

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM
DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

Manuela Vantini Marujo

Zootecnista

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM
DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

Manuela Vantini Marujo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Thomaz

Co-orientador: Prof. Dr. Caio Abércio da Silva

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

2016

Marujo, Manuela Vantini
M389t Tipos de fibras e redução do nível proteico em dietas para leitões recém-desmamados/ Manuela Vantini Marujo. – Jaboticabal, 2016 x, 78 f, : il, ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Maria Cristina Thomaz
Co-orientador: Caio Abércio da Silva
Banca examinadora: Banca examinadora: Pedro Henrique Watanabe, Fabio Enrique Lemos Budiño, Pâmela R. Reina Moreira, Márcia Rita Fernandes Machado
Bibliografia

1.Desmame. 2. Fibra dietética. 3. Leitões. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.4:636.084.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEIÕES
RECÉM-DESMAMADOS

AUTORA: MANUELA VANTINI MARUJO

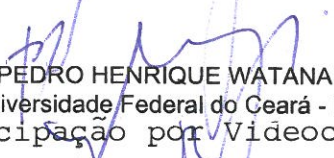
ORIENTADORA: MARIA CRISTINA THOMAZ

COORDENADOR: CAIO ABÉRCIO DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA,
pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARIA CRISTINA THOMAZ
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. PEDRO HENRIQUE WATANABE
UFC / Universidade Federal do Ceará - Fortaleza/CE
Participação por Videoconferência



Prof. Dr. FÁBIO ENRIQUE LEMOS BUDIÑO
Instituto de Zootecnia / APTA / Nova Odessa/SP



Prof. Dr. MÁRCIA RITA FERNANDES MACHADO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Dra. PAMELA RODRIGUES REINA MOREIRA
Pós-doutoranda / Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de
Jaboticabal

Jaboticabal, 30 de setembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Manuela Vantini Marujo - nascida em 20 de julho de 1988, na cidade de Jaboticabal/SP, filha de Victor Miguel Marujo e Ana Paula Vantini Marujo, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/Unesp em fevereiro de 2006 e graduou-se em dezembro de 2010. Em março de 2011 iniciou o curso de Mestrado da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias /Unesp - Câmpus de Jaboticabal, onde foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES, obtendo o título de Mestre em Zootecnia no dia 15 de fevereiro de 2013. Neste mesmo ano deu início às atividades do curso de Doutorado na mesma instituição, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo.”

(Albert Einstein)

“Primeiro foi necessário civilizar o homem em relação ao próprio homem. Agora é necessário civilizar o homem em relação à natureza e aos animais.”

(Victor Hugo)

*Aos meus pais, Victor e Ana Paula, pelo amor e apoio incondicional.
Ao meu irmão João e cunhada Máira, que me proporcionaram o prazer de ser tia
e o amor a um ser que não é meu, mas a quem eu pertenço, Victor José.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar nessa caminhada, me proteger e me dar forças para que realizar meu trabalho.

À minha orientadora Professora Maria Cristina Thomaz por mais de 10 anos de trabalho, ensinamentos, exemplos e carinho.

Ao meu co-orientador Professor Caio Abércio da Silva pela oportunidade da orientação com os experimentos, doutorado sanduíche e a tese.

Aos professores da banca de qualificação e defesa, Marcia Machado, Luciano Hauschild, Fabio Enrique Lemos Budiño, Pedro Henrique Watanabe, Taís Sasahara e Pamela Moreira pela colaboração com esta Tese.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp – Câmpus de Jaboticabal e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado-sanduíche concedida, possibilitando minha estada por 6 meses na Universitat Autònoma de Barcelona - Espanha.

À Professora Rosimeri de Oliveira Vasconcelos por disponibilizar ajuda e laboratório para a execução das análises de imunohistoquímica e às suas orientadas Mayara e Pamela pelo auxílio em minhas análises.

À Professora Marcia Machado e à Taís Sasahara por disponibilizar o laboratório para as análises morfométricas e pelo auxílio em diferentes momentos da tese.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da FCAV-Câmpus de Jaboticabal, Sr. Wilson e José e aos funcionários da Fazenda Escola-UEL/PR, Sr. Pedro e José por todo auxílio e amizade durante meus experimentos.

Ao grupo de orientados da Professora Maria Cristina pela ajuda física e intelectual, Everton, Daniela, Fabricinho, Marco, Maryane, Patrícia e Fabricio.

Ao grupo de orientados e estagiários do Professor Caio pela ajuda e amizade durante meus experimentos, Eduardo, Roberta, Alyne, Marcino, Gabi, Jeffinho, Giovani e João

Aos amigos que me incentivaram e tornaram mais leve esses anos, Paula, Renan, André, Adriana, Livia, Inaê, Erika e Talita.

À todos que me contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

Muito obrigada

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| LISTA DE TABELAS | ii |
| LISTA DE FIGURAS | iii |
| CERTIFICADO CEUA | iv |
| RESUMO | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS | 5 |
| INTRODUÇÃO | 5 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 6 |
| Período pós-desmame..... | 6 |
| Redução no nível de proteína bruta de dietas..... | 8 |
| Fibra dietética..... | 9 |
| Fibra dietética e redução do nível proteico de dietas..... | 13 |
| AGRADECIMENTOS | 15 |
| REFERÊNCIAS | 15 |
| | |
| CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DE FONTES DE FIBRAS E DESEMPENHO, INCIDÊNCIA DE DIARREIA E TEMPO DE TRÂNSITO GASTROINTESTINAL DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES TIPOS DE FIBRAS E NÍVEL PROTEICO REDUZIDO | 22 |
| RESUMO | 22 |
| ABSTRACT | 23 |
| INTRODUÇÃO | 24 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 25 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 31 |
| CONCLUSÃO | 37 |
| AGRADECIMENTOS | 38 |
| REFERÊNCIAS | 38 |
| | |
| CAPÍTULO III – TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, MICROBIOLÓGICAS E A IMUNIDADE INTESTINAL | 43 |
| RESUMO | 43 |
| ABSTRACT | 45 |
| INTRODUÇÃO | 47 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 48 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 55 |
| CONCLUSÃO | 71 |
| AGRADECIMENTOS | 71 |
| REFERÊNCIAS | 71 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DE FONTES DE FIBRAS, DESEMPENHO, INCIDÊNCIA DE DIARREIA E TEMPO DE TRÂNSITO GASTROINTESTINAL DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES TIPOS DE FIBRAS E NÍVEL PROTEICO REDUZIDO

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabela 1. | Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas na fase I – dos 26 aos 35 dias de idade dos leitões..... | 28 |
| Tabela 2. | Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas na fase II – dos 36 aos 56 dias de idade dos leitões..... | 29 |
| Tabela 3. | Caracterização das fontes de fibras quanto à capacidade de retenção de água (CRA), volume de intumescimento (VI) e viscosidade (VISC)..... | 31 |
| Tabela 4. | Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA), tempo de trânsito gastrointestinal e incidência de diarreia de leitões dos 26 aos 56 dias de idade..... | 35 |

CAPÍTULO III – TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, MICROBIOLÓGICAS E A IMUNIDADE INTESTINAL

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabela 1. | Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas dos 26 aos 36 dias de idade dos leitões..... | 49 |
| Tabela 2. | Critérios histológicos utilizados para estabelecer os escores de lesão intestinal..... | 52 |
| Tabela 3. | Anticorpos primários utilizados nos cortes de duodeno, jejuno e íleo de leitões..... | 54 |
| Tabela 4. | Valores de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), relação da altura das vilosidades/profundidade das criptas (AV/PC) e número de células caliciformes (CC) na porção média do jejuno, de leitões abatidos aos 36 dias de idade, em função das dietas experimentais..... | 55 |
| Tabela 5. | Pesos relativos do estômago, intestino delgado, ceco, cólon e trato gastrointestinal, valores de pH dos conteúdos do intestino delgado e ceco e concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no conteúdo cecal e de ácido láctico no conteúdo ileal de leitões abatidos aos 36 dias de idade..... | 59 |
| Tabela 6. | Contagens de <i>Lactobacillus</i> e <i>E. coli</i> (log UFC/g) no conteúdo intestinal de leitões abatidos aos 36 dias de idade..... | 62 |
| Tabela 7. | Contagens (nº de células imunomarcadas) de linfócitos T (CD3), B (CD79) e macrófagos (MAC) na porção média do íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade..... | 63 |
| Tabela 8. | Valores de escores de lesão intestinal e número de células em apoptose e mitose no duodeno, jejuno e íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade..... | 68 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DE FONTES DE FIBRAS, DESEMPENHO, INCIDÊNCIA DE DIARREIA E TEMPO DE TRÂNSITO GASTROINTESTINAL DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES TIPOS DE FIBRAS E NÍVEL PROTEICO REDUZIDO

