

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**USO DE CARBOIDRASES EM DIETAS À BASE DE MILHO E
FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

GUILHERME AGUIAR MATEUS PASQUALI

Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia
como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em
Zootecnia

Botucatu – SP
Maio / 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**USO DE CARBOIDRASES EM DIETAS À BASE DE MILHO E
FARELO DE SOJA PARA FRANGOS DE CORTE**

GUILHERME AGUIAR MATEUS PASQUALI
Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Antonio
Celso Pezzato

Tese apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Zootecnia
como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em
Zootecnia.

Botucatu – SP
Maio / 2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pasquali, Guilherme Aguiar Mateus.

Uso de carboidratos em dietas à base de milho e farelo
de soja para frangos de corte / Guilherme Aguiar Mateus
Pasquali. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Antonio Celso Pezzato
Coorientador: José Roberto Sartori
Capes: 50403001

1. Enzimas. 2. Polissacarídeos. 3. Xilanases. 4.
Celulase.

Palavras-chave: enzimas que degradam PNAs; glucanase;
xilanase.

BIOGRAFIA

Guilherme Aguiar Mateus Pasquali, filho de Ana Cecília Aguiar Mateus e Eugênio Carlos Palma Pasquali, nascido em 16/11/1988, em Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

Em junho de 2012, obteve o título de Zootecnista pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Dracena.

Em julho de 2014, concluiu o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, com ênfase em Nutrição e Produção Animal, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu.

Em agosto de 2015, iniciou o curso de doutorado em Zootecnia, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, com ênfase em Nutrição e Produção Animal, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu.

Não é que a fé mova montanhas, nem que todas as estrelas estejam ao alcance. Para as coisas que não podem ser mudadas resta-nos somente paciência, porém, preferir a derrota prévia à dúvida da vitória é desperdiçar a oportunidade de merecer. Para os erros há perdão; para os fracassos, chance, para os amores impossíveis, tempo. Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode, que o medo impeça de tentar. Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando porque, embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu.

Sarah Westphal

Ao meu avô, Ênio Pasquali (*in memorian*), o grande mentor e inspirador de todos os meus anseios, e que amparou as minhas primeiras caminhadas.

DEDICO

Aos meus pais, pela criação, educação, apoio e pela grande contribuição na formação do meu caráter.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, e ao meu coorientador Prof. Dr. José Roberto Sartori, pelos ensinamentos e pela oportunidade oferecidos para a execução desta importante etapa da minha vida profissional.

À toda equipe do Laboratório de Nutrição de Aves, pelo auxílio no desenvolvimento dos experimentos. Um muitíssimo obrigado a todos os pós-graduandos, estagiários e ex-estagiários que participaram da execução dos experimentos ou das análises realizadas.

Aos orientadores do meu doutorado sanduíche, Dr. Ramon Malheiros e Dr. Peter Ferket, pela excelente recepção, disponibilidade, auxílio e paciência durante minha participação como aluno de intercâmbio na *North Carolina State University*.

Aos meus pais e a minha família, pelo apoio e contribuição na formação do meu caráter e minha índole.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ, Ellen, Cláudia e Seila, pela disponibilidade e auxílio em todos os momentos necessários.

A todos os funcionários da FMVZ, que sempre, de alguma forma, me auxiliaram, seja na execução dos experimentos, produção de rações experimentais, nas análises realizadas ou em questões burocráticas.

À BRFEED[®], pelo fornecimento de alguns dos produtos utilizados nas rações experimentais.

À Profa. Zaghete, e aos seus alunos Rafael Ciola e Guilhermina, da UNESP de Araraquara, pela disponibilidade e por todo auxílio prestado durante as análises de viscosidade.

Ao Prof. Daniel Emygdio de Faria Filho por disponibilizar a câmera termográfica utilizada nas análises de termografia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo nº 2015/26623-0), pela concessão da bolsa de estudos para a realização do curso de doutorado.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), concedida para a realização do intercâmbio na *North Carolina State University*, EUA.

Aos animais utilizados nos experimentos, fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa e da ciência, sempre voltadas à melhoria e ao aprimoramento da qualidade de produção da proteína animal.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1.1 Polissacarídeos não amiláceos (PNAs)	5
1.2 Carboidratos.....	9
1.3 Uso de xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e soja	16
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO II	27
INCLUSÃO DE DIFERENTES PRODUTOS ENZIMÁTICOS COMPOSTOS POR XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS À BASE DE MILHO COM NÍVEIS VARIÁVEIS DE ENERGIA PARA FRANGOS DE CORTE.....	28
Resumo.....	28
Introdução	29
Material e Métodos	29
Resultados e Discussão	34
Referências.....	46
CAPÍTULO III.....	51
EFEITOS DO USO DE XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS À BASE DE MILHO PARA FRANGOS DE CORTE SOBRE CINÉTICA INTESTINAL, ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E PERFIL TÉRMICO DO CECO	52
Introdução	53
Material e Métodos	54
Resultados	57
Discussão	63
Conclusão.....	68
Referências.....	68
CAPÍTULO IV.....	73
IMPLICAÇÕES	74

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1. Composição de polissacarídeos não-amiláceos do milho e do farelo de soja em % da matéria seca.....	7
--	---

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição de ingredientes e nutricional das rações experimentais.....	31
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte, de 1 a 7 dias, alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	35
Tabela 3. Desempenho de frangos de corte, de 1 a 21 dias, alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	36
Tabela 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 35 dias alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	37
Tabela 5. Histomorfometria de duodeno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	38
Tabela 6. Histomorfometria de jejuno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	39
Tabela 7. Histomorfometria de íleo de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	40
Tabela 8. Viscosidade de conteúdo de jejuno e pH de moela e duodeno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	42
Tabela 9. Peso relativo de órgãos (% do peso vivo) e umidade de cama (%) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não	

com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	43
Tabela 10. Incidência de lesões de pododermatite no coxim plantar (%) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	44
Tabela 11. Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL), colesterol (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), proteína total (g/dL), ácido úrico (mg/dL) e VLDL (mg/dL) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase.....	46

CAPÍTULO III

Tabela 1. Composição de ingredientes e nutricional calculada das rações experimentais.....	55
Tabela 2. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o desempenho de frangos de corte.....	58
Tabela 3. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre a proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta (%), concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (mmoL/L), pH do conteúdo cecal, temperatura média (°C) e variação de temperatura (°C) da superfície dos cecos de frangos de corte.....	59
Tabela 4. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre a digestibilidade ileal de energia e proteína de frangos de corte.....	60
Tabela 5. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o tempo médio de retenção do conteúdo alimentar em diferentes segmentos do intestino delgado.....	61
Tabela 6. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o peso relativo de órgãos (g/100g de peso corporal) de frangos de corte.....	62

Tabela 7. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o comprimento (cm) de duodeno, jejuno, íleo e intestino delgado de frangos de corte.....	63
---	----

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura 1. Classificação dos Polissacarídeos não amiláceos.....6

Figura 2. Degradação da parede celular em digesta de frangos suplementados ou não com xilanase, demonstrada por meio da coloração β -glucano.....12**CAPÍTULO III**Figura 1. Imagens digital e termográfica dos cecos, demonstrando a delimitação da área da superfície do ceco para determinação da temperatura média e variação de temperatura pelo software Testo IR Soft[®] 4.2.....56

Uso de carboidrases em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte

RESUMO: O uso de enzimas que degradam polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) em dietas para monogástricos tem sido cada vez mais explorado por nutricionistas, apesar dos mecanismos pelos quais estas enzimas melhoram o valor nutritivo dos alimentos ainda não estarem totalmente esclarecidos. Assim, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de evidenciar os principais mecanismos de ação de enzimas que degradam PNAs e o efeito sobre frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja. O primeiro experimento, relatado no Capítulo II, foi desenvolvido para avaliar os efeitos da inclusão de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho com dois níveis de energia para frangos de corte sobre o desempenho, características intestinais, umidade de cama, incidência de lesões de pododermatite, e parâmetros bioquímicos do sangue. Foram utilizados 1.200 pintos machos, distribuídos em esquema fatorial 2×4 (dois níveis de energia $\times$ ausência ou inclusão de três diferentes xilanasas + β -glucanasas). O ganho de peso e a conversão alimentar foram prejudicados pelo fornecimento de dietas de baixa energia (CN; 2.925 kcal/kg na fase inicial e 3.025 kcal/kg na fase de crescimento). O uso de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase não afeta o desempenho e a qualidade intestinal de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho. O experimento referente ao Capítulo III teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de um produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e soja com níveis variáveis de energia para frangos de corte, sobre desempenho, concentração de ácidos graxos de cadeia curta, pH e perfil térmico dos cecos, digestibilidade ileal de energia e proteína e cinética intestinal. Foram utilizados 744 pintos machos, alojados em 24 boxes e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema 2×2 – dois níveis de energia $\times$ ausência ou inclusão de 100 gramas do produto enzimático por tonelada de ração. A suplementação enzimática melhorou o ganho de peso de 1 a 7, e de 1 a 21 dias, porém não afetou o desempenho de 1 a 35 dias. Frangos alimentados com dieta de baixa energia apresentaram maior concentração cecal de ácido acético quando suplementados com enzima. O fornecimento de dietas de baixa energia reduziu o pH do conteúdo cecal e aumentou a temperatura média dos cecos. A digestibilidade ileal de energia foi maior em frangos alimentados com dietas contendo xilanase, e de proteína e energia maiores com o fornecimento de dietas de alta energia. A

inclusão do produto enzimático aumentou o tempo médio de retenção (TMR) no íleo distal, e o fornecimento de dietas de baixa energia reduziu o TMR no jejuno distal. Assim, a inclusão de xilanase em dietas à base de milho favorece o ganho de peso de frangos de corte apenas nas três primeiras semanas de vida, porém aumenta o tempo médio de retenção no íleo distal e melhora a digestibilidade ileal de energia.

Palavras-chave: enzimas que degradam PNAs, xilanase, glucanase

Effects of carbohydrases in corn-soybean meal based diets for broiler chicken

ABSTRACT: The use of NSP-degrading enzymes in diets for monogastrics has been increasingly explored by animal nutritionists, although the mechanisms through these enzymes improve the nutritional value of the raw materials are still not clear. Thus, this study was carried in order to explore the mechanisms involved in the effects of NSP-degrading enzymes on broilers fed diets corn-soybean based diets. The first trial, reported in Chapter II, was carried out to evaluate the effects of different enzyme products composed by xylanase and β -glucanase in corn-based diets with two levels of energy on performance, intestinal parameters, litter moisture, incidence of pododermatitis, and blood parameters of broilers. A total of 1200 male chicks were distributed in a 2×4 factorial arrangement (two energy levels $\times$ absence or inclusion of three different xylanases + β -glucanases). Weight gain and feed conversion ratio were impaired when low energy diets were fed. In summary, the inclusion of different enzyme products composed by xylanase and β -glucanase does not affect the performance and intestinal quality of broilers fed corn-based diets. The objective of the second trial was to evaluate the effect of an enzyme product composed by xylanase and β -glucanase in varying energy corn-based diets for broiler chickens on performance, short chain fatty acid concentration on ceca, pH and thermal profile of cecum, energy and protein ileal digestibility and intestinal kinetics. A total of 744 male chicks were allotted in 24 floor pens in a completely randomized design in a 2×2 factorial arrangement - two energy levels $\times$ absence or inclusion of 100 ppm of the enzyme product. Enzyme supplementation improved weight gain from 1 to 7 and from 1 to 21 days, but did not affect performance from 1 to 35 days. Broilers fed the low energy diet showed higher cecal concentration of acetic acid when supplemented with enzyme. Broilers fed low energy diets presented reduced cecal pH and increased temperature of ceca. The ileal digestibility of energy was higher in broilers fed on enzyme supplemented diets, and ileal digestibility of protein and energy was higher when high energy diets were fed. Inclusion of enzyme increased the mean retention time (MRT) in the distal ileum, and broilers fed low energy diets presented reduced MRT in the distal jejunum. Therefore, although the inclusion of NSP-degrading enzymes in corn-based diets improves the weight gain of broilers only in the first three weeks, it increases the mean retention time in the distal ileum and improves the energy ileal digestibility.

Key-words: NSP-degrading enzymes, xylanase, glucanase

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Nos últimos anos, os custos das rações utilizadas na indústria avícola brasileira aumentaram de forma significativa, devido, principalmente, ao maior custo de ingredientes-base das fórmulas, como o milho e a soja. Consequentemente, há uma crescente tendência na busca por dietas de menor custo, de forma a amenizar o impacto negativo ocasionado pelos recentes aumentos nos custos desses ingredientes sobre a rentabilidade da produção avícola.

O uso de enzimas exógenas na alimentação de aves tem sido explorado como uma das principais ferramentas utilizadas pela indústria avícola com o objetivo de reduzir os custos com alimentação e promover aumento na eficiência de utilização de nutrientes e energia da dieta, já que o processo digestivo das aves não é totalmente eficiente. De maneira geral, em torno de 15 a 25% dos componentes da ração não são digeridos devido à presença de fatores antinutricionais e à ineficiência ou ausência de algumas enzimas digestivas. O aumento na eficiência do uso de componentes da ração promovido pela inclusão de enzimas exógenas, permite ao nutricionista reduzir a densidade nutricional e energética da dieta, sem prejudicar o desempenho produtivo dos animais, reduzindo assim o custo da ração, componente com maior representação no custo total de produção (BARLETTA, 2011). Na indústria, é comum atribuir matrizes nutricionais e de energia aos produtos enzimáticos, de acordo com o potencial de liberação de energia e nutrientes de cada enzima. Em uma dieta convencional à base de milho e farelo de soja, por exemplo, existem cerca de 400 a 450 kcal/kg de energia que não são aproveitados, o que demonstra o potencial para o aumento da utilização de energia da ração por meio do uso de enzimas exógenas (COWIESON, 2010).

Estima-se que a movimentação anual no mercado global de enzimas esteja em torno de 550 milhões de dólares (ADEOLA & COWIESON, 2011). O custo para aplicação destas enzimas na alimentação animal tem sido reduzido nos últimos anos devido ao desenvolvimento tecnológico da sua produção, principalmente em relação aos processos fermentativos, microbiológicos e técnicas de biologia molecular, tornando-as cada vez menos onerosas (RAVINDRAN, 2013).

A indústria avícola tem explorado cada vez mais a inclusão de carboidrases nas rações, tendo como principal finalidade minimizar o custo com alimentação e melhorar a viabilidade econômica de produção, sem que a produtividade animal seja prejudicada, por meio do aumento do aproveitamento de energia e nutrientes da ração.

Mesmo com a maior difusão do uso de enzimas exógenas em dietas para monogástricos nos últimos anos, as carboidrases representam apenas cerca de 30% do mercado mundial de enzimas na nutrição animal, atrás das fitases (60%). Dentro do segmento das carboidrases, as principais enzimas utilizadas são as xilanases e β -glucanases, que possuem como substrato xilanas e β -glucanos, respectivamente (ADEOLA & COWIESON, 2011). A menor utilização das carboidrases, em especial aquelas responsáveis pela degradação de polissacarídeos não amiláceos (PNAs), se dá pela falta de um consenso em relação a sua efetividade em rações para monogástricos, devido principalmente à complexidade de seus substratos, que podem variar de acordo com os cereais utilizados, e à formulação adotada (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

As principais carboidrases utilizadas nas rações para monogástricos são chamadas de PNAses ou enzimas que degradam PNAs. Os PNAs são um conjunto de carboidratos complexos classificados em solúveis ou insolúveis em água, estão presentes em todos os ingredientes vegetais e possuem características antinutricionais. As frações insolúveis dos PNAs compõem principalmente a parede celular vegetal, causando efeito de encapsulamento de nutrientes devido à incapacidade das aves em degradar estes compostos. Já os PNAs solúveis podem se dissolver no conteúdo do intestino, elevando a viscosidade da digesta e diminuindo o acesso de enzimas digestivas, piorando o aproveitamento de energia e nutrientes da dieta (BARLETTA, 2011). Além de aumentar a viscosidade da digesta, as frações solúveis dos PNAs podem elevar a fermentação microbiana no intestino delgado e modificar a secreção endógena de água, enzimas e eletrólitos (CHOCT et al., 1996).

Acredita-se que as enzimas que degradam PNAs aumentam o valor nutritivo dos alimentos que compõem as rações devido à eliminação do efeito de encapsulamento da parede celular (rica em PNAs) dos vegetais, aumentando assim a disponibilidade de energia e aminoácidos; à hidrólise de alguns tipos de complexos formados por PNAs e proteínas, melhorando a disponibilidade de aminoácidos; e à eliminação dos efeitos antinutricionais ocasionados por alguns tipos de PNAs, como o aumento da viscosidade, por exemplo (SLOMINSKI, 2011).

As enzimas são substrato-específicas e, com isso, seus efeitos estão interligados e diretamente relacionados à quantidade de substratos disponíveis para degradação. Assim, para que seus efeitos sejam claramente pronunciados no desempenho e na produtividade

animal, é necessário que a ração contenha quantidade significativa de substratos e que estes sejam acessíveis pelas enzimas (BAO; ROMERO; COWIESON, 2013).

Embora alguns cereais como trigo e centeio, utilizados em dietas para aves em países europeus, apresentem alto conteúdo de PNAs, o principal grão utilizado como base das rações para monogástricos no Brasil é o milho, cereal com baixo teor de PNAs solúveis e considerado de baixa viscosidade (ENGLYST, 1989).

Apesar dos efeitos de enzimas que degradam PNAs sobre cereais de alta viscosidade, como o trigo, estarem bem estabelecidos e bastante esclarecidos (COWIESON et al., 2016), ainda não há evidência clara de como estas enzimas podem melhorar a digestibilidade de rações à base de milho, cereal de baixa viscosidade, visto que este grão aparentemente não causa efeito significativo sobre a viscosidade da digesta e, portanto, a redução da viscosidade com o uso de enzimas que degradam PNAs não seria relevante em termos de aproveitamento de nutrientes (SINGH et al., 2012), gerando resultados pouco consistentes e por vezes contraditórios em rações à base de milho e farelo de soja para frangos de corte (KOCHER et al., 2003; CENGIZ et al., 2012; KHADEM et al., 2016).

Como os benefícios gerados pela adição de enzimas nas rações dependem da quantidade de substratos disponíveis para sua ação, é de se esperar que em rações à base de milho, a inclusão de enzimas que degradam PNAs, como xilanases e β -glucanases, por exemplo, apresente pequena ou nenhuma resposta positiva. No entanto, alguns estudos mostram que a suplementação dessas enzimas, mesmo em rações à base de milho e farelo de soja, gera benefícios em termos de desempenho e digestibilidade de energia e nutrientes da dieta (ZOU et al., 2013; ZHU et al., 2014; KLEIN et al., 2015).

Outro fator relevante na avaliação da eficiência de enzimas que degradam PNAs é o nível energético das rações, que pode mascarar ou atenuar os benefícios da inclusão das enzimas. Alguns estudos demonstram que a inclusão de enzimas que degradam PNAs em rações à base de milho e farelo de soja para frangos pode melhorar a digestibilidade de energia e/ou nutrientes, porém nem sempre isso se reflete em melhoria de desempenho (KOCHER et al., 2003). Os benefícios sobre o desempenho podem não ser evidenciados caso a densidade energética das rações suplementadas com enzimas não seja ajustada, isto é, sejam reformuladas com níveis marginais de energia metabolizável, gerando um déficit energético (ZHOU et al., 2009).

Desta forma, é necessário o desenvolvimento de estudos com enzimas que degradam PNAs em rações à base de milho e soja para frangos de corte, com o objetivo

de elucidar os principais efeitos ocasionados por estas enzimas, considerando-se também o nível energético das dietas em que serão aplicadas.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Polissacarídeos não amiláceos (PNAs)

Os alimentos vegetais podem apresentar diversos tipos de carboidratos, como monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos (3 a 12 açúcares na composição) e polissacarídeos. De forma geral, os mono e dissacarídeos podem ser digeridos normalmente pelas enzimas endógenas dos monogástricos, enquanto a maioria dos oligossacarídeos normalmente sofrem fermentação microbiana. Polissacarídeos podem ser representados por amido e pelos PNAs, os quais possuem características distintas em termos de digestão, uma vez que o amido é facilmente digerido pelas enzimas endógenas, enquanto os PNAs não são digeridos e podem ainda exercer influência negativa sobre o processo de digestão de nutrientes (CHOCT, 2015).

