinal e alterações do equilíbrio do microbioma intestinal.

Além disso, a qualidade dos ingredientes que são adicionados às dietas é de fundamental importância na manutenção da integridade e saúde intestinal. O epitélio intestinal deve ser íntegro para que haja absorção ideal de nutrientes, os quais garantirão o sucesso no desempenho das aves.

Neste sentido, apontamos a importância do emprego de biotecnologias para melhor eficiência no aproveitamento dos ingredientes. O farelo de soja, usado como fonte proteica nas dietas de aves, apresenta grande variação na qualidade, principalmente quanto ao tipo e nível de fibra presentes na matéria-prima. Maiores teores de casca nos farelos de soja resultando em maiores níveis de polissacarídeos não amiláceos, como as β -mananas.

A enzima β -mananase age estimulando a quebra dos β -mananos, responsáveis por aumentarem a viscosidade da digesta dificultando assim a digestibilidade e absorção dos nutrientes. Este aditivo nutricional demonstra eficiência na saúde intestinal das aves. Salienta-se que através do presente estudo, foi possível comprovar a eficácia da suplementação de β -mananase para os parâmetros avaliados.