- Figura 1.** Elétron-micrografias da lignocelulose (1), celulose (2), pectina (3) e goma guar (4)(180x)..... 32
- Figura 2.** Elétron-micrografias da lignocelulose (1), celulose (2), pectina (3) e goma guar (4)(1600x)..... 32

CAPÍTULO III – TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, MICROBIOLÓGICAS E A IMUNIDADE INTESTINAL

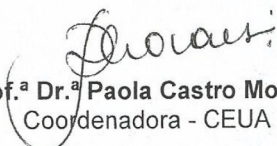
- Figura 1.** Fotomicrografia do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. CLE: camada muscular longitudinal externa; CCI: camada muscular circular interna; V: vilosidade; C: cripta; Setas: células caliciformes. Coloração: Alcian Blue..... 56
- Figura 2.** Fotomicrografia do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. CLE: camada muscular longitudinal externa; CCI: camada muscular circular interna; V: vilosidade; C: cripta; Setas: células caliciformes. Coloração: PAS..... 56
- Figura 3.** Fotomicrografia da imunomarcação de linfócitos T em vilosidades ileais de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar forte imunomarcação na membrana das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x..... 64
- Figura 4.** Fotomicrografia da imunomarcação de linfócitos B nas placas de Peyer do íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar forte imunomarcação na membrana das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x..... 65
- Figura 5.** Fotomicrografia da imunomarcação de macrófagos nas criptas ileais de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar forte imunomarcação no citoplasma das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x..... 65
- Figura 6.** Fotomicrografia da imunomarcação das células em apoptose nas vilosidades do duodeno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar forte imunomarcação no citoplasma das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x..... 69
- Figura 7.** Fotomicrografia da imunomarcação de proliferação célula/r nas criptas do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar forte imunomarcação intranuclear das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x..... 69

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 03321/14 do trabalho de pesquisa intitulado “**Fontes de fibra e redução do nível proteico de dietas para leitões recém-desmamados**”, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Maria Cristina Thomaz está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de março de 2014.

Jaboticabal, 11 de março de 2014.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora - CEUA

TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

Resumo - Foram conduzidos três experimentos para avaliar diferentes fontes de fibras purificadas e seus efeitos em dietas, com níveis proteicos reduzidos, sobre o desempenho e a saúde intestinal de leitões recém-desmamados. No experimento I foram caracterizadas quatro fontes de fibras purificadas, quanto à capacidade de retenção de água, volume de intumescimento, microestrutura e viscosidade. No experimento II foram avaliados o desempenho, a incidência de diarreia e o tempo de trânsito gastrointestinal de 84 leitões desmamados aos 26 dias de idade. No experimento III foram avaliados o pH, o peso relativo de órgãos do trato gastrointestinal, as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido lático, a morfologia e a microbiologia da mucosa intestinal, os escores de lesão, as células em apoptose e mitose, e a imunidade intestinal de 42 leitões desmamados aos 26 dias de idade. Nos experimentos II e III, os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos completos casualizados, com seis tratamentos: DC: dieta controle sem redução proteica; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais da proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente. A inclusão de goma guar à dieta resultou em piores ($P < 0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar, assim como no maior ($P < 0,05$) tempo de trânsito gastrointestinal comparado à inclusão de celulose, que apresentou o menor. O peso final dos leitões foi menor ($P < 0,05$) com a adição de goma guar em comparação à dieta controle e aquelas contendo pectina e lignocelulose. Os animais alimentados com dieta com celulose apresentaram a menor ($P < 0,05$) contagem de *Lactobacillus* e a maior ($P < 0,05$) relação altura das vilosidades/profundidade das criptas, não diferindo daquela com lignocelulose, mas das outras dietas avaliadas. No duodeno, o número de células em apoptose foi menor ($P < 0,05$) nos animais que consumiram dieta contendo celulose; o número de células em mitose foi maior ($P < 0,05$) nos leitões consumindo as dietas controle e com pectina e os escores de lesão foram menores ($P < 0,05$) nos animais alimentados com celulose e lignocelulose. Não foram observadas alterações ($P > 0,05$) no jejuno dos leitões. No íleo, o número de células em mitose foi maior ($P < 0,05$) nos animais alimentados com

as dietas controle, com redução proteica e com pectina e os escores de lesão foram menores ($P < 0,05$) nos leitões que consumiram a dieta contendo celulose. Conclui-se que as fibras solúveis, principalmente a goma guar, apresentam maior capacidade de retenção de água, volume de intumescimento e viscosidade em relação às insolúveis. A redução no nível proteico não influencia o desempenho e a saúde intestinal dos animais. A inclusão de goma guar à dieta proporciona prejuízos ao desempenho dos animais e maior tempo de trânsito gastrointestinal. A inclusão de fibras purificadas insolúveis, especialmente a celulose, à dieta com nível proteico reduzido, proporciona benefícios à morfologia do epitélio intestinal de leitões, como melhor relação altura das vilosidades/profundidade das criptas, menores escores de lesão intestinal e apoptose.

Palavras-chave: desmame, fibra dietética, saúde intestinal, suínos

TYPES OF FIBERS AND REDUCED LEVEL OF PROTEIN IN DIETS FOR WEANLING PIGS

Abstract - Three trials were conducted to evaluate different purified fibers sources and their effects in diets with reduced protein level on performance and intestinal health of weanling pigs. In trial I were characterized four purified fiber sources as to the water retention capacity, swelling volume, microstructure and viscosity. Performance, incidence of diarrhea and gastrointestinal transit of time of 84 piglets weaned at 26 days of age were evaluated in trial II. In trial III were evaluated pH, the relative organs weight of the gastrointestinal tract, concentrations of fatty acid short chain and lactic acid, the morphology and microbiology of the intestinal mucosa, the lesion scores, the apoptosis and mitotic cells and the intestinal immunity of 42 piglets weaned 26 days old. In both experiments, the animals were distributed in a randomized complete block design, with six treatments: CD: control diet without protein reduction; RD: CD with a reduction of four percent of crude protein; DF1, DF2, DF3 and DF4: RD with addition of 2.0% of lignocellulose, cellulose, pectin and guar gum, respectively. The inclusion of guar gum in the diet resulted in worse ($P<0.05$) daily gain and feed conversion, as well as the largest ($P<0.05$) gastrointestinal transit time compared to the inclusion of cellulose, which had the lowest. The final weight of the piglets was lower ($P<0.05$) with the addition of guar gum compared to the control diet, pectin and lignocellulose. The animals fed cellulose have the lowest ($P<0.05$) Lactobacillus count and the best ($P<0.05$) ratio of villus height and crypt depth, not differing from lignocellulose, but with the other evaluated diets. In the duodenum the number of cells in apoptosis was lower ($P<0.05$) in the animals fed diet with cellulose, the number of cells in mitosis was bigger ($P<0.05$) with control diet and pectin and the lesion scores were lower ($P<0.05$) in the animals fed diets with cellulose and lignocellulose. No alterations ($P>0.05$) were observed in the jejunum of the piglets. In the ileum, the number of cells in mitosis was bigger ($P<0.05$) in the animals fed control diet, reduced protein diet and pectin and the lesion scores were lower ($P<0.05$) for those fed cellulose. In conclusion the soluble fibers, especially guar gum, have higher water holding capacity, swelling and viscosity. The reduced level of crude protein do not influence the performance and the intestinal health of the animals. The inclusion of guar in the diet provide the worse results for

performance parameters and increased gastrointestinal transit time. The inclusion of purified insoluble fibers, especially cellulose, to the diets with reduced protein level, provide benefits for the morphology of the intestinal epithelium of the piglets, such as better villus height and crypt depth ratio, lower intestinal lesion scores lower and apoptosis.

Keywords: dietary fiber, intestinal health, weaning, swines

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

Após restrições impostas pela União Europeia quanto ao uso de antibióticos e quimioterápicos como promotores de crescimento em dietas animais, novas estratégias nutricionais e ingredientes alimentares que contribuam para o funcionamento eficaz do trato gastrointestinal, especialmente no período pós-desmame, e que favoreçam o desempenho, são necessários na produção intensiva de suínos.