A parede celular vegetal é composta majoritariamente por PNAs, que podem ser classificados em celulose, hemiceluloses e pectina (Figura 1). Os monossacarídeos que podem compor os PNAs são as pentoses arabinose e xilose; as hexoses glicose, galactose e manose; a 6-desoxihexose-ramnose e a fucose; e os ácidos urônicos, glucorônico e galacturônico. Estes carboidratos podem compor os polissacarídeos da parede celular em diversas formas, uma vez que podem se apresentar na forma de piranose ou furanose, e formar ligações glicosídicas em diferentes grupos hidroxil, nas orientações α ou β , podendo gerar assim muitos tipos de polissacarídeos em formas tridimensionais (BACH KNUDSEN, 2014).

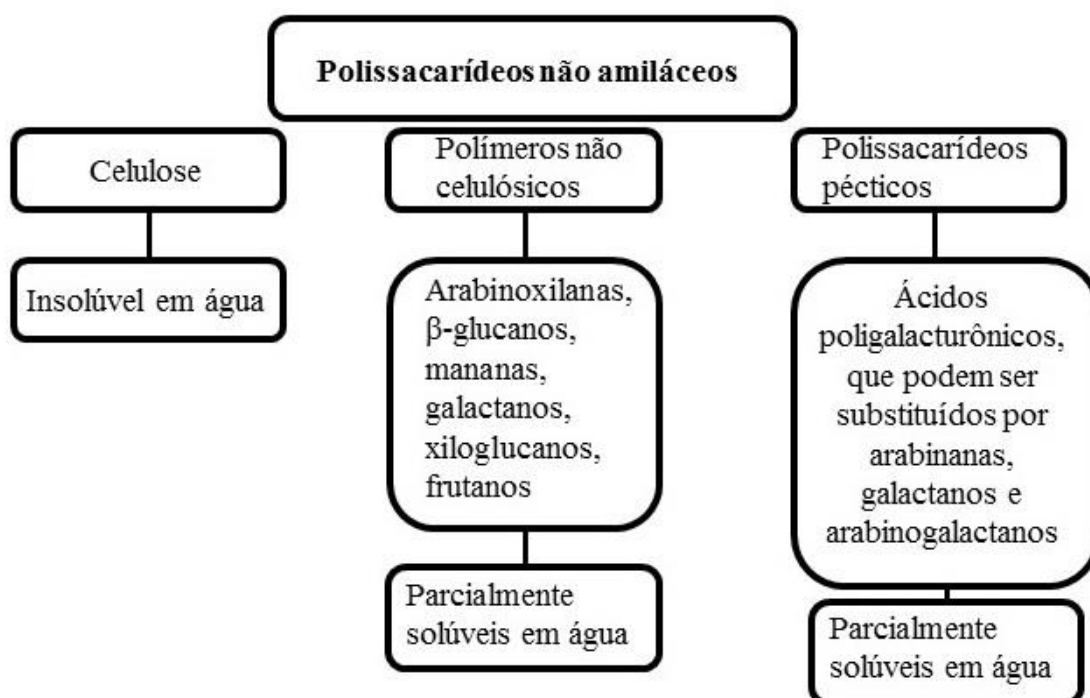


Figura 1. Classificação dos polissacarídeos não amiláceos. Adaptado de CHOCT et al. (2010)

Os PNAs hemicelulolíticos, ou apenas hemiceluloses, são polissacarídeos que podem ser separados da celulose pela extração com solução alcalina-aquosa, e geralmente estão associados aos tecidos vegetais que contêm celulose e lignina. Estes carboidratos representam um grupo grande e diversificado de polímeros heterogêneos em termos de composição, cadeias ramificadas e unidades de açúcar presentes. A nomenclatura destes PNAs depende de qual monômero de açúcar compõe a sua estrutura principal (PALOHEIMO; PIIRONEN; VEHEMAANPERÄ, 2011).

Os PNAs podem representar de 10% a 75% do conteúdo das plantas utilizadas na nutrição animal, dependendo do tipo de vegetal. Em cereais, por exemplo, o conteúdo de PNAs varia entre 10% e 30%, e a grande maioria destes compostos são arabinoxilanas, β-glucanos e celulose (Tabela 1). Já a soja, leguminosa mais utilizada como fonte proteica em dietas para frangos de corte, pode conter até 35% de carboidratos em sua composição, dos quais 14% são açúcares solúveis de baixo peso molecular, e 21% são PNAs, sendo que de 5% a 7% destes PNAs são solúveis (CHOCT et al., 2010).

Tabela 1. Composição de polissacarídeos não-amiláceos do milho e do farelo de soja em % da matéria seca

Componente	Milho	Farelo de soja
<i>PNAs totais</i>	9,7	21,7
<i>PNAs solúveis</i>	0,9	6,3
Ramnose	-	0,1
Arabinose	0,3	0,9
Xilose	0,2	0,2
Manose	0,2	0,5
Galactose	0,1	1,6
Glicose	0,1	0,6
Ác. urônicos	0,1	2,5
<i>PNAs insolúveis</i>	8,8	9,2
Ramnose	-	0,2
Arabinose	1,9	1,7
Xilose	2,8	1,7
Manose	0,1	0,8
Galactose	0,4	2,5
Glicose	0,9	0,1
Ác. urônicos	0,6	2,3
Celulose	2,2	6,2

Adaptado de BACH KNUDSEN (1997).

Uma característica bem comum em alimentos utilizados na nutrição de aves, com exceção ao milho e a soja, é a maior concentração de PNAs solúveis e de fibra, principalmente na forma solúvel (BACH KNUDSEN, 1997), os quais podem gerar efeitos negativos sobre o aproveitamento de energia e nutrientes em frangos (CHOCT; ANNISON, 1992).

Além do conteúdo relativamente baixo, grande parte dos PNAs presentes no milho são insolúveis (~9%), o que o caracteriza como um cereal de baixa viscosidade, ou não viscoso. O farelo de soja também apresenta pequena fração de PNAs solúveis, sendo a maior parte composta por PNAs insolúveis (CHOCT, 2006). Os dados encontrados na literatura em relação ao conteúdo de PNAs no farelo de soja são bastante variáveis, devido a fatores como cultivar utilizado, técnicas de análise, tipo de processamento da soja, entre outros (HOLLUNG et al., 2005).

Em cereais, como o milho, os principais PNAs que constituem a parede celular são arabinoxilanas e β -glucanos. Na maioria dos grãos e sementes proteicos, como a soja,

os principais constituintes da parede celular são xiloglucanos, glicomananos, galactomananos e polissacarídeos pécticos (BACH KNUDSEN et al., 2014).

Os PNAs podem ser classificados em solúveis ou insolúveis em água, estão presentes em todos os ingredientes vegetais e possuem diversas características antinutricionais para os animais monogástricos. As frações insolúveis dos PNAs compõem principalmente a parede celular, causando um efeito de encapsulamento de nutrientes devido à incapacidade das aves em degradar estes compostos. Uma vez que a principal fonte de energia das rações é proveniente do amido, e como os grânulos de amido são armazenados no conteúdo celular vegetal, parte do amido pode estar indisponível devido à ineficiência das aves em degradar a parede celular vegetal (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014). Já os PNAs solúveis podem se dissolver no conteúdo alimentar do intestino, elevando a viscosidade da digesta e diminuindo assim o acesso de enzimas digestivas, piorando o aproveitamento de energia e nutrientes da dieta, além de provocar modificações importantes na fisiologia, microbiota e saúde intestinais (BARLETTA, 2011; CHOCT, 2015).

A xilana é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza e o principal componente da hemicelulose, um complexo de carboidratos polímeros que inclui as xilanas, xiloglucanos, glicomananos, galactoglicomananos e arabinogalactanos (SHALLOM; SHOHAM, 2003). Na estrutura da parede celular vegetal, as xilanas estão associadas à celulose e à lignina por meio de ligações covalentes e não-covalentes, representando importante constituinte para a integridade da parede celular e coesão das fibras (BEG et al., 2001).

A cadeia principal das xilanas é formada por unidades de D-xilopiranosose com ligações 1,4- β , e seu grau de polimerização depende do tipo de planta, mas de maneira geral as xilanas apresentam cadeias muito mais curtas do que a celulose. Algumas propriedades físico-químicas das xilanas, como viscosidade e solubilidade, dependem da presença de vários grupos substituintes ligados às unidades de xilose em sua cadeia. Na maioria dos cereais este substituinte é a arabinose, formando assim as arabinoxilanas, que podem estar no endosperma ou não. A arabinoxilana presente fora do endosperma, além de unidades de arabinose, também pode apresentar ácido glicurônico, ácido 4-O-metil-D-glicurônico, acetil e galactose como grupos secundários (PALOHEIMO; PIIRONEN; VEHEMAANPERÄ, 2011).

Os β -glucanos são homopolímeros de cadeias lineares de glicose, unidas por ligações β -1,3 e β -1,4 e estão presentes na maior parte dos cereais, sendo a cevada e a

aveia os que apresentam conteúdo mais elevado destes compostos. Considerando-se o aspecto molecular, os β -glucanos são similares à celulose, porém, a presença de ligações β -1,3 torna sua estrutura desuniforme, diferindo da estrutura homogênea encontrada na celulose. A presença destas diferentes ligações faz com que ocorram torções irregulares ao longo da estrutura molecular dos β -glucanos, tornando-os flexíveis e capazes de formar géis solúveis na matriz da parede celular das células vegetais (BURTON; FINCHER, 2009). A formação destes compostos solúveis na digesta das aves prejudica a digestibilidade da ração e o aproveitamento de nutrientes, principalmente em rações contendo cereais ricos em β -glucanos (ANNISON; CHOCT, 1991).

Em estudos desenvolvidos com ratos, a presença de PNAs na dieta demonstrou também prejudicar o epitélio intestinal, uma vez que dietas ricas em PNAs podem reduzir o conteúdo de proteína e DNA da borda em escova do epitélio intestinal, e este efeito é atribuído a maior taxa de *turnover* celular ocasionado pela maior proliferação celular (JOHNSON; GEE, 1986).

Além de causar efeitos negativos sobre o aproveitamento de nutrientes, refletindo em prejuízo ao desempenho das aves, a capacidade dos PNAs solúveis de aumentar a viscosidade das excretas pode prejudicar a qualidade da cama por elevar sua umidade (SAKI et al., 2010). Sabe-se que o aumento da umidade da cama de frangos pode resultar em maior incidência e severidade de lesões no coxim plantar das aves (EICHNER et al., 2007).

1.2 Carboidrases

As carboidrases são enzimas que catalisam reações de redução no peso molecular de polímeros de carboidratos, degradando estruturas complexas em açúcares simples e podem ser agrupadas em enzimas que degradam PNAs e amilase (BARLETTA, 2011).

Na nutrição animal, mais de 80% do mercado global de carboidrases são representados por xilanase (endo-1,4- β -xilanase) e β -glucanase (endo-1-3(4)- β -glucanase) (ADEOLA; COWIESON, 2011), enzimas identificadas por BAIROCH (2000) como EC 3.2.1.8 e EC 3.2.1.6, respectivamente. Ambas as enzimas pertencem ao grupo das glicosil hidrolases (EC 3.2.1.X), sendo que a maioria delas degrada o centro da cadeia de polímeros. Além de xilanase e β -glucanase, existem outras carboidrases disponíveis na indústria, como α -amilase, β -mananase, α -galactosidase e pectinase, porém de menor importância e utilização na nutrição de aves (ADEOLA; COWIESON, 2011).

Existem vários tipos de PNAs nas estruturas vegetais, e, portanto, há uma grande variedade de enzimas que degradam PNAs produzidas pela indústria, com diferentes atividades, associadas ou não em produtos enzimáticos comerciais, o que dificulta a comparação dos efeitos de enzimas que degradam PNAs de diferentes estudos (ADEOLA; COWIESON, 2011). Segundo MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD (2014), atualmente não existem enzimas totalmente purificadas no mercado, pois os produtos enzimáticos contêm resíduos de outros materiais, como carreadores ou subprodutos residuais de sua produção. Desta forma, é provável que o produto final possua atividades enzimáticas secundárias.

Os produtos enzimáticos compostos por enzimas que degradam PNAs podem ser divididos em três tipos: enzimas monocomponentes, *blends* enzimáticos e complexos (ou *cocktails*) multienzimáticos. Enzimas monocomponentes são derivadas de fermentação e suas atividades enzimáticas secundárias podem permanecer, podendo ou não ser declaradas pelo fabricante. *Blends* enzimáticos são misturas de enzimas monocomponentes e, portanto, também podem apresentar atividades enzimáticas secundárias. Os complexos multienzimáticos são derivados de fermentação, apresentando diversas atividades enzimáticas, dificilmente controladas pelo fabricante (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

Parte dos produtos enzimáticos disponíveis na indústria de nutrição animal contém atividades secundárias, que normalmente não são controladas pelo processo de produção das enzimas e são variavelmente termolábeis. No entanto, todas as carboidrases estão classificadas no mesmo grupo de proteínas, pertencentes à família das hidrolases/glicosíases (ADEOLA; COWIESON, 2011).

As xilanases (endo-1,4- β -xilanases) são enzimas que atuam sobre as xilanas, degradando-as por meio da quebra de suas estruturas, resultando na liberação de moléculas chamadas de xilooligossacarídeos ramificados. No entanto, por possuírem estrutura relativamente complexa, para que as xilanas sejam completamente hidrolisadas, é necessária uma ação conjunta e em sinergismo de diversas hemicelulases (COUGHLAN & HAZLEWOOD, 1993).

As xilanases comercialmente disponíveis são derivadas de bactérias ou fungos, geneticamente modificados ou em sua forma natural. Entretanto, bactérias do gênero *Bacillus* e fungos filamentosos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Humicola*, *Penicillium* e *Trichoderma* são bastante explorados para produção de xilanases (PALOHEIMO; PIIRONEN; VEHMAANPERÄ, 2011).

A atividade enzimática das xilanases pode ser avaliada por meio da incubação da ração com um substrato, ou da enzima com um substrato, quantificando-se em seguida a concentração da pentose liberada – normalmente xilose. No entanto, ainda não há um padrão analítico para se avaliar a atividade das xilanases, apesar de uma metodologia ter sido validada e proposta como método analítico padrão recentemente (DILLON et al., 2015). Ainda assim, é possível observar uma variação muito grande na literatura em relação aos estudos desenvolvidos com produtos comerciais em dietas para aves, com a análise de atividade enzimática sendo realizada de acordo com a recomendação do fabricante.

As β -glucanases são enzimas que degradam ligações β -(1,3)(1,4)-glucanos, reduzindo a cadeia dos polímeros dos β -glucanos. A hidrólise parcial dos β -glucanos já é suficiente para reduzir a viscosidade ocasionada por estas moléculas e aumentar o aproveitamento de dietas (MARQUARDT, 1997).

Apesar de ser possível produzir xilanases monocomponentes, isto é, sem atividade enzimática secundária, como a de β -glucanases (POLIZELI et al., 2005), a maioria dos produtos à base de xilanases disponíveis na indústria de enzimas possui atividade de β -glucanase (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

A inclusão de carboidrases, como xilanases e β -glucanases, em dietas para frangos de corte é uma prática relativamente comum e aceita por nutricionistas, especialmente em rações contendo cereais viscosos, ou ricos em PNAs solúveis, como trigo, cevada e centeio. As enzimas endógenas das aves não possuem capacidade de digerir adequadamente os PNAs da dieta, permitindo que estes compostos ocasionem efeitos antinutricionais, principalmente pelo aumento da viscosidade da digesta e redução do aproveitamento de energia e nutrientes.

No entanto, ainda não há evidência clara de como estas carboidrases melhoram o aproveitamento de nutrientes em rações constituídas de milho e soja, já que o milho possui conteúdo relativamente baixo de PNAs solúveis (1g/kg MS; CHOCT, 2006), e, portanto, não aparenta ser capaz de elevar a viscosidade da digesta em frangos de corte (PRESTON et al., 2001; JIA et al., 2009). KIARIE; ROMERO; RAVINDRAN (2014) observaram redução da viscosidade do conteúdo de jejuno de frangos com a suplementação de xilanase, tanto em dietas à base de trigo, como de milho, no entanto, as dietas formuladas à base de milho também apresentavam grãos secos de milho de destilaria, resíduo da indústria de etanol que é rico em PNAs solúveis (PEDERSEN et al., 2014).

A ação da xilanase sobre a matriz da parede celular vegetal é direta e pode ser detectada a partir do conteúdo de digesta ileal de frangos, especialmente sobre a região de aleurona da matriz celular (Figura 2), permitindo assim a liberação de nutrientes encapsulados pela parede celular vegetal, como as proteínas, por exemplo (GONZALES-ORTIZ et al., 2017).

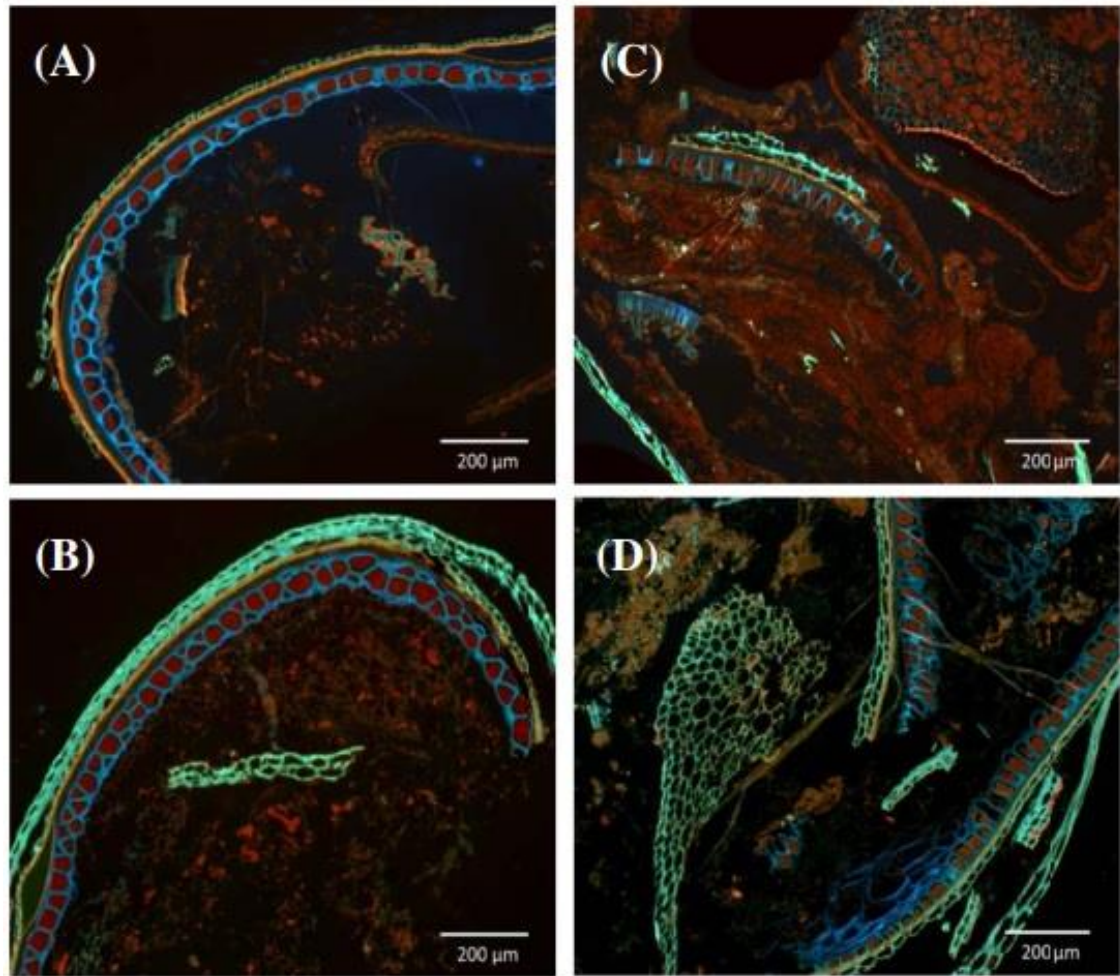


Figura 2. Degradação da parede celular em digesta de frangos suplementados ou não com xilanase, demonstrada por meio da coloração β -glucano. (A) Digesta de moela, dieta sem xilanase; (B) Digesta de moela, dieta com xilanase; (C) Digesta ileal, dieta sem xilanase; (D) Digesta ileal, dieta com xilanase. Em coloração vermelha estão as proteínas e em azul os β -glucanos. Adaptado de GONZALES-ORTIZ et al. (2017).