O desmame é um período crítico na vida dos leitões, marcado por mudanças sociais, ambientais e nutricionais, que afetam fisiologicamente o animal, podendo inibir o consumo alimentar e a taxa de crescimento (DIAS et al., 2014), além de estar associado a problemas entéricos. As dietas de leitões, após o desmame, apresentam alta concentração de proteína bruta, o que pode aumentar a fermentação microbiana da proteína não digerida, e incentivar a proliferação de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal (BALL e AHERNE, 1987; HTOO et al., 2007), favorecendo a ocorrência e duração de diarreias.

A fibra dietética é um ingrediente fisiologicamente ativo, ou seja, estimula a motilidade intestinal, a taxa de *turnover* dos enterócitos e aumenta as taxas de secreções gástrica e intestinal (WHITNEY et al., 2006) e sua inclusão em dietas para suínos está associada à melhora da saúde intestinal dos animais, uma vez que estimula o desenvolvimento dos segmentos intestinais (LONGLAND et al., 1994), influencia o sistema imunológico (SCHLEY e FIELD, 2002), além de reduzir, potencialmente, os efeitos nocivos da fermentação proteica (McBURNEY et al., 1987). Fibra dietética é definida como a soma de lignina e polissacarídeos que não são digeridos (polissacarídeos não amiláceos) por secreções endógenas do trato digestório (TROWELL et al., 1976), e pode ser classificada como solúvel ou insolúvel, possuindo efeitos bem distintos (JOHNSTON et al., 2003).

A fibra dietética solúvel pode aumentar a viscosidade do quimo, diminuindo o contato enzimas-substrato (CAMPBELL e BEDFORD, 1992) e favorecer a proliferação de *Lactobacillus* (WELLOCK et al., 2008); já a insolúvel reduz o tempo de trânsito

gastrointestinal (FREIRE et al., 2000) e a incidência de diarreia (PASCOAL et al., 2012), podendo aumentar a produção de secreções gastrointestinais (VAREL e YEN, 1997).

A literatura é restrita quanto aos efeitos de fontes de fibras purificadas em dietas para animais, sendo necessário, inicialmente, caracterizá-las e diferenciá-las daquelas contidas nos cereais e coprodutos, cujas características têm sido extrapoladas a estas fontes purificadas, tornando difícil estabelecer resultados esperados a efeitos pouco conhecidos.

Dessa forma, objetivou-se caracterizar quatro fontes de fibras purificadas (lignocelulose, celulose, pectina e goma guar) e avaliar seus efeitos sobre o desempenho, características morfofisiológicas, microbiológicas e imunidade intestinal, em dietas com nível proteico reduzido para leitões recém-desmamados.

REVISÃO DE LITERATURA

Período pós-desmame

O período pós-desmame é a fase mais crítica para os leitões, pois desafios sociais, fisiológicos e ambientais atuam simultaneamente e incidem sobre os animais, tornando-os predispostos a problemas entéricos. O desmame precoce também expõe os animais, imunitária e fisiologicamente imaturos, a esses problemas (ALFIERI et al., 1994). As diarreias pós-desmame causam, à suinocultura, grandes perdas econômicas, determinadas por mortalidade, decréscimo na taxa de ganho de peso e piora na conversão alimentar, principalmente na primeira semana (CAMPBELL et al., 2013).

A transição alimentar dos leitões no período pós-desmame, requer a produção de secreções apropriadas do estômago, pâncreas e intestino, que são pouco desenvolvidos neste período. Conseqüentemente, essa mudança resulta em estresses fisiológico e nutricional, reduzindo a ingestão de ração e exigindo a adaptação do trato digestório ao novo regime alimentar, o que inclui, inicialmente, alterações de pH e microbiota, baixas secreção enzimática e motilidade intestinal (MAKKINK et al., 1994).

A anorexia pós-desmame (BACH KNUDSEN et al., 2012) resulta em alterações histológicas no intestino delgado, como encurtamento de vilosidades e hiperplasia de criptas, resultantes da baixa taxa mitótica dos enterócitos, o que diminui as capacidades digestiva e absorptiva desse órgão (PLUSKE et al., 1997; HÖTZEL e MACHADO FILHO, 2004). Além da redução na absorção de nutrientes ocorre, também, queda na absorção de líquidos, promovendo a ocorrência de diarreia osmótica (NABUURS et al., 2003).

A baixa capacidade temporária dos leitões em acidificar o conteúdo gástrico e as insuficientes secreção e atividade de enzimas gástricas e pancreáticas (MOLLY, 2001), aliadas ao excesso de alimentos não digeridos e proteína endógena, presentes nos intestinos, propiciam ambiente favorável à proliferação de bactérias patogênicas (LALLÈS et al., 2007; HEO et al., 2009). Esta condição estimula a fermentação proteica no intestino grosso, e a consequente produção de ácidos graxos de cadeia ramificada, fenóis, amônia e aminas biogênicas, que estão relacionados com as diarreias pós-desmame (PLUSKE et al., 2002; HTOO et al., 2007; KIM et al., 2008).

O desmame também tem efeito deletério na função da barreira intestinal, pois o lúmen epitelial é a primeira linha de defesa, do organismo do leitão, contra microrganismos nocivos, toxinas ou antígenos que residem no intestino delgado. Quando a barreira intestinal é rompida, há aumento da permeabilidade às toxinas, bactérias e alimentos associados a antígenos, que atravessam o epitélio e resultam em inflamação, má absorção, diarreia e crescimento reduzido, impactando negativamente na produção (CAMPBELL et al., 2013).

É necessário estudar os “mecanismos de atuação” ao avaliar propriedades funcionais de ingredientes ou aditivos utilizados na alimentação animal, de modo que possibilite entender melhor em quais condições há possibilidade de atingir respostas ótimas com intervenções dietéticas, além de considerar as capacidades digestiva e absorptiva, barreiras química e física, diversidade e carga da microbiota e função imunológica (LANGE et al., 2010). Alterações na composição da dieta de leitões desmamados refletem-se na população microbiana e suas atividades metabólicas sobre a fisiologia do trato gastrointestinal, no entanto, influências sobre o sistema imune ainda não foram completamente elucidadas (LALLÈS et al., 2007).

Ingredientes fibrosos são fisiologicamente ativos e vão além do fornecimento de nutrientes biodisponíveis (PETTIGREW, 2008). No entanto, o nível de inclusão em dietas para leitões é complexo, pois depende do objetivo a ser alcançado, e melhores respostas podem ser obtidas pesquisando-se ingredientes com combinação adequada de carboidratos, assim como de proteínas, que vão melhorar diferentes aspectos do trato gastrointestinal (LANGE et al., 2010).

Redução no nível de proteína bruta de dietas

O alto nível de proteína bruta (PB), característico das dietas de leitões no período pós-desmame, aliado à proibição da União Europeia ao uso de antibióticos, quimioterápicos ou traços de elementos metálicos, como melhoradores de desempenho, em consequência à resistência bacteriana aos antibióticos em humanos e animais, bem como o aumento da poluição ambiental causada por níveis elevados de cobre e zinco no dejetos animal (LALLÈS, 2008), intensificaram a ocorrência de problemas entéricos na fase de creche.

Os problemas entéricos no período pós-desmame geram prejuízos à cadeia produtiva, portanto, é necessária a procura e avaliação de novos aditivos alternativos e abordagens nutricionais que beneficiem o desempenho e a saúde intestinal de leitões recém-desmamados.

Uma estratégia nutricional utilizada é a redução do nível de proteína bruta das dietas e a suplementação com aminoácidos sintéticos, tais como lisina, metionina, treonina e triptofano, principalmente, com o objetivo de diminuir o fornecimento de nitrogênio e energia para a fermentação microbiana, o que reduzirá a formação de metabólitos (amônia, ácidos graxos de cadeia ramificada, cadaverina, putrecina) no trato gastrointestinal e, conseqüentemente, a incidência de diarreia, sem afetar o desempenho dos animais (HANSEN et al., 1993; HERMES et al., 2009). Dietas com alto nível proteico, têm maior capacidade tamponante, o que aumenta o pH da digesta, propiciando meio favorável à proliferação de patógenos (PARTANEN e MROZ, 1999).

Estudos comprovaram que dietas com menor teor de proteína bruta reduzem as excreções de nitrogênio na urina (Le BELLEGO e NOBLET, 2002); as concentrações de amônia e de putrecina nos conteúdos ileal e cecal, respectivamente (BIKKER et al., 2006; HTOO et al., 2007); a fermentação proteica (BALL E AHERNE,

1987); sem interferir no desempenho dos animais (Le BELLEGO e NOBLET, 2002). No entanto, quando restrições proteicas são superiores a quatro pontos percentuais em dietas para leitões, mesmo que suplementadas com lisina, metionina, treonina e triptofano, o desempenho dos animais pode ser limitado por alguns aminoácidos, como valina e isoleucina (FIGUEROA et al., 2002; NYACHOTI et al., 2006).

Htoo et al. (2007) não observaram diferenças no desempenho dos animais, desmamados aos 19 dias de idade, quando a concentração de proteína bruta na dieta foi reduzida de 24 para 20% e suplementada com lisina, metionina, treonina, triptofano, valina e isoleucina. Outro estudo de Heo et al. (2008) sobre os efeitos do fornecimento de uma dieta com baixo nível proteico, mas suplementada com aminoácidos essenciais, demonstrou reduções na excreção de amônia fecal, na fermentação proteica, na aplicação de antibióticos e melhora na consistência fecal, sem afetar o desempenho de leitões recém-desmamados.

A redução dos níveis de proteína bruta e a inclusão de uma fonte de fibra às dietas, tem demonstrado efeitos positivos para leitões recém-desmamados. Jeurond et al. (2008) constataram redução na produção de metabólitos nocivos, resultantes da fermentação proteica, com a inclusão de carboidratos fermentáveis. O aumento no fornecimento de fibra dietética na dieta permite que o excesso de compostos nitrogenados não absorvidos, possa ser utilizado para multiplicação de bactérias benéficas, ao invés de ser fermentado e utilizado como fonte de energia por bactérias patogênicas (HOUDIJK, 1998).

Fibra dietética

A fibra dietética é definida como a soma de polissacarídeos (polissacarídeos não amiláceos) e lignina, que não são hidrolisados por enzimas endógenas do sistema digestório de mamíferos, aves e peixes (BACH KNUDSEN et al., 1997; WENK, 2001). É, predominantemente, encontrada na parede celular das plantas, tendo função estrutural e podendo, ainda, estar associada com proteínas, ácidos graxos e ceras (McDOUGALL et al., 1996; CHOCT, 1997).

Os polissacarídeos não amiláceos (PNA) incluem pectinas, celulose, hemicelulose, β -glucanas e frutanas, e suas propriedades fisiológicas e fermentabilidade estão relacionadas com a solubilidade, viscosidade, estrutura física

e capacidade de retenção de água (ASP, 1996). O grau de fermentação depende, principalmente, do tipo de PNA (VAREL e YEN, 1997).

A lignina não é digerida por suínos e nem significativamente fermentada por microrganismos intestinais (GRAHAM et al., 1986; SHI e NOBLET, 1993). Além de ser indigestível, influencia a digestibilidade dos outros componentes fibrosos da dieta, como a celulose, tornando-a menos acessível aos microrganismos do intestino grosso reduzindo, assim, a taxa e a extensão da fermentação (JOHNSTON et al., 2003).

A fibra dietética pode ser classificada como solúvel (pectinas, β -glucanas e frutanas) e insolúvel (hemicelulose e celulose) e possuem efeitos bem diferentes; a solúvel aumenta a viscosidade do quimo (MORRIS, 1992), criando um microambiente favorável, dentro do lúmen intestinal, para proliferação de microrganismos (McDONALD et al., 2001), podendo interferir nos processos de digestão e absorção de nutrientes no intestino, pois reduz a taxa de esvaziamento gástrico (ELLIS et al., 1995) e o contato enzimas-substrato (CAMPBELL e BEDFORD, 1992). A fibra insolúvel, por sua vez, modifica a motilidade gastrointestinal, reduz o tempo de trânsito da digesta (CARNEIRO et al., 2008) e a absorção de nutrientes (MONTAGNE et al., 2003), podendo aumentar a produção de secreções gástricas, biliares, pancreáticas, de muco e água (VAREL e YEN, 1997).

O acréscimo de fibra dietética solúvel em dietas pode aumentar a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AWATI et al., 2006) e reduzir as contagens de *Escherichia coli* e enterobactérias (SCHIAVON et al., 2004). Já o aumento da fibra dietética insolúvel pode reforçar a microbiota comensal no intestino grosso (WILLIAMS et al., 2001) e reduzir a incidência de diarreia (PASCOAL et al., 2012).

Ingredientes fibrosos podem conter, predominantemente, um tipo ou outro de fibra, pois não são fontes purificadas; portanto, os resultados obtidos são creditados àquele tipo de fibra que prevalece no ingrediente (JOHNSTON et al., 2003). As propriedades físico-químicas dos PNA, que constituem a fibra, estão ligadas diretamente à sua natureza e interferem em seus processos de digestão e absorção.

A fermentação da fibra dietética por microrganismos do intestino grosso de suínos, resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta (BACK KNUDSEN e JORGENSEN, 2001), ácido lático, água e gases, como CO₂, H₂ e CH₄ (BINDELLE et al., 2008). Os principais AGCC produzidos são acético, propiônico e butírico (KARR-

LILIENTHAL et al., 2005) e são quase completamente absorvidos por difusão passiva no lúmen intestinal e utilizados de diferentes formas pelo organismo (BERGMAN, 1990); o butírico é fonte de energia para atividades metabólicas e estimula o desenvolvimento epitelial dos intestinos delgado e grosso; o propiônico é um eficiente substrato para a gliconeogênese e o acético é carregado para o fígado e atua como fonte de energia muscular (ROEDIGER, 1982; MONTAGNE et al., 2003).

Os AGCC são capazes de estimular a reabsorção de sódio e, conseqüentemente, de água no intestino grosso (MAY et al., 1994; MOSENTHIN et al., 2001), proporcionando a reidratação dos animais e reduzindo o potencial de diarreia não patogênica (ROEDIGER E MOORE, 1981; JOHNSTON et al., 2003). Em meio ácido, são capazes de inibir o crescimento de patógenos intestinais como *Escherichia coli* e *Clostridium* spp. favorecendo, assim, a proliferação de microrganismos benéficos como *Lactobacillus* e bifidobactérias (MAY et al., 1994; HOUDIJK et al., 1998; MAZO et al., 2009).

O conceito de saúde intestinal é complexo e, atualmente, mal definido (MONTAGNE et al., 2003). Existem três grandes componentes da saúde intestinal, que devem estar em equilíbrio: a dieta, a mucosa e a microbiota comensal (CONWAY, 1994). A mucosa é composta pelo epitélio digestivo, o tecido linfoide associado ao intestino (TLAI) e o muco que se sobrepõe ao epitélio. O TLAI, bactérias comensais, muco e células epiteliais interagem entre si formando um equilíbrio delicado e dinâmico dentro do trato digestório, que assegura o funcionamento eficaz do sistema digestório. A dieta deve ser selecionada de maneira a favorecer as condições intestinais e estabilizar o equilíbrio entre os componentes (VAN DIJK et al., 1999). A fibra dietética é o principal substrato para a fermentação bacteriana no intestino grosso de animais não ruminantes, e interage tanto com a microbiota quanto com a mucosa, influenciando diretamente a anatomia, a função e o desenvolvimento do trato gastrointestinal (MONTAGNE et al., 2003).

Embora nutrientes específicos sejam importantes no desenvolvimento e na função do sistema imune (ALEXANDER, 1995; SCHLEY e FIELD, 2002), sabe-se pouco sobre o impacto de fibras dietéticas na função imunológica. No entanto, estudos demonstraram menor incidência de translocação bacteriana através da barreira do intestino, com a inclusão de fibra dietética (DEITCH et al., 1993; FRANKEL et al.,

1995; XU et al., 1998), sugerindo que este nutriente dietético modula a imunidade (SCHLEY e FIELD, 2002).

Schley e Field (2002) relataram que o sistema imunológico é definido como a defesa do hospedeiro às forças destrutivas internas e externas ao corpo, e as respostas imunitárias são classificadas como inatas ou adquiridas (adaptativas). O sistema imunológico inato protege o organismo durante os 4-5 dias necessários para que os linfócitos sejam “ativados”, sendo os macrófagos, monócitos e neutrófilos seus principais componentes celulares, além de incluir barreiras física e membranosa mediada por células (DELVES e ROITT, 2000). O sistema imunológico adquirido desenvolve-se ao longo da vida do indivíduo e suas respostas imunes, geralmente, ocorrem após as do sistema inato e são específicas para antígenos e mais eficientes quando expostas ao agente patogênico, sendo os linfócitos o componente celular mais importante, pois modulam a função de outras células do sistema imunológico ou destroem as células infectadas com patógenos intracelulares (GOUST e BIERER, 1993).