Uma vez que o pH ótimo da grande maioria das xilanases está próximo do neutro ou levemente ácido, é provável que a degradação da parede celular ocorra principalmente

no papo e no intestino delgado das aves, onde há condições de pH adequadas para a atividade enzimática (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

A especificidade por substratos das enzimas é dependente do microrganismo que as produz. As xilanases, por exemplo, podem apresentar afinidade por PNAs solúveis ou PNAs insolúveis, ou ambos. CHOCT et al. (2004) demonstraram que uma xilanase derivada de *Thermomyces lanuginosus* aumentou o conteúdo de PNAs solúveis na digesta do intestino delgado de frangos, porém reduziu sua viscosidade, demonstrando que esta xilanase apresenta afinidade por PNAs solúveis e insolúveis, uma vez que é capaz de liberar PNAs solúveis da parede celular composta por xilanas insolúveis, mas também degrada estas moléculas em compostos menores. Por outro lado, uma xilanase derivada de *Humicola insolens* aumentou o conteúdo de PNAs solúveis e a viscosidade da digesta, indicando que apresenta afinidade apenas por PNAs insolúveis. Por fim, uma xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* foi capaz de degradar as frações solúveis de arabinoxilanas, porém não afetou a porção insolúvel.

Estudos recentes demonstram que a inclusão de carboidrases em rações à base de milho e soja pode resultar em benefícios em termos de aproveitamento e utilização de nutrientes e energia da dieta (COWIESON et al., 2010; LU et al., 2013) e desempenho de frangos de corte (MASEY O'NEILL et al., 2012; ZOU et al., 2013). No entanto, é possível encontrar resultados contraditórios na literatura, quando a suplementação de enzimas que degradam PNAs não favoreceu o desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho (ZAKARIA et al., 2010; CENGIZ et al., 2012; KHADEM et al., 2016). A variabilidade nos resultados encontrados pode estar relacionada principalmente ao nível energético utilizado nas rações suplementadas com enzimas, já que animais recebendo dietas com menor nível energético tendem a responder de forma mais significativa à suplementação de enzimas exógenas (ZHOU et al., 2009; GLAMOCIC et al., 2011; HORVATOVIC et al., 2012).

Outro fator que pode afetar a efetividade de enzimas que degradam PNAs em dietas para frangos é a qualidade dos ingredientes utilizados na ração. Rações compostas por milho de textura macia, por exemplo, tendem a responder melhor à suplementação enzimática em relação àquelas compostas por milho de textura dura (KACZMAREK et al., 2014). WALTERS et al. (2018) só observaram melhora do ganho de peso de frangos com a suplementação de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho quando as rações continham 20% de resíduo de limpeza de milho (grãos com defeito ou *corn screenings*), ingrediente com maior concentração de PNAs do que o milho.

A efetividade das carboidrases também pode estar relacionada às condições do trato digestivo do animal. Por serem proteínas, as enzimas podem ser desnaturadas em condições inadequadas de pH, por exemplo, ou degradadas pelas proteases endógenas dos animais, perdendo assim sua atividade biológica. A maioria das carboidrases possui pH ótimo entre 4,0 e 5,0, porém existe uma grande variação em relação ao pH ótimo entre as enzimas comercialmente disponíveis de acordo com o microrganismo que as produziu (SVIHUS, 2011). Assim, é provável que a variação de pH que ocorre naturalmente nos diferentes segmentos do trato digestivo das aves pode afetar de forma significativa a atividade de carboidrases. Em teoria, espera-se que a atividade enzimática seja mais expressiva em órgãos como papo e intestino delgado, onde as condições de pH são favoráveis, e reduzida em segmentos onde o pH é ácido, como na moela (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

O tempo de permanência do substrato em contato com a enzima é outro fator relevante e que pode influenciar a eficácia do produto enzimático. Desta forma, há um tempo mínimo requerido para que ocorra a degradação do substrato. É possível que a degradação parcial das fibras ocorra entre uma e duas horas e meia, quando em condições ótimas para a atividade enzimática (SØRENSEN; PEDERSEN; MEYER, 2007). Entretanto, para a completa degradação dos PNAs é provável que o tempo requerido seja maior que 24 horas, apesar de que a completa degradação dos PNAs não é necessária para reduzir seus efeitos antinutricionais em monogástricos (SVIHUS, 2011).

A ação de carboidrases que degradam PNAs em rações à base de milho para frangos de corte pode estar relacionada ao rompimento da integridade da parede celular vegetal, reduzindo assim o encapsulamento de nutrientes (KHADEM et al., 2016), e ao potencial efeito prebiótico, pela liberação de arabinosílo-oligossacarídeos (AXOS) na porção distal do trato gastrointestinal (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014), apesar deste mecanismo estar pouco esclarecido e comprovado, devido, principalmente, à dificuldade em se analisar estes oligossacarídeos em conteúdo intestinal de animais, uma vez que ainda não há uma metodologia padronizada para este tipo de análise (MASEY O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014). A fermentação dos AXOS pode resultar em alterações na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nas populações de bactérias, como lactobacilos e bifidobactérias (COURTIN et al., 2008; MADHUKUMAR & MURALIKRISHNA, 2012). Como a contribuição dos AGCC em relação a energia metabolizável total de frangos de corte é relativamente pequena, acredita-se que os benefícios deste efeito prebiótico das xilanases tenham relação indireta

com outras características, como a redução do pH, devido a maior produção de AGCC, diminuindo assim a proliferação de microrganismos patogênicos e favorecendo a proliferação de enterócitos (COWIESON & MASEY O'NEILL, 2013). Por favorecer o balanço da microbiota, o uso de xilanase pode levar à diminuição da concentração de gases prejudiciais ao meio ambiente e que estão naturalmente presentes na excreta de aves, como a amônia e o metanotiol (LIU; KIM, 2017).

Os AXOS apresentam baixa digestibilidade até a junção ileocecal em aves, e são assim fermentados por bactérias do ceco, processo que gera AGCC que podem então ser utilizados como fonte de energia. Além disso, é possível que ocorra melhora na absorção de minerais no ceco devido à provável redução do pH do meio e consequente aumento na solubilidade dos minerais (LOPEZ, 2000). A maior produção de butirato, ácido graxo que pode ser utilizado como fonte de energia pelos enterócitos (VAN LOO, 2004), também pode contribuir para a melhora obtida com a liberação ou suplementação de AXOS nas dietas. No entanto, como citado anteriormente, ainda existe dificuldade em se analisar a concentração de AXOS na digesta devido à ausência de metodologias aplicáveis.

Além disso, estudos com outras espécies de animais demonstram que uma maior atividade de fermentação no ceco/colon pode resultar na liberação de Peptídeo YY (GOODLAD et al., 1987; LONGO et al., 1991), hormônio produzido por células endócrinas do íleo e do cólon, liberado no sangue em resposta a vários estímulos relacionados à dieta (ADRIAN et al., 1987), e que promove a redução das taxas de esvaziamento gástrico e de trânsito intestinal (BALLANTYNE, 2006), melhorando assim o aproveitamento de nutrientes, efeitos interessantes para o frango melhorado geneticamente, que possui uma taxa de passagem intestinal rápida, o que pode afetar diretamente a digestibilidade de nutrientes (CROOM et al., 1999). Estudos recentes demonstram que a inclusão de xilanase nas dietas pode aumentar a concentração de Peptídeo YY sanguíneo em frangos de corte (SINGH et al., 2012; LEE et al., 2017), apesar da taxa de trânsito intestinal não ter sido avaliada.

É provável que haja resposta não-linear de enzimas que degradam PNAs em relação à dose aplicada (FRANCESCH; PÉREZ-VENTRELL; BROZ, 2012), ou seja, seus benefícios podem ser potencializados até uma certa dose de suplementação, e, após atingir um pico, seus efeitos se estabilizam ou podem até ser reduzidos, no caso de uma dose muito elevada. Isto se dá, pois, a utilização de elevadas doses de enzimas que degradam PNAs nas rações pode levar a uma maior e mais completa degradação dos polissacarídeos, que são então convertidos em monossacarídeos (DAMEN et al., 2012),

e não oligossacarídeos, como os AXOS, diminuindo assim o potencial efeito prebiótico destas enzimas.

A utilização de xilanase nas dietas, além de liberar AXOS, também promove a liberação de arabinose e xilose a partir de moléculas de arabinoxilanas, e a degradação ocorre principalmente no intestino delgado de frangos, sendo que o íleo é o segmento onde acontece a maior parte desta degradação, seguido por jejuno e duodeno (ZHANG et al., 2014).

Assim, a ação das xilanases, quando adicionadas a dietas para aves, pode estar relacionada 1) à redução da viscosidade da digesta, um efeito direto e de pouca ou nenhuma contribuição em dietas à base de milho; 2) ao rompimento da parede celular vegetal e consequente liberação de nutrientes encapsulados, efeito direto e contribuinte para melhora da digestibilidade de nutrientes; e 3) à degradação de arabinoxilanas em AXOS, carboidratos que podem ser fermentados e alterar a produção de AGCC, bem como afetar o esvaziamento gástrico e a taxa de passagem, efeito indireto e de contribuição ainda pouco conhecida.

1.3 Uso de xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e soja

Segundo COWIESON; BEDFORD; RAVINDRAN (2010), a utilização em conjunto de xilanase e β -glucanase é vantajosa, porém estas enzimas apresentam efeito subaditivo em dietas à base de milho, isto é, o resultado gerado pelo uso em conjunto das enzimas é inferior à soma dos benefícios gerados por cada enzima individualmente. A subaditividade ocorre, pois, estas enzimas competem por substratos similares.

A inclusão de um produto enzimático composto por enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho melhorou o desempenho de frangos, porém sua associação com β -mananase promoveu resultados superiores, de acordo com estudos conduzidos por KLEIN et al. (2015).

Segundo BAREKATAIN et al. (2013), a inclusão de xilanase em dietas à base de milho para frangos pode melhorar a eficiência alimentar, porém seus efeitos são mais pronunciáveis na presença de alimentos fibrosos na dieta, como grãos secos de sorgo de destilaria com solúveis (DDGS de sorgo). LIU et al. (2011) encontraram resultados semelhantes, quando a suplementação de xilanase em dietas à base de milho contendo DDGS de milho apresentou resultados mais expressivos em relação ao desempenho e a digestibilidade de energia e nutrientes de frangos de corte, em comparação à dieta à base de milho sem DDGS ou outra fonte rica em fibra.

ZOU et al. (2013) e ZHU et al. (2014) observaram que a inclusão de xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho melhorou o desempenho de frangos, especialmente em dietas com nível energético baixo, por aumentar a utilização de energia da dieta e atividade de enzimas digestivas no intestino, bem como a altura de vilosidades.

De acordo com MASEY O'NEILL et al. (2012), o uso de xilanase em dietas à base de milho e soja com nível energético reduzido pode melhorar a conversão alimentar de frangos de corte, independente da forma em que o nível energético foi reduzido. Neste estudo, os níveis energéticos foram reduzidos por meio da menor inclusão de gordura na dieta – no caso, gordura de aves, ou pela maior inclusão de alimento rico em fibras e de baixo valor energético – o farelo de trigo, mantendo-se o nível de gordura da dieta. Em ambos os casos a inclusão de xilanase melhorou a eficiência alimentar das aves.

Um estudo recente demonstrou que a utilização de um produto enzimático composto por xilanase, β -glucanase e celulase aumentou a expressão gênica de enzimas pancreáticas, como tripsina, amilase e lipase em frangos de corte recebendo dietas à base de milho e soja (YUAN et al., 2017), provavelmente pela maior disponibilidade de nutrientes no lúmen intestinal, uma vez que a expressão endógena dos genes envolvidos na produção de enzimas digestivas é regulada de acordo com a nutrição.

WILLIAMS et al. (2014) observaram benefícios de desempenho pela inclusão de xilanase em dietas à base de milho para frangos de corte com nível energético reduzido, indicando ainda que a conversão alimentar na fase final pode ser melhorada com maior inclusão de xilanase nas rações.

A inclusão de xilanase em dietas à base de milho pode reduzir a produção de calor pela ave, melhorando a energia líquida de produção, bem como melhorar a microflora cecal, aumentando a população de bactérias benéficas como *Lactobacilos* e *Bifidobactérias* no ceco (NIAN et al., 2011). De acordo com os mesmos autores, a melhora da energia líquida de produção pode estar relacionada à redução no peso relativo de órgãos metabolicamente ativos com a suplementação de xilanase, uma vez que estes órgãos podem representar mais de 50% da exigência de energia para manutenção.

KHADEM et al. (2016) não observaram melhoria de desempenho de frangos com a suplementação de xilanase em dietas à base de milho e farelo de soja, mesmo com o aumento da altura de vilosidades e de populações de bactérias benéficas no ceco, indicando que os possíveis efeitos prebióticos com o uso de xilanase podem ter maior influência sobre os resultados do que o efeito direto da enzima sobre a digestibilidade de nutrientes.

Em estudos conduzidos por GHAYOUR-NAJAFABADI et al. (2017), a inclusão de xilanases de origem fúngica ou bacteriana não afetou o desempenho de frangos alimentados com dietas à base de milho ou de trigo, nem a digestibilidade de energia e nutrientes e a histomorfologia do epitélio intestinal. Mesmo assim, com os efeitos de redução do peso de órgãos do trato digestivo, os autores indicam um possível efeito das xilanases sobre a saúde e função intestinais.

YEGANI e KORVER (2013) observaram que a suplementação de um produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase pode melhorar a digestibilidade de energia da ração dependendo da região onde o milho utilizado foi produzido, uma vez que os benefícios foram observados em apenas uma das três fontes de milho testadas.

AMERAH et al. (2017) concluíram que a inclusão de xilanase em dietas à base de milho pode melhorar a conversão alimentar, a energia digestível, e a digestibilidade de amido e nitrogênio, porém a associação de xilanase com amilase e protease traz resultados mais expressivos em relação ao desempenho de frangos.

LEE et al. (2017) não observaram efeitos da inclusão de xilanase em dietas à base de milho sobre a digestão do amido ao longo do trato digestivo de frangos, nem sobre a degradação da parede celular, indicando que os benefícios gerados pelo uso de xilanase em dietas à base de milho podem estar relacionados ao efeito indireto sobre a liberação de peptídeo YY.

De acordo com estudos conduzidos por RAVN et al. (2018), a produção cecal de butirato pode ser elevada com o uso de uma combinação de xilanase e arabinofurosidase, devido a maior liberação de arabinoxilooligossacarídeos que podem ser fermentados por bactérias benéficas, melhorando assim a morfologia intestinal de frangos alimentados com dietas à base de milho.

Assim, os Capítulos II e III, intitulados “**Inclusão de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho com níveis variáveis de energia para frangos de corte**”, e, “**Efeitos do uso de xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho para frangos de corte sobre cinética intestinal, ácidos graxos de cadeia curta e perfil térmico do ceco**”, foram adequados de acordo com as normas estabelecidas pelos periódicos **Canadian Journal of Animal Science** e **Livestock Science**, respectivamente.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; COWIESON. BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and

challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3189–3218, 2011.

ADRIAN, T. E. et al. Distribution and postprandial release of porcine peptide YY. **Journal of Endocrinology**, v. 113, p. 11–14, 1987.

AMERAH, A. M. et al. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. **Poultry Science**, v. 96, p. 807–816, 2017.

ANNISON, G.; CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**, v. 47, p. 232–242, 1991.

BACH KNUDSEN, K. E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science Technology**, v. 67, p. 319–338, 1997.

BACH KNUDSEN, K. E. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets¹. **Poultry Science**, v. 93, p. 2380–2393, 2014.

BAIROCH, A. The ENZYME database in 2000. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 304–305, 2000.

BALLANTYNE, G. H. Peptide YY(1-36) and peptide YY(3-36): Part II. Changes after gastrointestinal surgery and bariatric surgery - Part. I. Distribution, release and actions. **Obesity Surgery**, v. 16, p. 795–803, 2006.

BAO, Y. M.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Functional patterns of exogenous enzymes in different feed ingredients. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, p. 759–774, 2013.

BAREKATAIN, M. R. et al. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal Feed Science and Technology**, v. 182, p. 71–81, 2013.

BARLETTA, A. Introduction: Current market and expected developments. In: BEDFORD, M. R.; PATRIDGE, G. G. (Ed). **Enzymes in Farm Animal Nutrition**, 2nd edition. CAB International, 2011. p.1-11.

BEG, Q. K. et al. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p. 326–338, 2001.

BURTON, R. A.; FINCHER, G. B. (1,3;1,4)- β -d-glucans in cell walls of the poaceae, lower plants, and fungi: a tale of two linkages. **Molecular Plant**, v. 2, p. 873–882, 2009.

CENGİZ, Ö.; HESS, J. B.; BILGILI, S. F. Feed enzyme supplementation does not ameliorate foot pad dermatitis in broiler chickens fed on a corn-soyabean diet. **British Poultry Science**, v. 53, p. 401–407, 2012.

CHOCT, M.; ANNISON, G. C. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. **British Poultry Science**, v. 33, p. 821–834, 1992.

CHOCT, M. et al. Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. **British Poultry Science**, v. 37, p. 609–621, 1996.

CHOCT, M. et al. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 92, p. 53–61, 2004.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 5–16, 2006.

CHOCT, M. et al. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: A review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p. 1386–1398, 2010.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: classification and function. **Animal Production Science**, v. 55, p. 1360–1366, 2015.

COUGHLAN, M. P.; HAZLEWOOD, G. P. β -1,4-D-xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 17, p. 259–289, 1993.

COURTIN, C. M. et al. Dietary inclusion of wheat bran arabinoxyloligosaccharides induces beneficial nutritional effects in chickens. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 607–613, 2008.

COWIESON, A. J. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/soy-based poultry diets. **The Journal of Poultry Science**, v. 47, p. 1–7, 2010.

COWIESON, A. J. et al. Meta-analysis of effect of a mono-component xylanase on the nutritional value of wheat supplemented with exogenous phytase for broiler chickens.

Animal Production Science, v. 56, p. 2014–2022, 2016.

COWIESON, A. J.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. **British Poultry Science**, v. 51, p. 246–257, 2010.

COWIESON, A. J.; MASEY O'NEILL, H. V. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility and caecal thermal profiles of broilers given wheat-based diets. **British Poultry Science**, v. 54, p. 346–354, 2013.

CROOM, W. J. et al. Is intestinal absorption capacity rate-limiting for performance in poultry? **Journal of Applied Poultry Research**, v. 8, p. 242–252, 1999.

DAMEN, B. et al. Xylanase-mediated in situ production of arabinoxylan oligosaccharides with prebiotic potential in whole meal breads and breads enriched with arabinoxylan rich materials. **Food Chemistry**, v. 131, p. 111–118, 2012.

DILLON, G. P. et al. Validation of an analytical method for the determination of the activity of xylanase in animal feed additives and in animal feedingstuffs. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v. 3, p. 1–11, 2015.

EICHNER, G. et al. Litter moisture and footpad dermatitis as affected by diets formulated on an all-vegetable basis or having the inclusion of poultry by-product. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, p. 344–350, 2007.

ENGLYST, H. Classification and measurement of plant polysaccharides. **Animal Feed Science and Technology**, v. 23, p. 27–42, 1989.

FRANCESCH, M.; PÉREZ- VENDRELL, A. M.; BROZ, J. Effects of a mono-component endo-xylanase supplementation on the nutritive value of wheat-based broiler diets. **British Poultry Science**, v. 53, p. 809–816, 2012.

GHAYOUR-NAJAFABADI, P. et al. Productive performance, nutrient digestibility and intestinal morphometry in broiler chickens fed corn or wheat-based diets supplemented with bacterial- or fungal-originated xylanase. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, p. 165–174, 2017.

GLAMOCIC, D. et al. Effects of enzymes supplementation on digestibility and energy utilizations of broilers diets with different metabolizable energy level. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v. 27, p. 583–590, 2011.

- GONZALEZ-ORTIZ, G. et al. Response of broiler chickens fed wheat-based diets to xylanase supplementation. **Poultry Science**, v. 96, p. 2776–2785, 2017.
- GOODLAD, R. A. et al. Proliferative effects of “fibre” on the intestinal epithelium: Relationship to gastrin, enteroglucagon and PYY. **Gut**, v. 28, p. 221–226, 1987.
- HOLLUNG, K. et al. Evaluation of nonstarch polysaccharides and oligosaccharide content of different soybean varieties (*Glycine max*) by near-infrared spectroscopy and proteomics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9112–9121, 2005.
- HORVATOVIC, M. P. et al. Digestibility of nutrients and metabolisability of energy in broiler diets with different ME level and supplemented with exogenous enzyme. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, p. 2391–2394, 2012.
- JIA, W. et al. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. **Poultry Science**, v. 88, p. 132–140, 2009.
- 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.
- KACZMAREK, S. A. et al. Effect of maize endosperm hardness, drying temperature and microbial enzyme supplementation on the performance of broiler chickens. **Animal Production Science**, v. 54, p. 956–965, 2014.
- KHADEM, A. et al. Does release of encapsulated nutrients have an important role in the efficacy of xylanase in broilers? **Poultry Science**, v. 95, p. 1066–1076, 2016.
- KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; RAVINDRAN, V. Growth performance, nutrient utilization, and digesta characteristics in broiler chickens fed corn or wheat diets without or with supplemental xylanase. **Poultry Science**, v. 93, p. 1186–1196, 2014.
- KLEIN, J. et al. Effects of dietary inclusion of a cocktail NSPase and β -mannanase separately and in combination in low energy diets on broiler performance and processing parameters. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, p. 489–501, 2015.
- KOCHER, A. et al. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy diets- in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, p. 275–283, 2003.
- LEE, S. A. et al. Understanding the direct and indirect mechanisms of xylanase action on

starch digestion in broilers understanding the direct and indirect mechanisms of xylanase action on starch digestion in broilers. **Journal of World's Poultry Research**, v. 7, p. 35–47, 2017.

LIU, N. et al. Effects of corn distillers dried grains with solubles and xylanase on growth performance and digestibility of diet components in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, p. 260–266, 2011.

LIU, W. C.; KIM, I. H. Metabolism and nutrition: Effects of dietary xylanase supplementation on performance and functional digestive parameters in broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v. 96, p. 566–573, 2017.

LONGO, W. E. et al. Short-chain fatty acid release of peptide YY in the isolated rabbit distal colon. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 26, p. 442–448, 1991.

LOPEZ, H. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 11, p. 500–508, 2000.

LU, H. et al. Impact of exogenous carbohydrases and phytase on growth performance and nutrient digestibility in broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, p. 243–249, 2013.

MADHUKUMAR, M. S.; MURALIKRISHNA, G. Fermentation of xylo-oligosaccharides obtained from wheat bran and Bengal gram husk by lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 745–752, 2012.

MARQUARDT, R. R. Enzyme enhancement of the nutritional value of cereals: role of viscous, water-soluble, non-starch polysaccharides in chick performance. In: MARQUARDT, R. R.; HAN, Z. (Ed). **Enzymes in Poultry and Swine Nutrition**. IDRC, 1997, p.5-18.

MASEY O'NEILL, H. V. et al. The effect of reduced calorie diets, with and without fat, and the use of xylanase on performance characteristics of broilers between 0 and 42 days. **Poultry Science**, v. 91, p. 1356–1360, 2012.

MASEY O'NEILL, H. V.; SMITH, J. A.; BEDFORD, M. R. Multicarbohydrase Enzymes for non-ruminants. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, p. 290–301, 2014.

NIAN, F. et al. Effect of xylanase supplementation on the net energy for production,

- performance and gut microflora of broilers fed corn/soy-based diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, p. 1282–1287, 2011.
- PALOHEIMO, M; PIIRONEN J.; VEHEMAANPERÄ, J. Xylanases and celulasas as feed additives. In: BEDFORD, M. R.; PATRIDGE, G. G. (Ed). **Enzymes in Farm Animal Nutrition**, 2nd edition. CAB International, 2011. p.12-53.
- PEDERSEN, M. B. et al. Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 130–141, 2014.
- POLIZELI, M. L. T. M. et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, p. 577–591, 2005.
- PRESTON, C. M.; K.J., M.; BEDFORD, M. R. Effect of wheat content, fat source and enzyme supplementation on diet metabolisability and broiler performance. **British Poultry Science**, v. 42, p. 625–632, 2001.
- RAVINDRAN, V. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, p. 628–636, 2013.
- RAVN, J. L. et al. Combined endo- β -1,4-xylanase and α -l arabinofuranosidase increases butyrate concentration during broiler cecal fermentation of maize glucurono-arabinoxylan. **Animal Feed Science and Technology**, v. 236, p. 159–169, 2018.
- SAKI, A. A. et al. Effect of various level of treated barley on small intestinal content viscosity, litter moisture, uric acid and broiler chickens performance. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, p. 2627–2632, 2010.
- SHALLOM, D.; SHOHAM, Y. Microbial hemicellulases. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, p. 219–228, 2003.
- SINGH, A. et al. Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize-soybean based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 177, p. 194–203, 2012.
- SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, p. 2013–2023, 2011.
- SØRENSEN, H. R.; PEDERSEN, S.; MEYER, A. S. Synergistic enzyme mechanisms

and effects of sequential enzyme additions on degradation of water insoluble wheat arabinoxylan. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 908–918, 2007

SVIHUS, B. Effects of digestive tract conditions, feed processing and ingredients on response to NSP enzymes. In: BEDFORD, M. R.; PATRIDGE, G. G. (Ed). **Enzymes in Farm Animal Nutrition**, 2nd edition. CAB International, 2011. p.129-159.

VAN LOO, J. A. E. Prebiotics promote good health. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 38, p. 70–75, 2004.

WALTERS, H. G. et al. Evaluation of NSPase inclusion in diets manufactured with high- and low-quality corn on male broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, p. 1–12, 2018.

WILLIAMS, M. P. et al. Evaluation of xylanase in low-energy broiler diets. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, p. 188–195, 2014.

YEGANI, M.; KORVER, D. R. Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 92, p. 1208–1220, 2013.

YUAN, L. et al. Effects of protease and non-starch polysaccharide enzyme on performance, digestive function, activity and gene expression of endogenous enzyme of broilers. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1–13, 2017.

ZAKARIA, H. A. H.; JALAL, M. A. R.; ISHMAIS, M. A. A. The influence of supplemental multi-enzyme feed additive on the performance, carcass characteristics and meat quality traits of broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, p. 126–133, 2010.

ZHANG, L. et al. Effects of xylanase supplementation on growth performance, nutrient digestibility and non-starch polysaccharide degradation in different sections of the gastrointestinal tract of broilers fed wheat-Based diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, p. 855–861, 2014.

ZHOU, Y. et al. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. **Poultry Science**, v. 88, p. 316–322, 2009.

ZHU, H. L. et al. The effects of enzyme supplementation on performance and digestive parameters of broilers fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v. 93, p. 1704–1712,

2014.

ZOU, J. et al. Effects of exogenous enzymes and dietary energy on performance and digestive physiology of broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, p. 1–9, 2013.

CAPÍTULO II

INCLUSÃO DE DIFERENTES PRODUTOS ENZIMÁTICOS COMPOSTOS POR XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS À BASE DE MILHO COM NÍVEIS VARIÁVEIS DE ENERGIA PARA FRANGOS DE CORTE

Resumo.

Este estudo foi desenvolvido para avaliar os efeitos da inclusão de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho com dois níveis de energia para frangos de corte sobre o desempenho, características intestinais, umidade de cama, incidência de lesões de pododermatite, e parâmetros bioquímicos do sangue. Foram utilizados 1.200 pintos machos, distribuídos em esquema fatorial 2×4 (dois níveis de energia $\times$ ausência ou inclusão de 100g de três diferentes xilanases + β -glucanases por tonelada de ração). O ganho de peso e a conversão alimentar foram prejudicados pelo fornecimento de dietas de baixa energia (CN; 2.925 kcal/kg na fase inicial e 3.025 kcal/kg na fase de crescimento). O uso de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase não afeta o desempenho e a qualidade intestinal de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho, independente do nível de energia utilizado.

Palavras-chave: endo,1,4- β -xilanase, endo-1,4- β -glucanase, carboidrases, enzimas que degradam PNAs

Introdução

As enzimas que degradam polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) podem apresentar características variáveis dependendo de sua origem, como habilidade em degradar PNAs solúveis ou insolúveis, resistência e sensibilidade à variação de pH que ocorre no trato digestivo das aves e pH ótimo de atuação (Paloheimo et al. 2011). Estas características são importantes e têm grande influência sobre a eficácia destas enzimas quando adicionadas à dieta de aves.

Um dos constituintes da dieta que podem ter influência sobre os efeitos promovidos pela inclusão de enzimas que degradam PNAs é o nível energético adotado (Zhou et al. 2009). O ideal é que se promova um pequeno déficit energético na dieta, a fim de que a maior disponibilidade de energia promovida pela inclusão das enzimas resulte em benefícios para as aves, suprimindo totalmente sua demanda energética.

Apesar dos efeitos relacionados ao uso de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de cereais viscosos, como trigo, cevada e centeio, por exemplo, estarem bem esclarecidos e comprovados (Mathlouthi et al. 2002; Garcia et al. 2008; Cowieson et al. 2016), o uso destas enzimas em dietas à base de milho tem apresentado resultados inconsistentes (Cengiz et al. 2012; Gehring et al. 2013), uma vez que o milho apresenta conteúdo relativamente baixo de PNAs (8,1%), que em sua maioria estão na forma insolúvel (Choct 2006).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho com dois níveis de energia para frangos de corte, e seus efeitos sobre o desempenho, características intestinais, umidade de cama, escores de lesão de pododermatite e parâmetros bioquímicos do sangue.

Material e Métodos

Todos os procedimentos conduzidos neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – CEUA/FMVZ (02/2015-CEUA).

Dietas experimentais

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×4 , sendo dois níveis de energia metabolizável – Controle Positivo (CP) e Controle Negativo (CN) $\times$ ausência ou inclusão de três diferentes produtos enzimáticos

constituídos de xilanase e β -glucanase (A, B e C). Os níveis de energia utilizados foram: CP: 3025 kcal/kg e 3125 kcal/kg nas fases inicial, de 1 a 21 dias, e de crescimento, de 22 a 35 dias, respectivamente; e CN: 2925 kcal/kg e 3025 kcal/kg, nas fases inicial e de crescimento, respectivamente. As enzimas utilizadas foram adicionadas de acordo com a dose recomendada pelos fabricantes (100g por tonelada de ração), nas dietas CP e CN (Tabela 1). A enzima A é composta por endo-1,4- β -xilanase e endo-1,4- β -glucanase, derivada de fermentação do fungo *Aspergillus niger*. O produto B é composto por endo-1,4- β -xilanase e endo-1,3(4)- β -glucanase, produzido a partir de *Trichoderma longibrachiatum*. O produto enzimático C é composto por endo-1,4- β -xilanase e endo-1,4- β -glucanase, derivado de fermentação de *Aspergillus niger*, com genes doados por *Talaromyces emersonii* FBG1.

Tabela 1. Composição de ingredientes e nutricional das rações experimentais

Ingrediente (g/kg)	Inicial (1 a 21d)		Crescimento (22 a 35d)	
	CP	CN	CP	CN
Milho	567,40	599,10	611,85	643,59
Farelo de soja	254,87	346,33	170,68	262,34
Soja integral desativada	142,83	19,67	183,83	60,27
Fosfato bicálcico	11,30	11,30	8,92	8,93
Calcário calcítico	11,26	11,26	11,73	11,78
Sal comum	4,50	4,50	4,29	4,29
DL-metionina	2,64	2,64	2,60	2,59
L-lisina HCl	1,47	1,47	2,14	2,21
Premix vit-min ^A	2,00	2,00	2,00	2,00
Cloreto de colina	0,55	0,55	0,45	0,45
Anticoccidiano ^B	0,50	0,50	0,55	0,55
L-treonina	0,49	0,49	0,77	0,81
Inerte (caulim)	0,10	0,10	0,10	0,10
Fitase 10.000 FTU ^C	0,05	0,05	0,05	0,05
Halquinol 60%	0,05	0,05	0,05	0,05
<i>Valores calculados</i>				
EMA, kcal/kg	3.025	2.925	3.125	3.025
PB, %	21,17	21,17	19,17	19,17
Cálcio, %	0,95	0,95	0,90	0,90
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,40	0,40
Sódio, %	0,20	0,20	0,19	0,19
Lisina dig., %	1,16	1,16	1,09	1,09
Metionina dig., %	0,57	0,57	0,54	0,54
Met+Cis dig., %	0,84	0,84	0,79	0,79
Treonina dig., %	0,74	0,74	0,70	0,70
Triptofano dig., %	0,24	0,24	0,21	0,21
Arginina dig., %	1,34	1,33	1,19	1,18
Isoleucina dig., %	0,85	0,85	0,75	0,75
<i>Valores analisados</i>				
PB, %	21,40	21,80	19,80	18,80
Ca, %	1,01	1,04	0,90	0,87
Fósforo total, %	0,68	0,68	0,68	0,68
Matéria mineral, %	6,60	6,44	6,20	5,98

^A Níveis por quilograma de ração: vit. A 9.000,00 UI; vit. D3 2.500,00 UI; vit. E 14,00 UI; vit. K3 2,00 mg; vit. B1 2,50 mg; vit. B2 6,20 mg; vit. B6 4,00 mg; vit. B12 14,00 mcg; niacina 40,00 mg; ác. pantotênico 15,00 mg; ác. fólico 1,00 mg; cobre 10,00 mg; ferro 50,00 mg; iodo 1,20 mg; manganês 80,00 mg; selênio 0,20 mg; zinco 60,00 mg.

^B Nicarbazina (8%) + maduramicina (0,75%), na fase inicial; Salinomycin (12%), na fase de crescimento.

^C Matriz nutricional utilizada na fitase: 0,10% cálcio e 0,10% fósforo disponível.

Manejo das aves

Foram utilizados 1.200 pintos de corte machos de um dia, da linhagem Cobb-500, vacinados no incubatório contra as doenças de Marek, Gumboro e Bouda. As aves foram alojadas em 48 boxes (seis boxes por tratamento e 25 aves por box) de 2,0 m² cada, contendo 10 cm de material novo de maravalha de eucalipto, e equipados com comedouros do tipo tubular e bebedouro nipple. As aves tiveram acesso *ad libitum* à água e ração, durante todo o período experimental.

Coleta de dados

Os dados de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar foram obtidos por meio da pesagem de aves e rações aos dias 1, 7, 21 e 35. A viabilidade foi calculada por meio do controle diário de mortalidade, e o fator de produção (FP), calculado pela fórmula: $FP = ((GPD \times \text{viabilidade}) / (CA)) \times 100$.

A umidade de cama foi determinada aos 35 dias por meio da coleta de material em cinco diferentes pontos dentro de cada box, da camada superficial até o solo, de áreas afastadas da linha de bebedouro e do comedouro. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, homogeneizadas e, imediatamente, duas alíquotas de 70g de cada amostra (duplicata) foram pesadas e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a 105° C por 24 horas (AOAC, 2005). A média da umidade das duas alíquotas de cada box foi utilizada para a análise estatística.

A incidência de lesões de pododermatite no coxim plantar foi analisada em cinco aves por box (30 aves por tratamento) aos 35 dias, utilizando o sistema de escore de cinco pontos validado por Michel et al. (2012). Os escores atribuídos de acordo com a incidência e tipo de lesão foram: 1: sem lesões; 2: lesões hipertróficas e hiperqueratóticas cobertas por exsudatos amarelados a marrom, em menos de 50% da área do coxim plantar (Tipo I); 3: lesões similares ao escore 2, porém em mais de 50% da área do coxim plantar (Tipo I); 4: lesões depressivas ou ulcerativas, com ou sem crosta escurecida, em menos de 50% da área do coxim plantar (Tipo II); 5: lesões similares ao escore 4, porém em mais de 50% da área do coxim plantar (Tipo II).

A coleta de sangue foi realizada aos 35 dias por meio da punção de 5mL da veia ulnar de uma ave por box (seis aves por tratamento). O sangue coletado foi centrifugado a $2.000 \times g$ por 10 minutos para obtenção do plasma para análises bioquímicas (glicose, colesterol, triglicérides, VLDL, ácido úrico e proteína total) por meio de kits comerciais e examinadas em analisador bioquímico automatizado.

Aos 35 dias, duas aves de cada box foram abatidas por deslocamento craniocervical, para a coleta de órgãos e de conteúdo intestinal. Uma das aves foi mantida em jejum por cerca de duas horas antes do abate, para esvaziamento do trato digestivo superior para a coleta de intestinos para análise histomorfométrica (seis aves por tratamento), e a outra recebeu alimentação à vontade para determinação de viscosidade e pH de conteúdo intestinal (seis aves por tratamento).

Segmentos de aproximadamente 2 cm de duodeno, jejuno e íleo de uma ave por box (seis aves por tratamento) foram fixados em formaldeído por 24 horas e posteriormente armazenados em álcool etílico 70% para análises histomorfométricas. Para a confecção das lâminas, as amostras foram desidratadas em série crescente de álcool (70%; 80%; 90%; 100%; 100%; 100%) por 30 minutos cada passagem. Em seguida, as amostras foram diafanizadas em solução álcool:xilol (1:1) por 30 minutos e xilol 100% por 30 minutos, imersas em parafina em estufa a 55° C por 90 minutos e submetidas à microtomia para obtenção de cortes de 5 µm de espessura e coradas com hematoxilina-eosina. Foram realizadas 20 leituras de altura de vilos, largura apical de vilos, largura basal de vilos, profundidade de criptas, e espessura da camada muscular por segmento intestinal com microscópio óptico com objetiva planapocromática 10x. A área de superfície aparente dos vilos foi calculada a partir da equação proposta por Iji et al. (2001):

$$\text{Área de superfície aparente (mm}^2\text{)} = \frac{(\text{largura apical} + \text{largura basal}) \times \text{altura}}{2}$$

O conteúdo de jejuno de uma ave por box (seis aves por tratamento) foi coletado e centrifugado a $3.600 \times g$ por 10 minutos em temperatura ambiente (Jia et al. 2009). O sobrenadante foi coletado e submetido a análise de viscosidade em viscosímetro digital Brookfield (modelo DV-III TLV, Brookfield Engineering Laboratories) equipado com coneplaca CP-40Z e taxa de cisalhamento de $5\text{-}500 \text{ s}^{-1}$.

Os valores de pH dos conteúdos de moela e de duodeno foram determinados em uma ave por box (seis aves por tratamento) de acordo com metodologia recomendada por Morgan et al. (2014). A moela e o duodeno foram removidos intactos, e a probe do peagâmetro inserida diretamente na digesta dentro do lúmen de cada órgão. A medição foi realizada seis vezes em cada órgão, por meio da inserção da probe em diferentes locais dentro de cada órgão, evitando o contato com o epitélio interno. A média dos seis valores foi considerada o pH de cada conteúdo. A cada medição, a probe foi lavada com água destilada, e quando não utilizada, armazenada em solução com pH igual a 4,0.

O peso relativo de fígado, proventrículo, moela e pâncreas foi determinado em duas aves por box (12 aves por tratamento). O peso relativo de duodeno, jejuno e íleo foi avaliado em uma ave por box (seis aves por tratamento), evitando-se a manipulação dos segmentos intestinais das aves em jejum, de forma a minimizar possíveis lesões ao

epitélio utilizado para análise histológica. Órgãos como proventrículo, moela, duodeno, jejuno e íleo foram esvaziados antes de serem pesados. O peso relativo dos órgãos foi determinado pela relação entre peso do órgão e peso corporal da ave.