O “pool” linfocitário é dividido em linfócitos T e B. A resposta humoral e a produção de anticorpos são mediadas pelos linfócitos B, enquanto os linfócitos T são responsáveis por padrões de resposta celular (TIZARD, 2002). O TLAI é composto de tecido agregado sob a forma de placas de Peyer, folículos linfoides solitários, células não-agregadas na lâmina e regiões intra-epitelial do intestino, bem como os linfonodos no mesentério. As placas de Peyer são agregados de folículos linfoides encontrados em toda a mucosa e submucosa do intestino delgado, e contém células T, B, plasmócitos, macrófagos e células dendríticas (LANGKAMP-HENKEN et al., 1992).

O intestino é a primeira linha de defesa do organismo e integra interações complexas entre dieta, patógenos externos, processos imunológicos locais e não imunológicos. Portanto, respostas imunitárias ocorrem para potenciais agentes patogênicos, contudo, é igualmente importante que as reações de hipersensibilidade a antígenos dietéticos sejam minimizadas (SCHLEY e FIELD, 2002). O entendimento de como a fibra dietética influencia morfológica, microbiológica e fisiologicamente o trato gastrointestinal e, conseqüentemente, as respostas imunológicas intestinais, pode auxiliar na compreensão da maneira como este nutriente modula a imunidade.

Pectina e goma guar (fibras solúveis), lignocelulose e celulose (fibras insolúveis) são as fontes de fibras purificadas avaliadas neste estudo, e que já foram incluídas em dietas, sem redução do nível proteico, para suínos, entretanto, suas características não estão totalmente definidas e seus efeitos ainda são divergentes. Hanczakowska et al. (2008) observaram que a inclusão de 2,0% de celulose purificada na dieta de leitões melhorou a morfologia intestinal, reduziu o número de bactérias anaeróbicas e a incidência de diarreia. Já Hedemann et al. (2006), ao avaliarem pectina e casca de cevada, verificaram que os animais que consumiram as dietas contendo fibra solúvel, apresentaram menores ganho de peso e consumo de ração, reduções nos parâmetros morfológicos e na produção de mucina. Em contrapartida, a inclusão de fibra solúvel (inulina) resultou em menor incidência de diarreia e maior concentração de *Lactobacillus*, porém sem diferenças na viscosidade da digesta dos animais, quando comparada à dieta contendo fibra insolúvel (celulose) (WELLOCK et al., 2008). No entanto, Owusu-Asiedu et al. (2006) observaram aumento na viscosidade da digesta ileal de suínos alimentados com dietas contendo fontes purificadas de fibra solúvel (goma guar) e insolúvel (celulose) e atribuíram os resultados à capacidade de retenção de água, concluindo que a celulose purificada possui características físico-químicas que normalmente são atribuídas, exclusivamente, aos PNA solúveis.

Fibra dietética e redução do nível proteico de dietas

Alguns estudos têm demonstrado os benefícios da inclusão de fontes de fibra em dietas, com nível proteico reduzido, para suínos; Bikker et al. (2006) ao avaliarem a redução de 7% no nível PB e inclusão de polpa de beterraba, farelo de trigo, amido de batata e mandioca, nas dietas de leitões, verificaram aumentos na população de *Lactobacillus* no intestino delgado, na produção de AGCC e ácido lático e redução na concentração de amônia no cólon, nos animais alimentados com dieta contendo menor nível de proteína bruta e maior de PNA, oriundos de ingredientes fibrosos. Os autores atribuíram estes resultados à incorporação do nitrogênio (N) proteico à biomassa bacteriana e à fermentação dos PNA no intestino grosso. No entanto, para elevar a quantidade de PNA das dietas, foram utilizados vários coprodutos, cuja

composição nutricional e o teor de fibras não possuem padrão estabelecido, variando regionalmente.

Redução na excreção de ureia na urina e aumentos na excreção de N e na concentração de AGCC nas fezes, sem diferenças no desempenho, foram observados por Shriver et al. (2003), ao avaliarem adições de 10% de polpa de beterraba (PNA solúveis) ou de casca de soja (PNA insolúveis) às dietas, com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta e suplementadas com lisina, metionina, treonina, triptofano, valina e isoleucina, para suínos.

Da mesma forma, O'Connell et al. (2006) estudaram a redução proteica e a adição de cereais (trigo e cevada) em dietas de leitões, e constataram aumentos na produção de AGCC e na população de bactérias benéficas nos conteúdos do ceco e do cólon, dos animais alimentados com dieta com menor teor de PB e cevada, a qual apresentava alto teor de PNA solúveis. Os autores atribuíram estes resultados, à maior quantidade de substrato para fermentação bacteriana presente neste cereal, o que resultou em menores absorção de amônia e excreção de ureia na urina e maior excreção de N bacteriano nas fezes.

Os ingredientes fibrosos normalmente utilizados como fontes de fibra, em dietas para animais, são produtos sem padronização, pois apresentam diferentes composições em fibras e são derivados de matérias primas com características variadas, divergindo na composição nutricional e nos efeitos na nutrição animal.

A utilização de fontes de fibras purificadas, aliada à redução do teor proteico de dietas, pode beneficiar a saúde intestinal de leitões, devido à alta concentração de PNA existente nessas fontes de fibra, possibilitando altas taxas de fermentação microbiana. Pesquisas avaliando o efeito sinérgico da redução proteica e da inclusão de fibras purificadas, em dietas para suínos, são escassas na literatura.

Com o surgimento e a utilização, em escala comercial, de fontes de fibras purificadas como ingredientes funcionais nas dietas de suínos, há a necessidade de caracterizá-las e diferenciá-las de cereais fibrosos e coprodutos, normalmente utilizados, pois às fontes purificadas são atribuídas as características daquelas não purificadas. A restrita literatura referente à utilização dessas fibras em dietas para leitões, torna difícil estabelecer resultados esperados quanto às características funcionais, que são pouco conhecidas e disseminadas. Portanto, a diferenciação das

fontes de fibras purificadas quanto à funcionalidade, permite conhecer suas características antes de fornecê-las aos animais e atribuir a cada uma, de maneira correta, os resultados obtidos possibilitando, também, compará-las.

AGRADECIMENTOS

Bolsa de estudos concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, J. W. Specific nutrients and the immune response. **Nutrition**, v. 11, p. 229–232, 1995.
- ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; FREITAS, J. C.; SILVA, C. A.; FREIRE, R. L.; BARROS, A. R.; BARREIROS, M. A. B.; MULLER, E. E. Occurrence of *Escherichia coli*, rotavirus, piccobirnavirus and *Cryptosporidium parvum* in a postweaning diarrhoea focus in swine. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 15, p. 5-7, 1994.
- ASP, N.G. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. **Food Chemistry**, v. 57, p. 9-14, 1996.
- AWATI, A.; WILLIAMS, B. A.; BOSCH, M. W.; VERSTEGEN, M. W. Dietary carbohydrates with different rates of fermentation affect fermentation and-product profiles in different sites of gastro-intestinal tract of weaning piglet. **Animal Science**, v. 82, p. 837-843, 2006.
- BACH KNUDSEN, K. E.; JOHANSEN, H. N.; GLITSO, V. Methods for analysis of dietary fibre - advantage and limitations. **Journal Animal Feed Science**, v. 6, p. 185-206, 1997.
- BACH KNUDSEN, K. E.; JORGENSEN, H. Intestinal degradation of dietary carbohydrates. In: Lindberg, J. E.; Ogle, B. (Eds). **Digestive Physiology of Pigs**, Wallingford, 2001, p. 109-120.
- BACH KNUDSEN, K. E.; HEDEMANN, M. S.; LÆRKE, H. N. The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 41-53, 2012.
- BALL, R. O.; AHERNE, F. X. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. 2. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1093-1103, 1987.
- BERGMAN, E. M. Energy contributions on volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physical Review**, v. 70, p. 567-590, 1990.

BIKKER, P.; DIRKZWAGER, A.; FLEDDERUS, J.; TREVISI, P.; LE HUËROULURON, I.; LALLÈS, J. P.; AWATI, A. The effect of dietary protein and fermentable carbohydrates levels on growth performance and intestinal characteristics in newly weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3337-3345, 2006.

BINDELLE, J.; LETERME, P.; BULDGEN, A. Nutritional and environmental consequences of dietary fibre in pig nutrition: a review. **Biotechnology Agronomy Society and Environment**, v. 12, p. 69-80, 2008.

CAMPBELL, G. L.; BEDFORD, M. R. Enzyme applications for monogastric feeds: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 72, p. 449-466, 1992.

CAMPBELLI, J. M.; CRENSHAW, J.D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, p. 1-4, 2013.

CARNEIRO, M. S. C.; LORDELLO, M. M.; CUNHA, L. F.; FREIRE, J. P. B. Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 146, p. 124-136, 2008.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**. p. 13-26. 1997.