Análise estatística

Os dados de porcentagem de incidência de lesões de pododermatite foram transformados para valores de arcoseno antes da análise de variância com dois fatores (2×4), e o nível de significância adotado foi de 5%. Os demais dados foram submetidos à análise de variância com dois fatores (2×4) por meio do General Linear Model Procedure do software SAS 9.3 (SAS Institute), e quando significativo ($P < 0,05$), os dados foram comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Não houve interação dos níveis energéticos e a inclusão de diferentes produtos enzimáticos à base de xilanase e β -xilanase sobre os parâmetros avaliados. O fornecimento de dietas CN aumentou o consumo de ração e piorou a conversão alimentar de 1 a 7 dias, em relação à dieta CP (Tabela 2), e prejudicou a conversão alimentar e o ganho de peso de 1 a 21 dias (Tabela 3). Estes resultados demonstram que o desempenho de frangos na primeira semana pode ser prejudicado com a redução de 100 kcal/kg ou mais de energia metabolizável da ração. Shirmohammad e Mehri (2011) observaram queda de desempenho de frangos de corte nas primeiras semanas de vida quando as dietas foram reduzidas em 120 kcal/kg, de 3.100 kcal/kg para 2.980 kcal/kg. Rabie et al. (2010) também encontraram resultados semelhantes, quando o fornecimento de dietas com teor de energia metabolizável foi reduzido em 200 kcal/kg – 2.900 kcal/kg para 2.700 kcal/kg - piorou a conversão alimentar de frangos de corte.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte, de 1 a 7 dias, alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	GP (g)	CR (g)	CA	VB (%)
CP (3025 / 3125)		108	128b	1,191b	99,33
CN (2925 / 3025)		109	134a	1,234a	99,66
	A	109	132	1,218	99,66
	B	109	131	1,205	100,00
	C	107	128	1,200	99,00
	Sem	109	134	1,228	99,33
CP (3025 / 3125)	A	107	131	1,221	99,33
CP (3025 / 3125)	B	109	128	1,188	100,00
CP (3025 / 3125)	C	107	124	1,155	98,66
CP (3025 / 3125)	Sem	109	130	1,201	99,33
CN (2925 / 3025)	A	110	133	1,216	100,00
CN (2925 / 3025)	B	109	134	1,219	100,00
CN (2925 / 3025)	C	106	132	1,246	99,33
CN (2925 / 3025)	Sem	110	137	1,256	99,33
EPM		0,45	0,92	0,01	0,18
<i>Probabilidade</i>					
EM		0,540	0,005	0,011	0,484
Enzima		0,274	0,252	0,562	0,484
EM vs. Enzima		0,626	0,817	0,188	0,920

EPM: erro padrão das médias;

^{a,b}: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (P<0,05);

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte, de 1 a 21 dias, alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	GP (g)	CR (g)	CA	VB (%)
CP (3025 / 3125)		806a	1179	1,461b	98,83
CN (2925 / 3025)		783b	1203	1,547a	97,83
	A	793	1190	1,504	99,32
	B	797	1195	1,506	98,33
	C	786	1182	1,511	97,33
	Sem	802	1198	1,494	98,33
CP (3025 / 3125)	A	805	1187	1,479	98,64
CP (3025 / 3125)	B	815	1189	1,463	98,66
CP (3025 / 3125)	C	794	1143	1,431	98,66
CP (3025 / 3125)	Sem	810	1198	1,470	99,33
CN (2925 / 3025)	A	781	1194	1,530	100,00
CN (2925 / 3025)	B	779	1201	1,549	98,00
CN (2925 / 3025)	C	778	1221	1,590	96,00
CN (2925 / 3025)	Sem	794	1198	1,520	97,33
EPM		3,60	7,97	0,01	0,33
<i>Probabilidade</i>					
EM		0,002	0,176	<0,001	0,204
Enzima		0,414	0,922	0,956	0,355
EM vs. Enzima		0,717	0,380	0,270	0,277

EPM: erro padrão das médias;

^{a,b}: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

Considerando-se o período total de criação (Tabela 4), o fornecimento de dietas CN prejudicou o desempenho das aves e o fator de produção. Segundo Ferreira et al. (2015), a redução do nível energético da dieta para até 3.000 kcal/kg não prejudica o peso corporal de frangos de corte machos e fêmeas.

A ausência de benefícios pela inclusão de enzimas que degradam PNAs nas dietas pode estar relacionada ao baixo conteúdo de substratos (PNAs) em dietas à base de milho, cereal de baixa viscosidade. Além disso, a suplementação de apenas xilanase e β -glucanase, pode justificar a ausência de efeitos. Cowieson e Adeola (2005) observaram que a suplementação de xilanase, protease e amilase em dietas à base de milho, contendo 15% de centeio, cereal de alta viscosidade, melhorou o desempenho de frangos alimentados com dietas com redução de 180kcal/kg de EM. Outro fator que pode ter influenciado na ausência de benefícios promovidos pela suplementação enzimática é a presença de antibiótico e anticoccidiano nas dietas, uma vez que estes aditivos melhoram a saúde intestinal e favorecem ainda mais o desempenho produtivo de frangos, restando menor potencial para incrementos quando se suplementa enzimas exógenas. Gehring et al. (2013) também não observaram efeitos da suplementação de xilanase em dietas à base

de milho sobre o desempenho de frangos quando as dietas também apresentavam salinomicina em sua composição. Além disso, Montanhini Neto et al. (2017) recomendam o uso da tecnologia de NIRS para análise das rações quando se utiliza carboidrase, ao invés do uso de tabelas como referência, de forma a ajustar corretamente o nível energético e nutricional de acordo com o produto enzimático, gerando assim benefícios de desempenho.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 35 dias alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	GP (g)	CR (g)	CA	FP ²	VB (%)
CP (3025 / 3125)		2137a	3374	1,586b	377a	98,00
CN (2925 / 3025)		2074b	3395	1,648a	349b	97,16
	A	2079	3352	1,623	358	97,65
	B	2107	3408	1,627	363	98,00
	C	2105	3360	1,608	362	96,68
	Sem	2130	3418	1,611	371	98,00
CP (3025 / 3125)	A	2111	3361	1,606	363	96,64
CP (3025 / 3125)	B	2148	3421	1,598	379	98,66
CP (3025 / 3125)	C	2115	3297	1,563	379	98,03
CP (3025 / 3125)	Sem	2173	3416	1,577	389	98,66
CN (2925 / 3025)	A	2047	3342	1,640	352	98,66
CN (2925 / 3025)	B	2066	3395	1,656	347	97,33
CN (2925 / 3025)	C	2094	3424	1,653	345	95,33
CN (2925 / 3025)	Sem	2087	3419	1,645	353	97,33
EPM		8,39	16,29	0,01	2,86	0,41
<i>Probabilidade</i>						
EM		<0,01	0,566	<0,01	<0,01	0,392
Enzima		0,177	0,475	0,603	0,318	0,739
EM vs. Enzima		0,475	0,414	0,377	0,260	0,364

² Fator de produção = ((ganho de peso diário (kg) × viabilidade (%)) / (conversão alimentar)) × 100;

EPM: erro padrão das médias;

^{a,b}: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (P<0,05);

A histomorfometria de duodeno, jejuno e íleo não foi afetada pelas dietas experimentais (Tabelas 5, 6 e 7).

As vilosidades apresentam papel importante nos processos de digestão e absorção de nutrientes, uma vez que exercem o primeiro contato com os nutrientes no lúmen intestinal. O aumento da altura das vilosidades sugere um aumento na área de superfície de absorção de nutrientes, enquanto uma maior profundidade de criptas indica uma aceleração no processo de substituição e *turnover* de enterócitos, resultando em maior demanda nutricional para o tecido intestinal (Fan et al. 1997).

Sabe-se que dietas contendo elevado conteúdo de PNAs podem afetar diretamente a morfologia intestinal de monogástricos, reduzindo a altura das vilosidades ou aumentando a profundidade de criptas (Viveros et al. 1994; Montagne et al. 2003). A suplementação enzimática pode favorecer o aumento da altura de vilosidades em dietas à base de cereais ricos em PNAs, como o trigo, porém pode não apresentar efeitos quando suplementadas em dietas à base de milho, cereal com baixo conteúdo de PNAs, segundo estudo realizado por Shakouri et al. (2009). Apperson e Cherian (2017) demonstraram que a relação entre altura de vilo e profundidade de cripta do intestino de frangos alimentados com dietas à base de milho, contendo 10% de linhaça, aumenta com a suplementação de enzimas que degradam PNAs. No presente estudo, a ausência de efeitos das enzimas que degradam PNAs sobre a morfometria intestinal pode estar relacionada à baixa quantidade de substratos para as enzimas exógenas em dietas à base de milho e soja.

Tabela 5. Histomorfometria de duodeno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Altura de vilo (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Área de superfície (μm^2)	V/C ¹	Camada muscular (μm)
CP (3025 / 3125)		1367	177	278,8	7,84	208
CN (2925 / 3025)		1327	165	242,2	8,09	200
	A	1317	166	274,8	8,09	197
	B	1282	159	230,5	8,04	193
	C	1414	171	255,4	8,06	217
	Sem	1383	187	281,4	7,67	208
CP (3025 / 3125)	A	1327	163	275,2	8,29	198
CP (3025 / 3125)	B	1318	173	260,4	7,45	200
CP (3025 / 3125)	C	1395	180	278,5	7,81	218
CP (3025 / 3125)	Sem	1430	193	301,1	7,81	216
CN (2925 / 3025)	A	1306	170	274,3	7,90	197
CN (2925 / 3025)	B	1247	147	200,6	8,64	187
CN (2925 / 3025)	C	1437	163	232,2	8,31	216
CN (2925 / 3025)	Sem	1336	181	261,8	7,52	199
EPM		28,83	4,76	0,01	0,19	5,22
<i>Probabilidade</i>						
EM		0,605	0,311	0,155	0,541	0,526
Enzima		0,512	0,423	0,491	0,862	0,555
EM vs. Enzima		0,902	0,797	0,861	0,477	0,961

¹ Relação entre altura de vilo e profundidade de cripta;
EPM: erro padrão das médias;

Tabela 6. Histomorfometria de jejuno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Altura de vilo (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Área de superfície (μm^2)	V/C ¹	Camada muscular (μm)
CP (3025 / 3125)		1116	149	206,8	7,55	198
CN (2925 / 3025)		1122	143	211,4	7,90	186
	A	1070	135	194,9	8,06	188
	B	1107	153	204,4	7,31	198
	C	1137	147	219,8	7,76	190
	Sem	1163	149	217,3	7,78	190
CP (3025 / 3125)	A	1070	139	199,2	7,88	203
CP (3025 / 3125)	B	1112	154	205,1	7,29	208
CP (3025 / 3125)	C	1112	144	215,4	7,69	183
CP (3025 / 3125)	Sem	1172	159	207,6	7,36	197
CN (2925 / 3025)	A	1070	131	190,6	8,24	173
CN (2925 / 3025)	B	1103	151	203,8	7,33	188
CN (2925 / 3025)	C	1161	151	224,2	7,83	197
CN (2925 / 3025)	Sem	1155	137	227,1	8,21	184
EPM		21,46	2,78		0,15	4,10
<i>Probabilidade</i>		0,911	0,310		0,298	0,199
EM		0,633	0,269	0,755	0,460	0,863
Enzima		0,971	0,483	0,592	0,824	0,350
EM vs. Enzima		0,392	0,736	0,911	0,420	0,867

¹ Relação entre altura de vilo e profundidade de cripta;
EPM: erro padrão das médias;

Tabela 7. Histomorfometria de íleo de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Altura de vilo (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Área de superfície (μm^2)	V/C ¹	Camada muscular (μm)
CP (3025 / 3125)		663	138	110,3	5,03	246
CN (2925 / 3025)		696	146	99,5	4,90	242
	A	674	131	105,3	5,33	238
	B	653	145	94,3	4,78	251
	C	680	141	109,9	4,90	247
	Sem	715	152	111,7	4,84	239
CP (3025 / 3125)	A	675	130	107,4	5,46	243
CP (3025 / 3125)	B	580	146	75,3	4,55	263
CP (3025 / 3125)	C	646	140	103,9	4,67	253
CP (3025 / 3125)	Sem	750	135	111,4	5,53	221
CN (2925 / 3025)	A	672	132	103,3	5,19	234
CN (2925 / 3025)	B	713	144	110,1	5,02	239
CN (2925 / 3025)	C	713	143	116,0	5,13	242
CN (2925 / 3025)	Sem	685	165	111,9	4,26	255
EPM		18,74	3,85		0,13	5,91
<i>Probabilidade</i>						
EM		0,479	0,403	0,269	0,613	0,883
Enzima		0,761	0,556	0,519	0,594	0,892
EM vs. Enzima		0,476	0,647	0,497	0,165	0,554

¹ Relação entre altura de vilo e profundidade de cripta;
EPM: erro padrão das médias;

Não houve efeito do nível energético da ração ou da suplementação de enzimas sobre viscosidade do conteúdo do jejuno, pH de duodeno e pH de moela (Tabela 8).

De acordo com estudo conduzido por Jia et al. (2009), a inclusão de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho não afeta a viscosidade de conteúdo intestinal de frangos, porém reduz este parâmetro em aves alimentadas com dietas à base de trigo. Desta forma, é possível que o baixo conteúdo de PNAs nas dietas do presente estudo não elevou a viscosidade da digesta, uma vez que os valores encontrados para a viscosidade de conteúdo de jejuno (1,97 cPs a 2,12 cPs) são considerados baixos. É provável que valores de viscosidade de digesta menores que 10 cPs não prejudiquem o desempenho de frangos de corte (Bedford e Schulze 1998).

Garcia et al. (2008) observaram que a viscosidade do conteúdo intestinal de frangos diminui com o avançar da idade, até os 42 dias, sugerindo que as aves podem se adaptar rapidamente ao conteúdo de PNAs da dieta. Desta forma, é possível que as aves

do presente estudo, aos 35 dias, já tenham se adaptado a qualquer possível efeito de aumento de viscosidade causado pelos PNAs solúveis da dieta. Gao et al. (2008) concluíram que a suplementação com enzimas que degradam PNAs em dietas à base de trigo reduz a viscosidade do conteúdo do jejuno aos 21 dias (2,6 cPs vs. 1,9 cPs), porém não apresenta efeito aos 49 dias, uma vez que a viscosidade se mantém baixa em aves mais velhas.

Os valores de pH dos conteúdos de duodeno e moela não foram afetados pelo nível de energia ou pela suplementação enzimática. Resultados semelhantes foram encontrados por Esmaeilipour et al. (2011). Gao et al. (2008), ao suplementarem xilanase em dietas à base de trigo para frangos, observaram aumento no pH de papo, duodeno e jejuno. A maior concentração de PNAs solúveis do trigo pode levar ao aumento da viscosidade da digesta (Choct e Annison 1992), o que por sua vez altera a microbiota presente no trato digestivo superior, por tornar-se um ambiente favorável à proliferação de bactérias, aumentando assim a produção de AGV neste segmento e, consequentemente, reduzindo o pH do conteúdo (Hume et al. 1992). Desta forma, a suplementação de xilanase em dietas com teor elevado de cereais viscosos pode aumentar o pH no trato digestivo superior, porém pode não apresentar efeitos quando adicionada a dietas à base de milho, como no presente estudo, devido ao baixo conteúdo de PNAs solúveis e ausência de efeito sobre a viscosidade.

Tabela 8. Viscosidade de conteúdo de jejuno e pH de moela e duodeno de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Viscosidade de conteúdo de jejuno (cPs)	pH de moela	pH de duodeno
CP (3025 / 3125)		2,12	2,95	6,03
CN (2925 / 3025)		1,97	2,89	6,03
	A	2,03	2,89	6,06
	B	2,12	2,68	6,04
	C	1,98	3,07	6,04
	Sem	2,06	3,03	5,98
CP (3025 / 3125)	A	2,11	2,97	6,07
CP (3025 / 3125)	B	2,19	2,94	6,01
CP (3025 / 3125)	C	2,02	3,03	6,03
CP (3025 / 3125)	Sem	2,17	2,85	6,03
CN (2925 / 3025)	A	1,95	2,82	6,06
CN (2925 / 3025)	B	2,06	2,42	6,06
CN (2925 / 3025)	C	1,93	3,12	6,06
CN (2925 / 3025)	Sem	1,95	3,22	5,94
EPM		0,03	0,02	0,07
<i>Probabilidade</i>				
EM		0,071	0,765	0,875
Enzima		0,316	0,361	0,436
EM vs. Enzima		0,819	0,295	0,537

EPM: erro padrão das médias;

O peso relativo de órgãos e a umidade de cama não foram afetados pelas dietas experimentais (Tabela 9).

A ausência de efeitos sobre o peso relativo de órgãos como fígado, proventrículo, moela, duodeno, jejuno e íleo está relacionada com o baixo conteúdo de PNAs nas dietas. De acordo com Mazhari et al. (2015), a inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase pode afetar o peso relativo de órgãos do trato digestivo de frangos apenas quando parte do milho da dieta é substituída por trigo, cereal rico em PNAs.

Estudos indicam que o fornecimento de dietas à base de milho e soja não eleva a viscosidade da digesta das aves (Jia et al. 2009) e, portanto, não afeta a umidade da excreta devido ao baixo conteúdo de PNAs solúveis destes alimentos. Os resultados de viscosidade de digesta de jejuno do presente estudo confirmam a baixa viscosidade do milho. Em estudos conduzidos por Cengiz et al. (2012), a inclusão de carboidrases em dietas à base de milho também não afetou a umidade de cama. Dietas contendo cereais

viscosos, como trigo, podem elevar a viscosidade da digesta e a umidade de excreta de frangos, e a suplementação destas dietas com enzimas que degradam PNAs, como xilanase, pode reduzir este efeito negativo, melhorando assim a qualidade da cama (Bedford 1995).

Tabela 9. Peso relativo de órgãos (% do peso vivo) e umidade de cama (%) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Fígado	Prov.	Moela	Pâncreas	Duodeno	Jejuno	Íleo	Umidade de cama
CP (3025 / 3125)		1,799	0,302	1,491	0,203	0,515	1,107	1,032	21,49
CN (2925 / 3025)		1,840	0,296	1,465	0,200	0,493	1,069	0,977	22,28
	A	1,851	0,299	1,456	0,201	0,482	1,103	1,016	22,66
	B	1,795	0,299	1,489	0,193	0,526	1,052	1,040	21,99
	C	1,849	0,296	1,476	0,204	0,477	1,073	0,961	21,77
	Sem	1,783	0,301	1,491	0,208	0,530	1,122	0,994	21,12
CP (3025 / 3125)	A	1,812	0,314	1,485	0,195	0,490	1,118	1,040	21,45
CP (3025 / 3125)	B	1,830	0,292	1,457	0,198	0,538	1,095	1,120	21,25
CP (3025 / 3125)	C	1,820	0,304	1,479	0,205	0,494	1,103	0,957	23,21
CP (3025 / 3125)	Sem	1,729	0,297	1,542	0,215	0,538	1,111	0,998	20,07
CN (2925 / 3025)	A	1,889	0,285	1,428	0,207	0,474	1,088	0,992	23,87
CN (2925 / 3025)	B	1,760	0,305	1,520	0,189	0,515	1,000	0,960	22,74
CN (2925 / 3025)	C	1,879	0,287	1,474	0,202	0,461	1,044	0,964	20,33
CN (2925 / 3025)	Sem	1,833	0,304	1,440	0,201	0,521	1,133	0,991	22,17
EPM		0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,02	0,02	0,44
<i>Probabilidade</i>									
EM		0,584	0,437	0,493	0,475	0,418	0,237	0,237	0,487
Enzima		0,761	0,975	0,903	0,310	0,378	0,433	0,618	0,805
EM vs. Enzima		0,821	0,225	0,420	0,338	0,996	0,663	0,516	0,289

EPM: erro padrão das médias;

^{a,b}: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

A incidência de lesões de pododermatite no coxim plantar não foi afetada pelas dietas experimentais (Tabela 10).

A ausência de efeito das xilanases sobre a incidência de lesões de pododermatite pode ser explicada pelos baixos valores encontrados para a umidade de cama, uma vez que a umidade de cama está diretamente relacionada à incidência e gravidade deste tipo de lesão em frangos de corte, especialmente nas fases finais de criação (Francesch e Brufau 2004).

A pododermatite pode ser influenciada pela presença de PNAs solúveis na dieta, uma vez que estes compostos podem aumentar a viscosidade da excreta (Shepherd and Fairchild 2010). No presente estudo, os valores de viscosidade de conteúdo de jejuno

foram baixos, além de não terem sido afetados pela suplementação enzimática, justificando a ausência de efeitos das dietas experimentais. Gonzalez-Ortiz et al. (2017), mesmo utilizando dietas à base de trigo, também não observaram efeitos da suplementação de xilanase sobre a incidência de lesões de pododermatite em frangos, atribuindo a ausência de efeitos à baixa densidade de alojamento e à boa qualidade da cama utilizada, medidas também adotadas no presente estudo.

Tabela 10. Incidência de lesões de pododermatite no coxim plantar (%) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Escore de lesão						Tipo I	Tipo II
		1	2	3	4	5	≥ 2		
CP (3025 / 3125)		38,33	35,83	9,16	15,00	1,66	62,50	42,50	15,83
CN (2925 / 3025)		42,50	30,00	9,16	15,83	2,50	60,00	41,66	18,33
	A	30,00	45,00	5,00	16,60	3,30	73,30	53,30	20,00
	B	46,60	25,00	10,00	16,60	1,66	53,30	35,00	18,30
	C	35,00	38,33	10,00	16,60	0,00	71,66	48,30	15,00
	Sem	50,00	23,30	11,60	11,66	3,30	46,60	31,66	15,00
CP (3025 / 3125)	A	36,60	53,30	0,00	10,00	0,00	63,30	53,30	10,00
CP (3025 / 3125)	B	46,60	20,00	6,60	26,60	0,00	53,30	26,60	26,60
CP (3025 / 3125)	C	23,30	46,60	16,60	13,30	0,00	83,30	56,60	10,00
CP (3025 / 3125)	Sem	46,60	23,30	13,30	10,00	6,60	50,00	33,00	16,60
CN (2925 / 3025)	A	23,30	36,60	10,00	23,30	6,60	83,30	53,30	30,00
CN (2925 / 3025)	B	46,60	30,00	13,30	6,60	3,30	53,30	43,30	10,00
CN (2925 / 3025)	C	46,60	30,00	3,30	20,00	0,00	60,00	40,00	20,00
CN (2925 / 3025)	Sem	53,30	23,30	10,00	13,30	0,00	43,30	30,00	13,30
EPM		3,97	3,50	2,14	2,74	1,07	4,43	4,54	3,21
<i>Probabilidade</i>									
EM		0,535	0,326	0,997	0,848	0,691	0,677	0,281	0,629
Enzima		0,199	0,085	0,727	0,887	0,648	0,473	0,497	0,868
EM vs. Enzima		0,476	0,360	0,243	0,179	0,172	0,491	0,333	0,239

EPM: erro padrão das médias;

Escore de lesão avaliados segundo Michel et al. (2012). Escores: 1: sem lesões; 2: lesões hipertróficas e hiperqueratóticas cobertas por exsudatos amarelados a marrom, em menos de 50% da área do coxim plantar (Tipo I); 3: lesões similares ao escore 2, porém em mais de 50% da área do coxim plantar (Tipo I); 4: lesões depressivas ou ulcerativas, com ou sem crosta escurecida, em menos de 50% da área do coxim plantar (Tipo II); 5: lesões similares ao escore 4, porém em mais de 50% da área do coxim plantar (Tipo II).

Os níveis plasmáticos de glicose, colesterol, triglicerídeos, proteína total, ácido úrico e VLDL não foram afetados pelas dietas experimentais.

Diversos fatores nutricionais podem exercer efeitos sobre o metabolismo intermediário, modificando assim alguns parâmetros metabólicos nas aves (Swennen et al. 2005). Resultados semelhantes foram encontrados por Gao et al. (2008), quando os níveis de glicose de frangos não foram afetados pelo fornecimento de enzimas que degradam PNAs.

Manwar e Mandal (2009) também não observaram diferenças nos níveis sanguíneos de colesterol, triglicerídeos e ácido úrico de frangos de corte recebendo dietas à base de milho ou sorgo, cereais com baixo conteúdo de PNAs, e suplementação de carboidrases. Diferentemente dos resultados encontrados no presente estudo, alguns autores demonstram que a suplementação de enzimas que degradam PNAs pode elevar o nível de colesterol e triglicerídeos sanguíneos em dietas à base de milho, porém contendo trigo em sua composição (Hajati et al. 2009; Mazhari et al. 2015). É provável que algumas fibras tenham capacidade de se ligar aos ácidos biliares, aumentando assim a excreção destes ácidos (Adrizal e Ohtani 2002). Como o colesterol é precursor destes compostos, os níveis plasmáticos de colesterol são reduzidos com a maior inclusão de fibra nas dietas (Mazhari et al. 2015). No entanto, a suplementação de enzimas que degradam PNAs pode minimizar este efeito, por degradar parte das fibras, e, assim, elevar os níveis sanguíneos de colesterol. Portanto, a ausência de efeitos da suplementação de xilanase sobre os níveis de colesterol e triglicerídeos pode estar relacionada à baixa concentração de PNAs nas dietas à base de milho utilizadas no presente estudo.

Tabela 11. Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL), colesterol (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), proteína total (g/dL), ácido úrico (mg/dL) e VLDL (mg/dL) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis variáveis de energia, suplementadas ou não com diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase

EM (kcal/kg)	Enzima	Glicose	Colesterol	Triglicerídeos	Proteína total	Ácido úrico	VLDL
CP (3025 / 3125)		261,26	121,80	63,71	2,90	4,60	12,74
CN (2925 / 3025)		265,73	123,17	64,43	2,84	4,94	12,89
	A	262,64	120,65	66,07	2,87	4,75	13,21
	B	263,36	120,93	67,59	2,85	4,70	13,52
	C	261,05	125,37	63,96	2,81	4,86	12,79
	Sem	266,93	123,19	57,57	2,96	4,77	11,51
CP (3025 / 3125)	A	261,50	123,00	70,96	2,90	4,56	14,19
CP (3025 / 3125)	B	265,60	120,63	62,42	2,91	4,84	12,48
CP (3025 / 3125)	C	255,60	121,08	63,44	2,76	4,33	12,69
CP (3025 / 3125)	Sem	262,33	122,50	56,85	3,02	4,66	11,37
CN (2925 / 3025)	A	263,78	118,29	61,18	2,84	4,94	12,24
CN (2925 / 3025)	B	261,12	121,22	72,75	2,78	4,56	14,55
CN (2925 / 3025)	C	266,50	130,52	64,48	2,86	5,39	12,90
CN (2925 / 3025)	Sem	271,53	123,88	58,30	2,89	4,88	11,66
EPM		1,62	1,94	2,35	0,03	0,18	0,47
<i>Probabilidade</i>							
EM		0,175	0,684	0,876	0,392	0,361	0,876
Enzima		0,626	0,802	0,517	0,451	0,992	0,517
EM vs. Enzima		0,329	0,688	0,523	0,541	0,643	0,523

EPM: erro padrão das médias;

Portanto, a inclusão de diferentes produtos enzimáticos compostos por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e soja não afeta o desempenho e a qualidade intestinal de frangos de corte, independente do nível energético das rações.

Referências

- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC International, 2005.
- Adrizal, and Ohtani, S. 2002. Defatted rice bran nonstarch polysaccharides in broiler diets: effects of supplements on nutrient digestibilities. J. Poult. Sci. **39**: 67–76.
- Apperson, K.D., and Cherian, G. 2017. Effect of whole flax seed and carbohydrase enzymes on gastrointestinal morphology, muscle fatty acids, and production performance in broiler chickens. Poult. Sci. **96**: 1228-1234. doi:10.3382/ps/pew371.

- Bedford, M.R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Anim. Feed Sci. Technol.* **53**: 145–155. doi:10.1016/0377-8401(95)02018-U.
- Bedford, M.R., and Schulze, H. 1998. Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutr. Res. Rev.* **11**: 91–114. doi:10.1079/NRR19980007.
- Cengiz, Ö., Hess, J.B., and Bilgili, S.F. 2012. Feed enzyme supplementation does not ameliorate foot pad dermatitis in broiler chickens fed on a corn-soyabean diet. *Br. Poult. Sci.* **53**: 401–407. doi:10.1080/00071668.2012.711467.
- Choct, M. 2006. Enzymes for the feed industry: past, present and future. *Worlds. Poult. Sci. J.* **62**: 5–16. doi:10.1079/WPS200480.
- Choct, M., and Annison, G.C. 1992. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: Roles of viscosity and gut microflora. *Br. Poult. Sci.* **33**: 821–834. doi:10.1080/00071669208417524.
- Cowieson, A.J., and Adeola, O. 2005. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poult. Sci.* **84**: 1860–1867.
- Cowieson, A.J., Schliffka, W., Knap, I., Roos, F.F., Schoop, R., and Wilson, J.W. 2016. Meta-analysis of effect of a mono-component xylanase on the nutritional value of wheat supplemented with exogenous phytase for broiler chickens. *Anim. Prod. Sci.* **56**: 2014–2022. doi:10.1071/AN15199.
- Esmailipour, O., Shivazad, M., Moravej, H., Aminzadeh, S., Rezaian, M., and van Krimpen, M.M. 2011. Effects of xylanase and citric acid on the performance, nutrient retention, and characteristics of gastrointestinal tract of broilers fed low-phosphorus wheat-based diets. *Poult. Sci.* **90**: 1975–1982. doi:10.3382/ps.2010-01264.
- Fan, Y.K., Croom, J., Christensen, V.L., Black, B.L., and Bird, A.R. 1997. Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poult selected for rapid growth. *Poult. Sci.* **76**: 1738–1745.
- Ferreira, S., Franke, I.M., Ii, P., Garcia, M., and Ii, N. 2015. Accurate adjustment of energy level in broiler chickens diet for controlling the performance and the lipid composition of meat. *Ciência Rural* **45**: 104–110.
- Francesch, M., and Brufau, J. 2004. Nutritional factors affecting excreta/litter moisture and quality. *Worlds. Poult. Sci. J.* **60**: 64–75. doi:10.1079/WPS20035.
- Gao, F., Jiang, Y., Zhou, G.H., and Han, Z.K. 2008. The effects of xylanase

- supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* **142**: 173–184. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.07.008.
- Garcia, M., Lazaro, R., Latorre, M.A., Gracia, M.I., and Mateos, G.G. 2008. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. *Poult. Sci.* **87**: 940–948. doi:10.3382/ps.2007-00266.
- Gehring, C.K., Bedford, M.R., and Dozier, W.A. 2013. Extra-phosphoric effects of phytase with and without xylanase in corn-soybean meal-based diets fed to broilers. *Poult. Sci.* **92**: 979–991. doi:10.3382/ps.2012-02769.
- Gonzalez-Ortiz, G., Sola-Oriol, D., Martinez-Mora, M., Perez, J.F., and Bedford, M.R. 2017. Response of broiler chickens fed wheat-based diets to xylanase supplementation. *Poult. Sci.* **96**: 2776–2785. doi:10.3382/ps/pex092.
- Hajati, H., Rezaei, M., and Sayyazadeh, H. 2009. The effects of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics and some blood parameters of broilers fed on corn-soybean meal-wheat diets. *Int. J. Poult. Sci.* **8**: 1199–1205. doi:10.3923/ijps.2009.1199.1205.
- Hume, M.E., Kubena, L.F., Beier, R.C., Corrier, D.E., and Deloach, J.R. 1992. Fermentation of [¹⁴C]lactose in broiler chicks by cecal anaerobes. *Poult. Sci.* **71**: 1464–1470.
- Iji, P.A., Saki, A., and Tivey, D.R. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet². Development and characteristics of intestinal enzymes. *Br. Poult. Sci.* **42**: 514–522. doi:10.1080/00071660120073142.
- Jia, W., Slominski, B.A., Bruce, H.L., Blank, G., Crow, G., and Jones, O. 2009. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poult. Sci.* **88**: 132–140. doi:10.3382/ps.2008-00204.
- Manwar, S.J., and Mandal, A.B. 2009. Effect of reconstitution of sorghum with or without enzymes on production performance and immunocompetence in broiler chicken. *J. Sci. Food Agric.* **89**: 998–1005. doi:10.1002/jsfa.3546.
- Mathlouthi, N., Lallès, J.P., Lepercq, P., Juste, C., and Larbier, M. 2002. Xylanase and β -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. *J. Anim. Sci.* **80**: 2773–2779. doi:/2002.80112773x.

- Mazhari, M., Golian, A., and Kermanshahi, H. 2015. Effect of corn replacement with graded levels of wheat screening and enzyme supplementation on performance, blood lipids, viscosity and jejunal histomorphology of finisher broilers. *Spanish J. Agric. Res.* **13**: 1–9. doi:10.5424/sjar/2015131-5416.
- Michel, V., Prampart, E., Mirabito, L., Allain, V., Arnould, C., Huonnic, D., Le Bouquin, S., and Albaric, O. 2012. Histologically-validated footpad dermatitis scoring system for use in chicken processing plants. *Br. Poult. Sci.* **53**: 275–281. doi:10.1080/00071668.2012.695336.
- Montagne, L., Pluske, J., and Hampson, D. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Technol.* **108**: 95–117. doi:10.1016/S0377-8401(03)00163-9.
- Montanhini Neto, R., N’Guetta, E., Gady, C., Francesch, M., and Preynat, A. 2017. Combined effect of using near-infrared spectroscopy for nutritional evaluation of feed ingredients and non-starch polysaccharide carbohydrase complex on performance of broiler chickens. *Anim. Sci. J.* **88**: 1979–1986. doi:10.1111/asj.12822.
- Morgan, N.K., Walk, C.L., Bedford, M.R., and Burton, E.J. 2014. The effect of dietary calcium inclusion on broiler gastrointestinal pH: Quantification and method optimization. *Poult. Sci.* **93**: 354–363. doi:10.3382/ps.2013-03305.
- Paloheimo, M., Piironen J., and Vehmaanperä, J. 2011. Xylanases and celulasas as feed additives. Pages 12-53 in M.R. Bedford and G.G. Patridge, eds. *Enzymes in farm animal nutrition*, 2nd edition. CAB International.
- Rabie, M.H., Ismail, F.S.A., and Kh, S.S. 2010. Effect of dietary energy level with probiotic and enzyme addition on performance, nutrient digestibility and carcass traits of broilers. *Egypt. Poult. Sci.* **30**: 179–201.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F. 2011. *Brazilian tables for poultry and swine: feed composition and nutritional requirements*. 3rd ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil. 119pp.
- Shakouri, M.D., Iji, P.A., Mikkelsen, L.L., and Cowieson, A.J. 2009. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* **93**: 647–658. doi:10.1111/j.1439-0396.2008.00852.x.

- Shepherd, E.M., and Fairchild, B.D. 2010. Footpad dermatitis in poultry. *Poult. Sci.* **89**: 2043–2051. doi:10.3382/ps.2010-00770.
- Shirmohammad, F., and Mehri, M. 2011. Effects of dietary supplementation of multi-enzyme complex on the energy utilization in rooster and performance of broiler chicks. *African J. Biotechnol.* **10**: 7541–7547. doi:10.5897/AJB10.2260.
- Swennen, Q., Janssens, G.P.J., Millet, S., Vansant, G., Decuypere, E., and Buyse, J. 2005. Effects of substitution between fat and protein on feed intake and its regulatory mechanisms in broiler chickens: endocrine functioning and intermediary metabolism. *Poult. Sci.* **84**: 1051–1057.
- Viveros, A., Brenes, A., Pizarro, M., and Castaño, M. 1994. Effect of enzyme supplementation of a diet based on barley, and autoclave treatment, on apparent digestibility, growth performance and gut morphology of broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* **48**: 237–251. doi:10.1016/0377-8401(94)90175-9.
- Zhou, Y., Jiang, Z., Lv, D., and Wang, T. 2009. Improved energy-utilizing efficiency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. *Poult. Sci.* **88**: 316–322. doi:10.3382/ps.2008-00231.

CAPÍTULO III

EFEITOS DO USO DE XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS À BASE DE MILHO PARA FRANGOS DE CORTE SOBRE CINÉTICA INTESTINAL, ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E PERFIL TÉRMICO DO CECO

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de um produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho e soja com dois níveis de energia para frangos de corte, sobre desempenho, concentração de ácidos graxos de cadeia curta, pH e perfil térmico dos cecos, digestibilidade ileal de energia e proteína e cinética intestinal. Foram utilizados 744 pintos machos, alojados em 24 boxes e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema 2×2 – dois níveis de energia $\times$ ausência ou inclusão de 100 gramas do produto enzimático por tonelada de ração. A suplementação enzimática melhorou o ganho de peso de 1 a 7, e de 1 a 21 dias, porém não afetou o desempenho de 1 a 35 dias. Frangos alimentados com dieta de baixa energia apresentaram maior concentração cecal de ácido acético quando suplementados com enzima. O fornecimento de dietas de baixa energia reduziu o pH do conteúdo cecal e aumentou a temperatura média dos cecos. A digestibilidade ileal de energia foi maior em frangos alimentados com dietas contendo xilanase, e de proteína e energia maiores com o fornecimento de dietas de alta energia. A inclusão do produto enzimático aumentou o tempo médio de retenção (TMR) no íleo distal, e o fornecimento de dietas de baixa energia reduziu o TMR no jejuno distal. Assim, a inclusão de um produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas à base de milho favorece o ganho de peso de frangos de corte apenas nas três primeiras semanas de vida, e aumenta o tempo médio de retenção no íleo distal e melhora a digestibilidade ileal de energia, independente do nível energético da ração.

Palavras-chave: carboidrases, enzimas que degradam PNAs, termografia

Introdução

O uso de enzimas que degradam polissacarídeos não amiláceos (PNAs) em dietas para frangos é uma prática em ascensão e relativamente comum, especialmente em dietas à base de cereais viscosos, isto é, ricos em PNAs solúveis, como trigo, cevada e centeio (Viveros et al., 1994; Shakouri et al. 2009). Mais recentemente, estudos com o uso destas enzimas em dietas à base de milho têm sido bastante explorados por pesquisadores. No entanto, estes estudos mostram resultados contraditórios quando se trata de eficiência e benefícios gerados pela inclusão de enzimas que degradam PNAs nas dietas (Cengiz et al., 2012; Coppedge et al., 2012; Gehring et al., 2013).

Um dos fatores-chave para se obter benefícios pela inclusão de enzimas que degradam PNAs é o nível energético da dieta, que caso não seja ajustado corretamente pode suprimir os efeitos gerados pelo uso de enzimas (Zakaria et al., 2008; Zhou et al., 2009).

Além de ter a capacidade de reduzir a viscosidade do conteúdo alimentar, as enzimas que degradam PNAs podem reduzir o efeito de encapsulamento de nutrientes (Khadem et al., 2016) gerado pela ineficiência das aves em degradar a parede celular vegetal, impedindo o acesso de enzimas digestivas ao conteúdo intracelular, como grânulos de amido e proteínas, por exemplo.

Como o milho apresenta conteúdo relativamente baixo de PNAs (97 g/kg de MS), que na sua maioria é composta por PNAs insolúveis (88 g/kg de MS) (Bach Knudsen, 1997), a viscosidade da digesta de frangos alimentados com dietas à base de milho aparentemente não tem impacto negativo sobre o aproveitamento de nutrientes.

Assim, é possível que alguns mecanismos de ação das xilanases estejam relacionados com seus efeitos sobre as populações de bactérias no trato digestivo de frangos, especialmente na porção final do intestino. A xilanase é capaz de degradar seus substratos e gerar oligossacarídeos de cadeia curta, contendo de 2 a 5 monômeros (Bedford e Cowieson, 2012). Sabe-se que o fornecimento de xilo-oligômeros em dietas para aves pode resultar em alterações benéficas nas populações de bifidobactérias no ceco (Courtin et al., 2008), o que pode induzir a produção de hormônios como o peptídeo YY (Singh et al., 2012), capaz de regular o esvaziamento gástrico e a taxa de trânsito intestinal (Taylor, 1993), facilitando assim o processo de digestão de nutrientes.

Desta forma, este estudo foi desenvolvido com a finalidade de explorar os possíveis mecanismos de ação de enzimas que degradam PNAs sobre parâmetros intestinais e do ceco, digestibilidade ileal e desempenho de frangos de corte.

Material e Métodos

Todos os procedimentos conduzidos neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – CEUA/FMVZ (02/2015-CEUA).

Dietas experimentais

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×2 – dois níveis de energia metabolizável (Alta Energia: 3.025 kcal/kg e 3.125 kcal/kg nas fases inicial, de 1 a 21 dias, e de crescimento, de 22 a 35 dias, respectivamente, ou Baixa Energia: 2.925 kcal/kg na fase inicial, e 3.025 kcal/kg na fase de crescimento) $\times$ ausência ou inclusão de 100 gramas de produto enzimático composto por endo-1,4- β -xilanase e endo-1,4- β -glucanase, derivado de fermentação por *Aspergillus niger*, por tonelada de ração (Tabela 1). Nas rações de crescimento, foi adicionado 0,1% de óxido de cromo, como marcador indigestível, para avaliação de digestibilidade e tempo médio de retenção.

Manejo das aves

Foram utilizados 744 pintos de corte (Cobb-500) machos, de um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Marek, Gumboro e Bouda, alojados em 24 boxes de 2,5 m² (seis boxes por tratamento e 31 aves por box), contendo 10 cm de maravalha de eucalipto não utilizada, e equipados com comedouros do tipo tubular e bebedouro pendular. As aves tiveram acesso ilimitado à água e ração, durante todo o período experimental.

Tabela 1. Composição de ingredientes e nutricional calculada das rações experimentais.