CONWAY, P.L. Function and regulation of the gastrointestinal microbiota of the pig. In: Souffrant, W.B., Hagemester, H. (Eds.), **Proceedings of the Vth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs**. EAAP Publication n°. 80, Dummerstorf, 1994, p. 231-240.

DEITCH, E. A.; XU D.; LU, Q.; BERG, R. Elemental diet-induced immune suppression is caused by both bacterial and dietary factors. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 17, p. 332-336, 1993.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The immune system: first of two parts. **New England Journal of Medicine**, v. 343, p. 37-49, 2000.

DIAS, C. P.; SILVA, C. A.; MANTECA, X. **Bem-Estar dos Suínos**, Londrina: o Autor, 2014. p. 181-378.

ELLIS, P.R.; ROBERTS, F.G.; LOW, A.G.; MORGAN, L.M. The effect of high molecular weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent insulin and gastric inhibitory polypeptide production in the growing pig: Relationship to rheological changes in jejuna digesta. **British Journal of Nutrition**, v. 74, p. 539-556, 1995.

FIGUEROA, J. L.; LEWIS, A. J.; MILLER, P. S.; FISCHER, R. L.; GÓMEZ, R. S.; DIEDRICHSEN, R. M. Nitrogen metabolism and growth performance of gilts fed standard corn-soybean meal diets or low-crude protein, amino acid-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 11, p. 2911-2919, 2002.

FRANKEL, W.; ZHANG, W.; SINGH, A.; BAIN, A.; SATCHITHANANDAM, S.; KLURFELD, D.; ROMBEAU, J. Fiber: effect on bacterial translocation and intestinal mucin content. **World Journal of Surgery**, 19, 144–149, 1995.

FREIRE, J. P. B.; GUERREIRO, A. J. G.; CUNHA, L. F.; AUMAITRE, A. Effect of dietary fiber source on total tract digestibility, caecum volatile fatty acids and digestive transit time in the weaned piglet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 87, p. 71-83, 2000.

GRAHAM, H.; HESSELMAN, K.; AMAN, P. The influence of wheat bran, the influence of wheat bran and sugar-beet pulp on the digestibility of dietary components in a cereal-based pig diet. **Journal of Nutrition**, p. 242-251, 1986.

GOUST J. M.; BIERER B. Cell-mediated immunity. **Immunology Series**, v. 58, p. 187–212, 1993.

HANCZAKOWSKA, E.; SWIATKIEWICZ, M.; BIAŁECKA, A. Pure cellulose as a feed supplement for piglets. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 64, p. 45-48, 2008.

HANSEN, J. A.; KNABE, D. A.; BURGOON, K. G. Amino acid supplementation of low-protein sorghum-soybean meal diets for 5- to 20-kilogram swine. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 452–458, 1993.

HEDEMANN, M. S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H. N.; PEDERSEN, C.; LINDBERG, J. E.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K. E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1375-1386, 2006.

HEO, J. M.; KIM, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Effects of feeding low protein diets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. **Archives of Animal Nutrition**, v. 62, p. 343–358, 2008.

HEO, J. M.; KIM, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 9, p. 2833-2843, 2009.

HERMES, R. G.; MOLIST, F.; YWAZAKI, M.; NOFRARÃ-AS, M.; GOMEZ DE SEGURA, A.; GASA, J.; PÉREZ, J. F. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 11, p. 3569-3577, 2009.

HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Comportamento e bem estar de leitões em relação à idade do desmame. **Revista Porkworld**, v. 21, p. 34-38, 2004.

HOUDIJK, J. G. M. Effects of non-digestible oligosaccharides in young pig diets, PhD, Diss., Wageningen Univ., Wageningen, the Netherlands, 1998.

HTOO, J. K.; ARAIZA, B. A.; SAUER, W. C.; RADEMACHER, M.; ZHANG, Y.; CERVANTES, M.; ZIJLSTRA, R. T. Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 12, p. 3303-3312, 2007.

JEAUROND, E. A.; RADEMACHER, M.; PLUSKE, J. R.; ZHU, C. H.; LANGE, C. F. M. Impact of feeding fermentable proteins and carbohydrates on growth performance, gut health and gastrointestinal function of newly-weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 88, p. 271–281, 2008.

JOHNSTON, L. J.; NOLL, S.; RENTERIA, A.; SHURSON, J. Feeding by-products high in concentration of fiber to nonruminants. In: National Symposium on Alternative Feeds for Livestock and Poultry, 3.. 2003, Kansas City, **Anais...** Kansas City, 2003, Não paginado.

KARR-LILIENTHAL, L. K.; KADZERE, C. T.; GRIESHOP, C. M.; FAHEY JR, G. C. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: a review. **Livestock Production Science**, v. 97, p. 1-12, 2005.

KIM, J. C.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, H. D. J.; PLUSKE, J. R. Addition of oat hulls to an extruded rice-based diet for weaner pigs ameliorates the incidence of diarrhoea and reduces indices of protein fermentation in the gastrointestinal tract. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 1217–1225, 2008.

LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Weaning a challenge to gut physiologists. **Livestock Production Science**, v. 108, p. 82–93, 2007.

LALLÈS, J. P. Nutrition and gut health of the young pig around weaning: what news? **Archiva Zootechnica**, v. 11, p. 5-15, 2008.

LANGE, C.F.M.; PLUSKE, J.; GONG, J.; NYACHOTI, C.M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, p. 124-134, 2010.

LANGKAMP-HENKEN, B.; GLEZER, J. A.; KUDSK, K. A. Immunologic structure and function of the gastrointestinal tract. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 7, p. 100–108, 1992.

LE BELLEGO, L.; NOBLET, J. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. **Livestock Production Science**, v. 7, p. 45-58, 2002.

LONGLAND, A. C.; CARRUTHERS, J.; Low, G. The ability of piglets 4 to 8 weeks old to digest and perform on diets containing two contrasting sources of non-starch polysaccharides. **Animal Production**, v. 58, p. 405-410, 1994.

MAKKINK, C. A.; BERNTSEN, P. J. M.; KAMP, B. M. L.; KEMP, B.; VERSTEGEN, W. A. Gastric protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to two different dietary protein sources in newly-weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2843-2850, 1994.

MAY, T.; MACKIE, R. I.; FAHEY, G. C. Effect of fiber source on short-chain fatty acid production and on the growth and toxin production by *Clostridium difficile*. **Scandinava Journal Gastroenterology**, Scandinava, v. 29, p. 916-922, 1994.

MAZO, J. Z.; ILHA, E. C.; ARISI, A. C. M. SANT'ANNA, E. S. BIFIDOBACTÉRIAS: ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS PROBIÓTICOS. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, 2009.

McBURNEY, M. I.; VAN SOEST, P. J.; JERACI, J. L. Colonic carcinogenesis: The microbial feast or famine mechanism. **Nutrition and Cancer**, v. 10, p.23–28, 1987.

McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newlyweaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 487-498, 2001.

McDOUGALL, G. L.; MORRISON, I. M.; STEWART, D.; HILLMAN, J. R. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, p. 133-150, 1996.

MOLLY, K. Formulating to solve the intestinal puzzle. **Pig Progress**, v. 17, p. 20-22, 2001.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, p. 95-117, 2003.

MORRIS, E. R. Physico-chemical properties of food polysaccharides. In: Schweizer, T.f. and Edward, C.A. (Eds), **Dietary fiber: a component of food: Nutritional function in health and disease**, 1992, p. 41-55.

MOSENTHIN, R.; HAMBRECHT, E.; SAUER, W. C. Utilisation of different fibres in piglet feeds. **Recent Development in Pig Nutrition**, v. 3, p. 293-322, 2001.

NABUURS, M. J. A.; ZIJDERVELD, F. G.; DE LEEUW, P. W. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research in Veterinary Science**, v. 55, p. 78-84, 2003.

NYACHOTI, C. M.; OMOGBENIGUN, F. O.; RADEMACHER, M.; BLANK, G. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 125-134, 2006.

O'CONNELL, J. M.; CALLAN, J. J.; O'DOHERTY, J. V. The effect of dietary crude protein level, cereal type and exogenous enzyme supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, faecal volatile fatty acid concentration and ammonia emissions from pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 127, p. 73-88, 2006.

OWUSU-ASIEDU, A.; PATIENCE, J. F.; LAARFELD, B.; Van KESSEL, A. G.; SIMMINS, P. H.; ZIJLSTRA, R. T. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 843- 852, 2006.

PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, p. 117–145, 1999.