Ingrediente (g/kg)	Inicial (1 – 21d)		Crescimento (22 – 35d)	
	Alta Energia	Baixa Energia	Alta Energia	Baixa Energia
Milho	565,25	588,82	613,52	637,09
Farelo de soja	362,80	358,56	308,32	304,08
Óleo de Soja	31,46	12,08	37,86	18,48
Fosfato bicalcico	18,18	18,15	15,97	15,94
Calcário calcítico	10,63	10,65	11,05	11,07
Sal Comum	4,57	4,56	4,32	4,31
DL-Metionina	2,69	2,67	2,66	2,64
L-Lisina	1,56	1,64	2,24	2,32
L-Treonina	0,21	0,21	0,51	0,51
Premix vit/min ^A	2,00	2,00	2,00	2,00
Cloreto de colina	0,55	0,55	0,45	0,45
Inerte	0,10	0,10	0,10	0,10
Óxido de crômio	0,00	0,00	1,00	1,00
EMA, kcal/kg	3.025	2.925	3.125	3.025
PB, %	21,17	21,17	19,17	19,17
Cálcio, %	0,95	0,95	0,90	0,90
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,40	0,40
Sódio, %	0,20	0,20	0,19	0,19
Lisina dig., %	1,16	1,16	1,09	1,09
Metionina dig., %	0,55	0,55	0,53	0,53
Met+Cis dig., %	0,84	0,84	0,79	0,79
Treonina dig., %	0,74	0,74	0,70	0,70
Triptofano dig., %	0,24	0,24	0,21	0,21
Arginina dig., %	1,34	1,34	1,19	1,18
Isoleucina dig., %	0,83	0,83	0,74	0,74

^A Níveis por quilograma de ração: vit. A 9.000,00 UI; vit. D3 2.500,00 UI; vit. E 14,00 UI; vit. K3 2,00 mg; vit. B1 2,50 mg; vit. B2 6,20 mg; vit. B6 4,00 mg; vit. B12 14,00 mcg; niacina 40,00 mg; ác. pantotênico 15,00 mg; ác. fólico 1,00 mg; cobre 10,00 mg; ferro 50,00 mg; iodo 1,20 mg; manganês 80,00 mg; selênio 0,20 mg; zinco 60,00 mg.

Coleta de dados

Os dados de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar foram avaliados por meio da pesagem de aves e rações nos dias 1, 7, 21 e 35. A mortalidade de cada unidade experimental foi registrada diariamente para determinação da viabilidade.

Após a pesagem aos 35 dias, quatro aves por unidade experimental foram mantidas nos boxes por 24 horas até o abate, realizado por deslocamento craniocervical, para coleta de conteúdos de ceco e intestino, e as demais transferidas para outro galpão.

Imediatamente após o abate, em no máximo 30 segundos após a morte da ave, os cecos de duas aves por box (12 aves por tratamento) foram removidos e fotografados com câmera termográfica Testo 875-1i (Testo®, Alemanha). Posteriormente, com auxílio do software da câmera (Testo IR Soft, versão 4.2), a temperatura média da superfície dos dois cecos (Figura 1) foi considerada para análises estatísticas (Cowieson & Masey O'Neill, 2013). A variação da temperatura na superfície do ceco foi dada pelo software Testo IR Soft, e representa a diferença entre a maior e a menor temperatura na área selecionada – neste caso, em toda a superfície cecal.

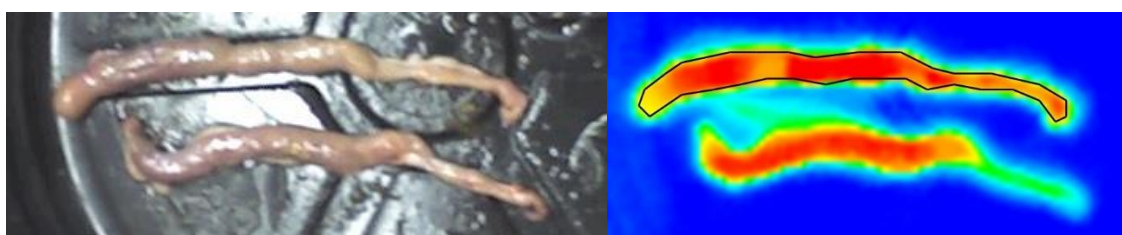


Figura 1. Imagens digital e termográfica dos cecos, demonstrando a delimitação da área da superfície do ceco para determinação da temperatura média e variação de temperatura pelo software Testo IR Soft® 4.2.

Os valores de pH do conteúdo cecal foram determinados em duas aves por box (12 aves por tratamento). A probe do peagâmetro foi inserida diretamente no conteúdo cecal e a medição foi aferida três vezes, por meio da inserção da probe em diferentes locais dentro do ceco, evitando o contato com a epitélio interno (adaptado de Morgan et al., 2014). A média dos valores aferidos foi utilizada para determinar o pH. A cada medição, a probe foi lavada com água destilada, e quando não utilizada, armazenada em solução com pH igual a 4,0.

O conteúdo cecal das quatro aves abatidas por box foi reunido e homogeneizado de forma a obter-se um *pool*. Em seguida, dois gramas de conteúdo foram coletados e diluídos em 4 mL de ácido fórmico (17%). A concentração de ácidos acético, butírico e propiônico foi determinada nos sobrenadantes das amostras após centrifugação a $12.000 \times g$ por 10 minutos, por cromatografia a gás (GC Focus Series®, Thermo Scientific, Milan, Italy).

Para determinação do tempo médio de retenção, o intestino delgado foi removido e todo o conteúdo intestinal foi coletado nas porções do jejuno proximal, jejuno distal, íleo proximal e íleo distal, delimitados pelo ponto médio entre o fim da alça duodenal e o

divertículo de Meckel; e pelo ponto médio entre o divertículo e a junção ileocecal, respectivamente. As amostras das quatro aves do mesmo box foram reunidas, homogeneizadas, liofilizadas e pesadas. A matéria seca das amostras foi determinada por secagem em estufa a 105° C. O consumo de ração no período de 24 horas foi registrado para determinação do tempo médio de retenção (TMR), segundo a equação:

$$\text{TMR (min)} = \frac{1.440 \times \text{Cr}_d \times P}{\text{CR}_{24h} \times \text{Cr}_r}$$

em que, 1.440 é a quantidade de minutos em 24h; Cr_d , a concentração de cromo no conteúdo intestinal (mg/g); P, o peso total do conteúdo intestinal seco (g); CR_{24h} , o consumo de ração por 24 horas antes da coleta (g); e Cr_r , a concentração de cromo na ração (mg/g) (Weurding et al., 2001).

A concentração de nitrogênio e a energia bruta das amostras de ração e de conteúdo do íleo distal foram determinadas pelo método de micro-Kjeldahl e por bomba calorimétrica (C-200, IKA®, Werke), respectivamente. O cromo foi analisado por espectrometria de absorção atômica (GFAAS).

Os pesos relativos de proventrículo, moela, pâncreas, duodeno, jejuno e íleo vazios foram avaliados em duas aves por box (12 aves por tratamento), e determinados pela relação entre peso do órgão e peso corporal da ave. Os comprimentos de duodeno, jejuno e íleo foram analisados em duas aves por box (12 aves por tratamento).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância com dois fatores (2 × 2), dois níveis de energia e dois níveis de enzima, por meio do *General Linear Model Procedure* do software SAS 9.3 (SAS Institute) e quando significativas as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey. Os valores de *P* inferiores a 0,05 foram considerados significantes.

Resultados

Não houve interação do nível de energia e suplementação enzimática sobre o desempenho (Tabela 2). A suplementação enzimática aumentou o ganho de peso nos períodos de 1 a 7, e 1 a 21 dias, porém não afetou este parâmetro no período total de criação. O consumo de ração de 1 a 21 dias foi maior em aves alimentadas com dieta contendo enzimas exógenas. Frangos alimentados com dieta de alta energia apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar em todas os períodos avaliados.

Tabela 2. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o desempenho de frangos de corte

EM (kcal/kg)	Enzima	GP (g)			CR (g)			CA		
		1 a 7d	1 a 21d	1 a 35d	1 a 7d	1 a 21d	1 a 35d	1 a 7d	1 a 21d	1 a 35d
Baixa		102b	803b	1830b	140	1150	3103	1,374a	1,447a	1,711a
Alta		109a	867a	1898a	137	1185	3114	1,271b	1,383b	1,666b
	Sem	102b	823b	1857	135	1147b	3092	1,320	1,414	1,684
	Com	109a	848a	1872	142	1189a	3124	1,326	1,416	1,690
Baixa	Sem	97	794	1823	135	1135	3113	1,377	1,444	1,702
Baixa	Com	106	812	1838	144	1166	3091	1,372	1,450	1,718
Alta	Sem	106	851	1890	135	1158	3067	1,263	1,384	1,669
Alta	Com	112	884	1906	139	1212	3153	1,279	1,381	1,662
EPM		1,84	8,77	13,05	1,74	9,75	16,72	0,02	0,01	0,01
Probabilidade										
EM		0,025	<0,01	<0,01	0,472	0,054	0,810	0,023	<0,01	<0,01
Enzima		0,038	0,026	0,505	0,066	0,021	0,354	0,891	0,822	0,729
EM $\times$ Enzima		0,641	0,484	0,990	0,499	0,494	0,118	0,811	0,587	0,350

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

Houve interação do nível de energia e inclusão de enzimas sobre a porcentagem de ácido acético no conteúdo cecal (Tabela 3). A inclusão de enzimas em dietas de baixa energia aumentou a porcentagem de ácido acético. A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta não foi afetada pelas dietas experimentais. Os valores de pH do conteúdo cecal de frangos alimentados com dieta de baixa energia foram reduzidos em relação aos que receberam dieta de alta energia e o fornecimento de dietas de baixa energia elevou a temperatura média da superfície dos cecos.

Tabela 3. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre a proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta (%), concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (mmoL/L), pH do conteúdo cecal, temperatura média (°C) e variação da temperatura (°C) da superfície dos cecos de frangos de corte

EM (kcal/kg)	Enzima	Acético	Propiônico	Butírico	Total	pH	Temp.	Var. ¹
Baixa		66,19	19,24	14,57	29,88	6,15b	35,05a	4,94
Alta		66,41	20,20	12,97	27,47	6,55a	34,39b	4,71
	Sem	65,59	20,37	14,05	29,42	6,31	34,70	4,73
	Com	67,06	19,08	13,50	27,92	6,39	34,72	4,93
Baixa	Sem	64,12b	20,31	15,57	31,65	6,17	34,82	4,96
Baixa	Com	68,26a	18,17	13,57	28,10	6,13	35,27	4,93
Alta	Sem	67,06ab	20,42	12,52	27,19	6,46	34,59	4,50
Alta	Com	65,63ab	19,98	13,42	27,74	6,65	34,17	4,93
EPM		0,63	0,80	0,51	0,76	0,07	0,15	0,16
Probabilidade								
EM		0,891	0,571	0,114	0,105	0,003	0,022	0,489
Enzima		0,249	0,449	0,577	0,303	0,568	0,969	0,558
EM $\times$ Enzima		0,025	0,615	0,151	0,163	0,396	0,127	0,160

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

¹ A variação da temperatura na superfície do ceco é dada pelo software Testo IR Soft, e representa a diferença entre a maior e a menor temperatura de toda a superfície cecal.

Não houve interação do nível energético e da inclusão de enzimas sobre a energia ileal digestível e os coeficientes de digestibilidade de energia e proteína (Tabela 4). A inclusão de enzimas aumentou o coeficiente de digestibilidade ileal de energia e a energia ileal. O fornecimento de dietas de alta energia resultou em maiores coeficientes de digestibilidade de energia e proteína.

Tabela 4. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre os coeficientes de digestibilidade ileal de energia e proteína, e energia ileal de frangos de corte

EM (kcal/kg)	Enzima	Energia (%)	Energia ileal (kcal/kg MS)	Proteína (%)
Baixa		52,52b	2375b	66,60b
Alta		62,18a	2841a	71,29a
	Sem	53,75b	2448b	68,00
	Com	60,94a	2768a	69,89
Baixa	Sem	48,91	2204	65,53
Baixa	Com	56,13	2546	67,68
Alta	Sem	58,60	2693	70,48
Alta	Com	65,76	2989	72,11
EPM		1,68	77,88	1,05
Probabilidade				
EM		<0,01	<0,01	0,026
Enzima		<0,01	<0,01	0,345
EM $\times$ Enzima		0,991	0,833	0,895

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

Não houve interação do nível energético e da inclusão de enzimas sobre o tempo médio de retenção (TMR) dos diferentes segmentos do intestino delgado (Tabela 5). Entretanto, a inclusão de enzimas aumentou o TMR no íleo distal e o fornecimento de dietas de baixa energia reduziu o TMR no jejuno distal.

Tabela 5. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o tempo médio (min) de retenção do conteúdo alimentar em diferentes segmentos do intestino delgado

EM (kcal/kg)	Enzima	Jejuno Proximal	Jejuno Distal	Íleo Proximal	Íleo Distal	Total
Baixa		13,34	40,05b	81,89	103,36	242,33
Alta		13,35	56,86a	81,52	107,81	247,85
	Sem	13,22	47,14	83,58	86,34b	229,69
	Com	13,47	49,13	79,68	124,82a	261,89
Baixa	Sem	12,75	40,69	85,16	79,92	218,69
Baixa	Com	13,94	39,41	78,63	126,79	265,96
Alta	Sem	13,70	53,59	82,00	92,75	240,69
Alta	Com	13,00	60,79	80,95	122,86	256,79
EPM		1,80	3,63	4,33	8,73	11,83
Probabilidade						
EM		0,999	0,019	0,964	0,788	0,795
Enzima		0,952	0,665	0,687	0,031	0,211
EM $\times$ Enzima		0,808	0,535	0,771	0,613	0,530

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

Houve interação do nível de energia e da suplementação de enzimas sobre o peso relativo de íleo (Tabela 6). O fornecimento de dieta de alta energia, sem suplementação enzimática, reduziu o peso relativo de íleo em comparação ao de aves alimentadas com dieta de baixa energia, sem suplementação de enzimas.

Tabela 6. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o peso relativo de órgãos (g/100g de peso corporal) de frangos de corte

EM (kcal/kg)	Enzima	Proventrículo	Moela	Pâncreas	Duodeno	Jejuno	Íleo
Baixa		3,45	17,33	2,49	7,69	13,88	10,48
Alta		3,53	17,44	2,38	7,31	12,92	10,24
	Sem	3,42	16,87	2,37	7,34	13,54	10,31
	Com	3,56	17,90	2,50	7,66	13,26	10,42
Baixa	Sem	3,48	16,89	2,44	7,76	14,39	10,85a
Baixa	Com	3,43	17,77	2,53	7,64	13,37	10,11ab
Alta	Sem	3,37	16,86	2,29	6,99	12,70	9,76b
Alta	Com	3,69	18,03	2,48	7,70	13,14	10,72ab
EPM		0,09	0,29	0,05	0,19	0,31	0,21
Probabilidade							
EM		0,662	0,841	0,339	0,367	0,121	0,555
Enzima		0,443	0,088	0,194	0,449	0,639	0,783
EM $\times$ Enzima		0,280	0,805	0,608	0,291	0,235	0,041

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

Não houve interação do nível energético e da inclusão de enzimas sobre o comprimento de diferentes segmentos do intestino delgado. O comprimento de jejuno foi reduzido pelo fornecimento de dietas alta energia, em comparação ao de frangos alimentados com dieta de baixa energia (Tabela 7).

Tabela 7. Efeitos da inclusão de produto enzimático composto por xilanase e β -glucanase em dietas com níveis variáveis de energia sobre o comprimento (cm) de duodeno, jejuno, íleo e intestino delgado de frangos de corte

EM (kcal/kg)	Enzima	Duodeno	Jejuno	Íleo	Int. delgado
Baixa		33	77a	79	189
Alta		33	72b	76	182
	Sem	33	76	79	188
	Com	33	72	77	183
Baixa	Sem	33	81	81	195
Baixa	Com	33	73	77	183
Alta	Sem	33	72	76	181
Alta	Com	34	72	76	184
EPM		0,48	1,25	1,23	2,31
Probabilidade					
EM		0,802	0,039	0,226	0,144
Enzima		0,802	0,097	0,453	0,321
EM $\times$ Enzima		0,617	0,068	0,515	0,102

a,b: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$);

EPM: erro padrão das médias.

Discussão

A inclusão de enzimas nas dietas resultou em maior ganho de peso de 1 a 7 dias (+6,8%), e de 1 a 21 dias (+3,0%), porém não afetou o desempenho considerando-se o período total de criação, de 1 a 35 dias, o que demonstra que a resposta à suplementação de enzimas é mais expressiva em aves jovens nas primeiras semanas de vida. Como as aves jovens são consideradas mais susceptíveis à presença de fatores antinutricionais nas rações (Masey O'Neill et al., 2012), é possível que a resposta à suplementação de enzimas que degradam PNAs seja mais evidente nas fases iniciais de criação, uma vez que aves apresentam o trato digestivo melhor desenvolvido e uma microbiota equilibrada com o avançar da idade. Barekatin et al. (2013), Lee et al. (2017) e Montanhini Neto et al. (2017) também observaram benefícios de desempenho pela inclusão de enzimas que degradam PNAs apenas nas primeiras semanas de vida de frangos de corte.

A suplementação de enzimas que degradam PNAs em dietas para frangos de corte tem sido associada a resultados de desempenho inconsistentes devido principalmente à variação na composição de PNAs dos ingredientes utilizados na dieta (Kocher et al., 2002; Knudsen, 2014), à formulação das rações, ao nível de inclusão e à variação da composição

dos produtos enzimáticos utilizados (Masey O'Neill et al., 2014a). A ausência de benefícios pela suplementação de enzimas sobre o período de 1 a 35 dias também pode estar associada ao uso de apenas duas enzimas que degradam PNAs. Meng et al. (2005) concluíram que o uso de uma combinação de várias carboidrases é mais efetivo em degradar a parede celular vegetal do que as enzimas utilizadas separadamente. Cengiz et al. (2012) e Coppedge et al. (2012) encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo, ao avaliarem a inclusão de diversos produtos enzimáticos compostos por enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho sobre o desempenho de frangos, não observando resultados positivos em relação à suplementação enzimática considerando-se toda a fase de criação das aves.

O consumo de ração de 1 a 21 dias foi maior em aves que receberam suplementação enzimática (+3,7%), o que pode estar relacionado à melhora na digestibilidade de nutrientes e à degradação da parede celular vegetal dos ingredientes presentes na ração com a suplementação de enzimas que degradam PNAs, favorecendo o consumo de ração. Liu et al. (2011) também encontraram resultados semelhantes, quando a suplementação de xilanase em dietas à base de milho aumentou em 4% o consumo de ração de frangos de 1 a 21 dias. Francesch et al. (2012) e Kiarie et al. (2017), por outro lado, observaram redução linear no consumo de ração de frangos com o aumento do nível de inclusão de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de trigo, demonstrando que os efeitos sobre o consumo de ração podem variar de acordo com o cereal utilizado na ração e o nível de inclusão do produto enzimático.

O fornecimento de dietas de alta energia promoveu melhores ganho de peso e conversão alimentar em todas as fases avaliadas, demonstrando que a redução de 100 kcal/kg de energia metabolizável promove um déficit energético e pode prejudicar o desempenho de frangos. Shirmohammad e Mehri (2010) encontraram resultados semelhantes, quando o desempenho de frangos foi prejudicado pela redução de 120 kcal/kg de energia metabolizável da ração.

A inclusão de enzimas nas dietas aumentou o tempo médio de retenção no íleo distal das aves em 44,6% (de 86,34 minutos para 124,82 minutos). Este resultado vai de acordo com estudos que demonstraram que o uso de xilanase em dietas para frangos pode elevar a secreção do hormônio peptídeo YY (Singh et al., 2012), um dos responsáveis por regular a taxa de esvaziamento gástrico e de trânsito intestinal.

O peptídeo YY é um neuropeptídeo produzido por células endócrinas intestinais localizadas principalmente na porção distal do íleo e no cólon (Taylor et al., 1993). É

provável que a liberação de xilooligossacarídeos, compostos resultantes da degradação parcial de arabinosilanas pela xilanase, exerça um efeito prebiótico nas aves, induzindo assim a produção de hormônios como o peptídeo YY. Os xilooligossacarídeos podem ser fermentados por microrganismos presentes no ceco, resultando assim numa alteração do perfil de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal. No presente estudo, a inclusão de xilanase em dieta de baixa energia aumentou a porcentagem de ácido acético no ceco. Lee et al. (2017) demonstraram que a suplementação de xilanase pode aumentar a população de *Bifidobacterium* spp. no conteúdo cecal de frangos, bactérias que produzem acetato e lactato como produto final da fermentação de açúcares. Kiarie et al. (2014) e Masey O'Neill et al. (2014b) também observaram aumento da concentração de ácido acético no conteúdo cecal de frangos de corte com a inclusão de xilanase em dietas à base de milho.