PASCOAL, L. A. F.; THOMAZ, M. C.; WATANABE, P. H.; RUIZ, U. S.; EZEQUIEL, J. M. B.; AMORIM, A. B.; DANIEL, E.; MASSON, G. C. I. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n.3, p. 636-642, 2012.

PETTIGREW, J. E. Ingredientes alimentares que melhoram a saúde. **Revista Porkworld**, v. 46, p. 278-283, 2008.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAM, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig, a review. **Livestock Production Science**, v.51, p.215-236, 1997.

PLUSKE, J. R.; PETHICK, D. W.; HOPWOOD, D. E.; HAMPSON, D. J. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. **Nutrition Research Reviews**, v. 15, p. 333–371, 2002.

ROEDIGER, W. E. W.; MOORE, A. effect of short chain fatty acids on sodium absorption in isolated human colon perturbed through the vascular bed. **Digestive Diseases and Science**, v. 26, p. 100–106, 1981.

ROEDIGER, W. E. W. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, v. 83, p. 424–429, 1982.

SCHIAVON, S.; TAGLIAPIETRA, F.; BAILONI, L.; BORTOLOZZO, A. Effects of sugar beet pulp on growth and health status of weaned piglets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, p. 337-351, 2004.

SHI, X. S.; NOBLET, J. Contribution of the hindgut to digestion of diets in growing pigs and adult sow: effect of diet composition. **Livestock Production Science**, v. 38, p. 225–235, 1993.

SCHLEY, P. D.; FIELD, C. J. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 221–230, 2002.

SHRIVER, J. A.; CARTER, S. D.; SUTTON, A. L.; RICHERT, B. T.; SENNE, B. W.; PETTEY, L. A. Effects of adding fiber sources to reduced-crude protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance, and carcass traits of finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 492-502, 2003.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo:Roca, 2002. 532p.

TROWELL, H.; SOUTHGATE, D. A. T.; WOLEVER, T. M. S.; LEEDS, A. R.; GASSULL, M. A.; JENKINS, D. J. A. Lancet: o Autor, 1976. Dietary fibre redefined. p.1:967.

VAN DIJK, J. E.; MOUWEN, J. M.; KONINKX, J. F. Review on histology and absorptive capacity of the gastro-intestinal epithelium. In: Jansman, A.J.M.; Huisman, J. (Eds.), **Nutrition and Gastrointestinal Physiology—Today and Tomorrow**. TNO, Wageningen, 1999, p. 1–8.

VAREL, V. H.; YEN, J. T. Microbial perspective on fiber utilization by swine, **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2715-2722, 1997.

WELLOCK, I. J.; FORTOMARIS, P. D.; HOUDIJK, J. G. M.; WISEMAN, J.; KYRIAZAKIS, I. The consequences of non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on the health and performance of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 520–530, 2008.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p.21-33, 2001.

WHITNEY, M. H.; SHURSON, G. C.; GUEDES, R. C. Effects of dietary fiber inclusion of distillers dried grains with soluble, soybean hulls, or a polyclonal antibody product on the ability of growing pigs to resist a *Lawsonia intracellularis* challenge. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1880-1889, 2006.

WILLIAMS, B. A.; VERSTEGEN, M. W. A.; TAMMINGA, S. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. **Nutrition Research Review**, v. 14, p. 207–227, 2001.

XU D.; LU, Q.; DEITCH, E. A. Elemental diet-induced bacterial translocation associated with systemic and intestinal immune suppression. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 22, p. 37–41, 1998.

CAPÍTULO II - CARACTERIZAÇÃO DE FONTES DE FIBRAS E DESEMPENHO, INCIDÊNCIA DE DIARREIA E TEMPO DE TRÂNSITO GASTROINTESTINAL DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES TIPOS DE FIBRAS E NÍVEL PROTEICO REDUZIDO

RESUMO

Foram realizados dois experimentos para caracterizar diferentes fontes de fibras purificadas e avaliar seus efeitos em dietas com nível proteico reduzido para leitões recém-desmamados. No experimento I, foram caracterizadas quatro fontes de fibras purificadas, lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, quanto à capacidade de retenção de água, volume de intumescimento, microestrutura e viscosidade. No experimento II foram avaliados, dos 26 aos 56 dias de idade, o desempenho, a incidência de diarreia e o tempo de trânsito das dietas no trato gastrointestinal de 84 leitões, desmamados aos 26 dias de idade, com peso médio inicial de $6,37 \pm 1,00$ kg. Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos completos casualizados, com seis tratamentos: DC: dieta controle sem redução proteica; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais da proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente, com sete repetições por tratamento e dois animais (um macho e uma fêmea) por unidade experimental. A inclusão de goma guar à dieta proporcionou piores ($P < 0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar. O peso médio final dos animais foi mais baixo ($P < 0,05$) nos alimentados com dieta contendo goma guar (12,50 kg) em comparação à dieta controle, lignocelulose e pectina (14,85; 15,08; 16,28 kg, respectivamente). O tempo de trânsito gastrointestinal das dietas foi menor com a adição da celulose e maior ($P < 0,05$) com a goma guar (434,0 e 632,9 minutos, respectivamente). Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos na incidência de diarreia dos leitões. Conclui-se que as fibras solúveis, principalmente a goma guar, apresentam maior capacidade de retenção de água, volume de intumescimento e viscosidade. A inclusão de goma guar às dietas de leitões recém-desmamados proporciona prejuízos ao desempenho dos animais e maior tempo de trânsito das dietas no trato gastrointestinal.

Palavras-chave: capacidade de retenção de água, fibra dietética, suínos, viscosidade

CHAPTER II – CHARACTERIZATION OF FIBERS SOURCES AND PERFORMANCE, DIARRHEA INCIDENCE AND TRANSIT TIME OF GASTROINTESTINAL TRACT OF WEANLING PIGS RECEIVING DIETS WITH DIFFERENT TYPES OF FIBER AND REDUCED PROTEIN LEVEL

ABSTRACT

Two trials were conducted to evaluate different purified fibers sources and their effects in diets with reduced protein level for weanling pigs. In trial I were characterized four purified fibers sources, lignocellulose, cellulose, pectin and guar gum, as to the water retention capacity, swelling volume, microstructure and viscosity. The trial II evaluated from 26 to 56 days of age the performance, incidence of diarrhea and transit time of the diets in the gastrointestinal tract of 84 piglets weaned at 26 days of age, with initial average weight of 6.37 ± 1.00 kg. The animals were distributed in a randomized complete block design with six treatments: CD: control diet without protein reduction; RD: CD with a reduction of four percentage points of crude protein; DF1, DF2, DF3 and DF4: RD with addition of 2.0% of lignocellulose, cellulose, pectin and guar gum, respectively, with seven replicates per treatment and two animals per pen (a male and a female). The inclusion of guar gum in the diet provided worst results ($P < 0.05$) for daily gain and feed conversion. The final weight of the animals was lower ($P < 0.05$) for those fed diets containing guar gum (12.50 kg) compared to the control diet, lignocellulose and pectin (14.85, 15.08, 16.28 kg, respectively). The transit time of the diets on gastrointestinal tract was lower ($P < 0.05$) with the addition of cellulose and higher ($P < 0.05$) with the guar gum (434.0 and 632.9 minutes, respectively). There were no differences ($P > 0.05$) between treatments in the incidence of diarrhea of piglets. In conclusion the soluble fibers, specially the guar gum, show higher water holding capacity, swelling and viscosity. The inclusion of guar gum to the diet of weanling pigs provide losses on the performance of the animals and the biggest transit time in the gastrointestinal tract.

Key-words: dietary fiber, swine, viscosity, water retention capacity

INTRODUÇÃO

Mamíferos recém-desmamados podem apresentar disfunções intestinais quando alimentados com dietas ricas em proteína (SALAZAR-LINDO et al., 2004). O desmame de leitões é marcado por um período de anorexia e diarreia (LALLÈS et al., 2007) devido, principalmente, à mudança alimentar e à alta concentração de proteína bruta das dietas.

A fermentação bacteriana da proteína não digerida produz ácidos graxos de cadeia ramificada e substâncias potencialmente tóxicas, como amônia e aminas, que podem reduzir o crescimento (GASKINS, 2000) e predispor os leitões à diarreia (DONG et al., 1996). Uma proposta para reduzir a fermentação proteica intestinal é a diminuição do teor proteico das dietas, incluindo aminoácidos sintéticos e carboidratos fermentáveis nas dietas de leitões (BIKKER et al., 2006).

Relaciona-se positivamente a inclusão de fibras à dieta, com melhorias na saúde dos animais, pois influenciam a população microbiana (AUMAITRE et al., 1995) e os desenvolvimentos físico e funcional do trato gastrointestinal (LIZARDO et al., 1997). A fibra dietética pode ser definida como a soma de polissacarídeos não amiláceos e lignina (BACH KNUDSEN, 2001) e é classificada como solúvel ou insolúvel.