Assim, é provável que os benefícios gerados pela inclusão de enzimas que degradam PNAs, como xilanase e β -glucanase, em dietas para frangos de corte estejam relacionados a regulação, de forma indireta, da taxa de trânsito intestinal, especialmente na porção distal do íleo, resultando assim num melhor aproveitamento de energia e proteína, como observado no presente estudo. Houve correlação positiva entre tempo de retenção no íleo distal e digestibilidade ileal de energia e proteína ($R = 0,54$; $P < 0,01$). Além disso, comercialmente, a inclusão de xilanase nas dietas é acompanhada de uma redução do nível energético da ração, de acordo com a matriz nutricional do produto utilizado, o que, em geral, resulta numa redução da inclusão de óleo na fórmula. A diminuição do nível de óleo da ração, além da redução calórica, pode levar a diversos efeitos extracalóricos como a menor taxa de trânsito intestinal (Mateos et al., 1982). Apesar de não ter ocorrido interação significativa entre nível energético e suplementação de enzimas, o tempo médio de retenção no íleo distal de aves que receberam dieta de baixa energia com enzimas foi 59% maior em relação ao de aves alimentadas com dieta de baixa energia sem enzimas (79,92 min vs. 126,79 min), enquanto em dietas de alta energia o tempo de retenção foi aumentado em apenas 32% com a suplementação de enzimas (92,75 min vs. 122,86 min). Este efeito justifica por que dietas de baixa energia tendem a responder melhor à suplementação de enzimas em relação a dietas de alta energia (Zhou et al., 2009). Assim, o nível de inclusão de óleo na dieta pode ter um impacto significativo sobre os benefícios gerados pela inclusão de enzimas.

O tempo médio de retenção no jejuno distal foi 42% maior em aves alimentadas com dietas de alta energia, em relação àquelas que receberam dieta de baixa energia

(56,86 min vs. 40,05 min). O maior tempo de retenção no jejuno distal com o uso de dietas de alta energia pode estar relacionado a maior quantidade de óleo vegetal nestas rações (Mateos et al., 1982), que é diretamente relacionado com a taxa de trânsito. O maior tempo de retenção no jejuno justifica a melhor digestibilidade de energia e proteína com o uso de dietas de alta energia, uma vez que a digestão de nutrientes ocorre principalmente neste segmento do intestino delgado de frangos.

O fornecimento de dietas com baixa energia reduziu o pH do conteúdo cecal das aves, de 6,55 para 6,15. Apesar de não significativo ($P = 0,105$), a concentração total de AGCC no conteúdo cecal de aves alimentadas com dieta de baixa energia foi maior em relação àquelas que receberam dieta de alta energia (29,88 mmol/L vs. 27,47 mmol/L). A redução do pH pode ser atribuída à maior passagem de nutrientes pelo íleo, como indicado pela menor digestibilidade de proteína e energia em aves que receberam dieta de baixa energia, levando assim um maior aporte de nutrientes para microrganismos fermentativos presentes no ceco. Apesar de significativa, a redução do pH em apenas 0,40 é pequena e provavelmente não possui significância fisiológica no ceco de frangos. Além disso, a maior temperatura média do ceco de frangos alimentados com dietas de baixa energia (35,05 °C vs. 34,39 °C) é um indicativo de uma maior atividade fermentativa neste órgão, uma vez que taxas elevadas de fermentação podem levar ao aumento de temperatura (Cowieson e Masey O'Neill, 2013). Apesar disso, no presente estudo, não houve efeito da suplementação de enzimas sobre a temperatura média dos cecos. Masey O'Neill et al. (2014b) também não observaram diferenças na temperatura média do ceco de frangos recebendo dietas à base de trigo ou milho e suplementadas com xilanase. Por outro lado, Cowieson e Masey O'Neill (2013), concluíram que a suplementação de xilanase em dietas à base de trigo pode elevar a temperatura média do ceco em até 1,4 °C.

Desta forma, a melhora na digestibilidade ileal de energia pelo uso de enzimas que degradam PNAs pode estar relacionada 1) à degradação da parede celular vegetal e consequente liberação de nutrientes encapsulados (Khadem et al., 2016) e 2) ao efeito indireto sobre a taxa de esvaziamento gástrico, que, no presente estudo, foi analisada por meio do tempo médio de retenção em diferentes segmentos do intestino delgado. Juntos, estes efeitos aparentam ser os principais responsáveis pelos benefícios promovidos pela inclusão de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho para frangos, uma vez que a ausência de efeitos destas enzimas sobre a viscosidade de conteúdo de jejuno tem sido bastante documentada por outros autores (Jia et al., 2009; Shakouri et al., 2009; Khadem et al., 2016) e demonstra que a viscosidade da digesta de frangos alimentados

com dietas à base de milho é considerada baixa e pouco ou nada prejudicial ao processo digestivo de frangos de corte.

É possível que a inclusão de xilanase favoreça a retenção de proteína em frangos, porém não afeta a digestibilidade ileal deste nutriente (Horvatovic et al., 2012), o que sugere que efeitos sobre o aproveitamento de proteína podem ocorrer após a passagem pelo íleo e pode estar relacionado com os efeitos da xilanase sobre a microbiota cecal. No presente estudo, a digestibilidade de proteína foi estimada apenas no conteúdo ileal. García et al. (2008) também não observaram efeitos sobre a digestibilidade ileal de proteína quando incluíram xilanase em dietas à base de milho para frangos.

A digestibilidade de energia e proteína foi superior em 18,4% e 7,0%, respectivamente, em aves que receberam dieta de alta energia, em comparação àquelas alimentadas com dieta de baixa energia. A melhor digestibilidade com o uso de dietas de alta energia pode estar relacionada ao maior nível de inclusão de óleo, que, regula a taxa de trânsito intestinal e melhora a digestão e absorção de nutrientes (Mateos et al., 1982).

O peso relativo de íleo foi reduzido com o fornecimento de dieta de alta energia sem xilanase, em comparação ao de aves alimentadas com dieta de baixa energia sem xilanase. No presente estudo, o fornecimento de dietas de alta energia resultou em maior digestibilidade ileal de energia e proteína bruta, reduzindo assim a quantidade de substratos que passam pelo trato digestivo, os quais poderiam ser utilizados por microrganismos patogênicos, reduzindo assim a proliferação celular no epitélio intestinal em resposta ao crescimento de patógenos (Brenes et al., 2002), uma vez que o peso relativo do intestino é um indicativo da taxa proliferação celular. O efeito de redução do peso relativo de íleo ocasionado pelo nível energético da dieta, no entanto, não foi observado em rações suplementadas com xilanase, provavelmente pela melhora na digestibilidade de energia promovida pela enzima no presente estudo, reduzindo assim a quantidade de substratos disponíveis para microrganismos na porção final do trato digestivo.

O comprimento de jejuno foi 6,9% maior em frangos alimentados com dieta de baixa energia, em comparação aqueles que receberam dieta de alta energia (77 cm vs. 72 cm). O aumento do comprimento de jejuno pode estar associado a menor digestibilidade de nutrientes em dietas de baixa energia, conforme demonstrado no presente estudo. A maior quantidade de nutrientes resistentes à digestão pode levar a um aumento e hipertrofia do intestino, especialmente no jejuno, segmento com grande importância no processo digestivo de frangos. Viveros et al. (1994) e Jørgensen et al. (1996), por

exemplo, observaram aumento do comprimento de intestino delgado e ceco com o uso de dietas contendo alta fibra, que também apresentaram menor digestibilidade de nutrientes.

Conclusão

Apesar do uso de enzimas que degradam PNAs melhorar o desempenho apenas nas três primeiras semanas, promove maior produção cecal de ácido acético, maior tempo de retenção de conteúdo no íleo distal e consequente melhoria da digestibilidade ileal de energia em rações à base de milho para frangos de corte.

Referências

- Bach Knudsen, K.E., 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67, 319–338. doi:10.1016/S0377-8401(97)00009-6
- Barekatin, M.R., Choct, M., Iji, P.A., 2013. Xylanase supplementation improves the nutritive value of diets containing high levels of sorghum distillers' dried grains with solubles for broiler chickens. *J. Sci. Food Agric.* 93, 1552–1559. doi:10.1002/jsfa.5992
- Bedford, M.R., Cowieson, A.J., 2012. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173, 76–85. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.018
- Brenes, A., Marquardt, R.R., Guenter, W., Viveros, A., 2002. Effect of enzyme addition on the performance and gastrointestinal tract size of chicks fed lupin seed and their fractions. *Poult. Sci.* 81, 670–678.
- Cengiz, Ö., Hess, J.B., Bilgili, S.F., 2012. Feed enzyme supplementation does not ameliorate foot pad dermatitis in broiler chickens fed on a corn-soyabean diet. *Br. Poult. Sci.* 53, 401–407. doi:10.1080/00071668.2012.711467
- Coppedge, J.R., Oden, L.A., Ratliff, B., Brown, B., Ruch, F., Lee, J.T., 2012. Evaluation of nonstarch polysaccharide-degrading enzymes in broiler diets varying in nutrient and energy levels as measured by broiler performance and processing parameters. *J. Appl. Poult. Res.* 21, 226–234. doi:10.3382/japr.2011-00329
- Courtin, C.M., Broekaert, W.F., Swennen, K., Lescroart, O., Onagbesan, O., Buyse, J., Decuyper, E., Van de Wiele, T., Marzorati, M., Verstraete, W., G., H., Delcour, J.A., 2008. Dietary inclusion of wheat bran arabinoxyloligosaccharides induces beneficial nutritinal effects in chickens. *Cereal Chem.* 85, 607–613.

doi:10.1094/CCHEM-85-5-0607

- Cowieson, A.J., Masey O'Neill, H.V., 2013. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility and caecal thermal profiles of broilers given wheat-based diets. *Br. Poult. Sci.* 54, 346–354. doi:10.1080/00071668.2013.780200
- Francesch, M., Pérez-Vendrell, A.M., Broz, J., 2012. Effects of a mono-component endo-xylanase supplementation on the nutritive value of wheat-based broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 53, 809–816. doi:10.1080/00071668.2012.750714
- Garcia, M., Lazaro, R., Latorre, M.A., Gracia, M.I., Mateos, G.G., 2008. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. *Poult. Sci.* 87, 940–948. doi:10.3382/ps.2007-00266
- Gehring, C.K., Bedford, M.R., Dozier, W.A., 2013. Extra-phosphoric effects of phytase with and without xylanase in corn-soybean meal-based diets fed to broilers. *Poult. Sci.* 92, 979–991. doi:10.3382/ps.2012-02769
- Horvatovic, M.P., Glamocic, D., Beukovic, D., Ivkovic, M., 2012. Digestibility of nutrients and metabolisability of energy in broiler diets with different ME level and supplemented with exogenous enzyme. *African J. Agric. Reseach* 7, 2391–2394. doi:10.5897/AJAR11.1820
- Jia, W., Slominski, B.A., Bruce, H.L., Blank, G., Crow, G., Jones, O., 2009. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poult. Sci.* 88, 132–140. doi:10.3382/ps.2008-00204
- Jørgensen, H., Zhao, X.-Q., Knudsen, K.E.B., Eggum, B.O., 1996. The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. *Br. J. Nutr.* 75, 379–395. doi:10.1079/BJN19960141
- Khadem, A., Lourenço, M., Delezie, E., Maertens, L., Goderis, A., Mombaerts, R., Höfte, M., Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Janssens, G.P.J., 2016. Does release of encapsulated nutrients have an important role in the efficacy of xylanase in broilers? *Poult. Sci.* 95, 1066–1076. doi:10.3382/ps/pew002
- Kiarie, E., Romero, L.F., Ravindran, V., 2014. Growth performance, nutrient utilization, and digesta characteristics in broiler chickens fed corn or wheat diets without or with supplemental xylanase. *Poult. Sci.* 93, 1186–1196. doi:10.3382/ps.2013-03715
- Kiarie, E., Walsh, M.C., Romero, L.F., Arent, S., Ravindran, V., 2017. Nutrient and fiber

- utilization responses of supplemental xylanase in broiler chickens fed wheat based diets are independent of the adaptation period to test diets. *Poult. Sci.* 96, 3239–3245. doi:10.3382/ps/pex100
- Knudsen, K.E.B., 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poult. Sci.* 93, 2380–2393. doi:10.3382/ps.2014-03902
- Kocher, A., Choct, M., Porter, M.D., Broz, J., 2002. Effects of feed enzymes on nutritive value of soyabean meal fed to broilers. *Br. Poult. Sci.* 43, 54–63. doi:10.1080/00071660120109890
- Lee, S.A., Apajalahti, J., Vienola, K., González-Ortiz, G., Fontes, C.M.G.A., Bedford, M.R., 2017. Age and dietary xylanase supplementation affects ileal sugar residues and short chain fatty acid concentration in the ileum and caecum of broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 234, 29–42. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.07.017
- Liu, N., Ru, Y.J., Tang, D.F., Xu, T.S., Partridge, G.G., 2011. Effects of corn distillers dried grains with solubles and xylanase on growth performance and digestibility of diet components in broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 260–266. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.11.004
- Masey O'Neill, H.V.M., Liu, N., Wang, J.P., Diallo, A., Hill, S., 2012. Effect of xylanase on performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of china. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 25, 515–523. doi:10.5713/ajas.2011.11314
- Masey O'Neill, H. V., Smith, J.A., Bedford, M.R., 2014a. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 27, 290–301. doi:10.5713/ajas.2013.13261
- Masey-O'Neill, H.V., Singh, M., Cowieson, A.J., 2014b. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility, volatile fatty acid production and digestive tract thermal profiles of broilers fed on wheat- or maize-based diet. *Br. Poult. Sci.* 55, 351–359. doi:10.1080/00071668.2014.898836
- Mateos, G.G., Sell, J.L., Eastwood, J.A., 1982. Rate of food passage (transit time) as influenced by level of supplemental fat. *Poult. Sci.* 61, 94–100. doi:10.3382/ps.0610094
- Meng, X., Slominski, B.A., Nyachoti, C.M., Campbell, L.D., Guenter, W., 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. *Poult. Sci.*

- 84, 37–47. doi:10.1093/ps/84.1.37
- Montanhini Neto, R., N'Guetta, E., Gady, C., Francesch, M., Preynat, A., 2017. Combined effect of using near-infrared spectroscopy for nutritional evaluation of feed ingredients and non-starch polysaccharide carbohydrase complex on performance of broiler chickens. *Anim. Sci. J.* 88, 1979–1986. doi:10.1111/asj.12822
- Morgan, N.K., Walk, C.L., Bedford, M.R., Burton, E.J., 2014. The effect of dietary calcium inclusion on broiler gastrointestinal pH: Quantification and method optimization. *Poult. Sci.* 93, 354–363. doi:10.3382/ps.2013-03305
- Shakouri, M.D., Iji, P.A., Mikkelsen, L.L., Cowieson, A.J., 2009. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 93, 647–658. doi:10.1111/j.1439-0396.2008.00852.x
- Shirmohammad, F., Mehri, M., 2011. Effects of dietary supplementation of multi-enzyme complex on the energy utilization in rooster and performance of broiler chicks. *African J. Biotechnol.* 10, 7541–7547. doi:10.5897/AJB10.2260
- Singh, A., Neill, H.V.M.O., Ghosh, T.K., Bedford, M.R., Haldar, S., 2012. Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize–soybean based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 177, 194–203. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.08.005
- Taylor, I.L., 1993. Role of peptide YY in the endocrine control of digestion. *J. Dairy Sci.* 76, 2094–2101.
- Viveros, A., Brenes, A., Pizarro, M., Castaño, M., 1994. Effect of enzyme supplementation of a diet based on barley, and autoclave treatment, on apparent digestibility, growth performance and gut morphology of broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 237–251. doi:10.1016/0377-8401(94)90175-9
- Weurding, R.E., Veldman, A., Veen, W.A.G., Aar, P.J. van der, Verstegen, M.W.A., 2001. Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differs among feedstuffs. *J. Nutr.* 131, 2329–2335.
- Zakaria, H.A.H., Jalal, M.A.R., Jabarin, A.S., 2008. Effect of exogenous enzymes on the growing performance of broiler chickens fed regular corn/soybean-based diets and the economics of enzyme supplementation. *Pakistan J. Nutr.* 7, 534–539.
- Zhou, Y., Jiang, Z., Lv, D., Wang, T., 2009. Improved energy-utilizing efficiency by

enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels. Poult. Sci. 88, 316–322. doi:10.3382/ps.2008-00231

CAPÍTULO IV

IMPLICAÇÕES

O uso de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de cereais não viscosos, como o milho e o sorgo, por exemplo, apesar de ser uma prática relativamente comum na nutrição de aves nos últimos anos, ainda apresenta resultados inconsistentes e por vezes contraditórios. Esta variação nos resultados é considerada comum e pode ser atribuída à variação na composição das dietas, como a concentração de PNAs nos ingredientes, por exemplo, que pode variar de acordo com cultivar da planta, tipo de solo, época de colheita, entre outros fatores; ao nível nutricional e energético da ração; à própria formulação adotada; entre outros.

No presente estudo foi possível observar que o uso de enzimas que degradam PNAs apresentou alguns resultados positivos em termos de desempenho e digestibilidade, porém estes benefícios foram observados apenas no experimento relativo ao Capítulo III da tese, e principalmente nas fases iniciais de criação – até 21 dias. É importante observar as diferenças entre a composição das rações nos experimentos relacionados ao Capítulo II – sem resultados significativos com a suplementação das enzimas; e ao Capítulo III. Apesar de as dietas referentes aos dois experimentos apresentarem níveis energéticos e nutricionais semelhantes, o óleo de soja foi utilizado apenas no experimento referente ao Capítulo III, enquanto no outro experimento a fonte rica em gordura utilizada foi a soja integral desativada (tostada). A presença de antibiótico, anticoccidiano e até de fitase, no experimento do Capítulo II, também pode ter influenciado na ausência de resultados pela suplementação enzimática, uma vez que estes aditivos melhoram a saúde intestinal e favorecem ainda mais o desempenho produtivo de frangos, restando menor potencial para incrementos quando se suplementa enzimas exógenas.

Apesar de ser um resultado relativamente consistente na maioria dos estudos envolvendo o uso de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho, a baixa viscosidade da digesta dos frangos observada no experimento referente ao Capítulo II reforça a ideia de que o conteúdo de PNAs solúveis no milho e na soja não é suficiente para prejudicar a viscosidade e o acesso das enzimas digestivas aos seus substratos. Sendo assim, este efeito é praticamente nulo quando se utiliza dietas à base de milho, ou cereais não viscosos, e é provável que os efeitos gerados pelo uso de enzimas que degradam PNAs estejam realmente relacionados à degradação da parede celular vegetal e liberação de ingredientes encapsulados, bem como o efeito prebiótico indireto pela liberação de arabinosílo-oligossacarídeos a partir das arabinosílanas.

Desta forma, é possível que os benefícios promovidos pelo uso de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de cereais não viscosos, como o milho, estejam relacionados à taxa de trânsito intestinal, uma vez que foi possível observar respostas mais expressivas sobre o tempo médio de retenção no íleo distal, quando dietas de baixa energia foram suplementadas com enzimas. Assim, os níveis de inclusão de óleo, em conjunto com o nível energético da dieta, aparentam exercer importante influência sobre a eficácia do uso de enzimas que degradam PNAs em dietas à base de milho para frangos de corte.

Além disso, com as modificações sobre a cinética intestinal e com a degradação de PNAs e liberação de oligossacarídeos no trato digestivo das aves, as enzimas que degradam PNAs podem exercer impacto significativo sobre a microbiota intestinal, conforme já demonstrado em alguns estudos, o que gera um potencial de estudos muito grande, uma vez que a qualidade da microbiota pode ter um impacto crucial sobre o aproveitamento de nutrientes, a exigência nutricional e energética de manutenção da ave, bem como seu desempenho produtivo.

Por fim, é possível que a ausência e inconsistência de efeitos do presente estudo também esteja relacionada ao bom desempenho das aves, baixo desafio sanitário e à baixa densidade em um aviário experimental. As dietas foram formuladas com diferentes níveis energéticos, porém em ambos os casos os níveis adotados estão próximos aos valores recomendados pela maioria das tabelas e pelo manual da linhagem. Desta forma, as aves apresentaram desempenho muito próximo ao seu potencial máximo de produtividade, não deixando lacunas para possíveis incrementos de desempenho com uma estratégia nutricional, que neste caso foram as enzimas que degradam PNAs.