A inclusão de fibra dietética na dieta de leitões recém-desmamados pode promover melhores parâmetros de desempenho (LÓPEZ et al., 2003; HEDEMANN et al., 2006; PIERCE et al., 2007), reduzir a incidência de diarreia (MATEOS et al., 2006; KIM et al., 2008) e influenciar a motilidade e o tempo de trânsito gastrointestinal (BACH KNUDSEN e HANSEN, 1991; FREIRE et al., 2000).

A utilização de fontes de fibras purificadas em dietas para suínos pode proporcionar resultados satisfatórios, pois estas dietas apresentam maior quantidade de polissacarídeos não amiláceos, o que possibilita maior fermentação microbiana. No entanto, para que sejam avaliadas corretamente, é necessário caracterizá-las e diferenciá-las de cereais e coprodutos, podendo assim atribuir corretamente seus efeitos a resultados divergentes e literatura limitada.

Assim, objetivou-se caracterizar quatro fontes de fibras purificadas, sendo duas insolúveis (lignocelulose e celulose) e duas solúveis (pectina e goma guar), quanto à

capacidade de retenção de água, volume de intumescimento, viscosidade e microestrutura, e avaliar seus efeitos em dietas com níveis proteicos reduzidos para leitões recém-desmamados, sobre o desempenho, o tempo de trânsito gastrointestinal e a incidência de diarreia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro para caracterizar as diferentes fontes de fibras no Laboratório de Ciência de Alimentos do Departamento de Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL/PR, no Laboratório de Nutrição Animal da Universitat Autònoma de Barcelona - Bellaterra/Espanha e no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) de Campinas/SP e o segundo para avaliar o desempenho, a incidência de diarreia e o tempo de trânsito gastrointestinal de leitões recém-desmamados, que foi conduzido no Setor de Suinocultura da Fazenda Escola do Departamento de Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL/PR.

Caracterização das fontes de fibras

Foram avaliadas quatro fontes purificadas de fibras, lignocelulose (66% de fibra insolúvel em sua composição; ARBOCEL[®], J. Rettenmaier Latinoamericana Ltda.), celulose (99% de fibra insolúvel em sua composição; ARBOCEL[®], J. Rettenmaier Latinoamericana Ltda.), pectina (40% de fibra solúvel em sua composição; DuPont[™] Danisco[®]) e goma guar (65% de fibra solúvel em sua composição; DuPont[™] Danisco[®]), de acordo com as seguintes análises:

Capacidade de retenção de água (CRA)

A análise foi realizada de acordo com Anguita et al. (2006) e para tal foi pesado 0,5 g de amostra (P1) e adicionado 10 mL de água destilada em tubos de centrífuga, previamente pesados. Os tubos foram agitados de forma intermitente durante 40 minutos em agitador horizontal e posteriormente centrifugados a 2000 x g por 20 minutos. O sobrenadante de cada tubo foi cuidadosamente removido e os tubos mantidos de cabeça para baixo, por 10 minutos, para garantir que toda água não retida pela amostra fosse drenada. O sedimento úmido foi, então, pesado (P2), seco por 16h

a 100°C, e novamente pesado (P3). A CRA foi avaliada em seis repetições por fibra e obtida por:

$$\text{CRA (g/g)} = \left(\frac{\text{P2} - \text{P3}}{\text{P1}} \right)$$

Viscosidade (VISC)

A viscosidade foi mensurada no sobrenadante obtido após a centrifugação das amostras, realizada como parte da metodologia para avaliação da CRA das fibras, em três repetições por fibra, o que não permitiu realizar análise estatística. As determinações foram feitas em viscosímetros Brookfield modelos LVF e RVT (baixa e alta viscosidade, respectivamente), usando adaptadores UL e 4 (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA, EUA), mantendo uma taxa de cisalhamento de 30 - 100 s⁻¹. A viscosidade aparente é apresentada a uma taxa de cisalhamento de 100 s⁻¹, conforme descrito por Anguita et al. (2006). Os resultados são expressos em cP.

Volume de intumescimento (VI)

A análise foi realizada de acordo com Robertson et al. (2000), em seis repetições por fibra, e para isso foi pesado 0,2 g de amostra em um tubo graduado, ao qual foram adicionados 10 mL de água destilada. A dispersão da amostra na água foi realizada de maneira suave e a hidratação durou 18h. Após esse período, o volume ocupado pela fibra foi mensurado por:

$$\text{VI (mL/g)} = \left(\frac{\text{volume ocupado pela amostra}}{\text{peso inicial da amostra}} \right)$$

Microestrutura das fibras

As fibras foram analisadas quanto à sua microestrutura, por meio de microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se um microscópio eletrônico FEI Quanta 200. Como preparação, as amostras foram previamente secas em estufa a 60° por 24 horas e deixadas em dessecador com sílica por mais 24 horas antes da realização das análises. As amostras secas foram revestidas de ouro com uma

camada de 15 a 20 nm por um Sputter Coater BAL-TEC SCD 050, para posterior análise.

As fontes de fibras caracterizadas foram avaliadas e comparadas por meio de dietas com nível proteico reduzido, para leitões recém-desmamados, sobre o desempenho, a incidência de diarreia, o tempo de trânsito gastrointestinal.

Instalações, animais e dietas experimentais

Foram utilizados 84 leitões recém-desmamados, 42 machos e 42 fêmeas, híbridos, com idade média de 26 dias e peso médio inicial de $6,37 \pm 1,00$ kg, que foram alojados em baias elevadas, equipadas com bebedouros tipo chupeta, comedouros tipo calha e fonte de calor nos primeiros 20 dias do período experimental.

Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos completos casualizados, para controlar as diferenças no peso inicial, com seis tratamentos, sete repetições por tratamento e dois animais por baia, representando a unidade experimental.

As dietas experimentais (Tabelas 1 e 2) foram formuladas, com base na proteína ideal, de acordo com Rostagno et al. (2011) e suplementadas com lisina, metionina, treonina, triptofano, valina e isoleucina, de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, nas seguintes fases: I – dos 21 aos 35 dias, II - dos 36 aos 56 dias de idade e a elas não foram adicionados antibióticos ou qualquer promotor de crescimento, sendo:

DC: dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e fonte de lactose, sem redução do nível proteico;

DR: DC com redução de quatro pontos percentuais da proteína bruta;

DF1: DR com adição de 2,0% de lignocelulose;

DF2: DR com adição de 2,0% de celulose;

DF3: DR com adição de 2,0% de pectina;

DF4: DR com adição de 2,0% de goma guar.

Tabela 1. Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas na fase I - dos 26 aos 35 dias de idade dos leitões.

| Ingredientes, % | Dietas experimentais ¹ | |
|--|-----------------------------------|-------------------------------|
| | DC | DR/DF1/DF2/DF3/DF4 |
| Milho | 61,11 | 63,34 |
| Farelo de soja | 5,50 | 4,08 |
| Produto lácteo ² | 14,00 | 14,00 |
| Óleo de soja | 1,25 | 2,20 |
| Concentrado proteico de soja | 13,30 | 6,25 |
| Açúcar | 0,00 | 2,60 |
| Fibra/Inerte | 0,50 | 2,00 |
| Fosfato bicálcico | 1,82 | 1,90 |
| Calcário calcítico | 0,73 | 0,75 |
| L-Lisina, HCl, 78,4% | 0,63 | 1,00 |
| DL-Metionina, 99% | 0,19 | 0,23 |
| L-Treonina, 98% | 0,21 | 0,40 |
| L-Triptofano, 99% | 0,09 | 0,12 |
| L-Valina, 96,5% | 0,12 | 0,37 |
| L-Isoleucina, 99% | 0,00 | 0,20 |
| Sal | 0,03 | 0,03 |
| Antioxidante | 0,02 | 0,02 |
| Suplemento mineral ³ | 0,10 | 0,10 |
| Suplemento vitamínico ⁴ | 0,40 | 0,40 |
| Total | 100,00 | 100,00 |
| Valores calculados | | |
| EM, kcal/kg | 3400 | 3397 |
| Proteína bruta ⁵ , % | 20,00 | 16,00 |
| Cálcio ⁵ , % | 0,85 | 0,85 |
| Fósforo disponível ⁵ , % | 0,50 | 0,50 |
| Lactose, % | 9,80 | 9,80 |
| Lisina digestível ⁵ , % | 1,48 | 1,46 |
| Metionina digestível ⁵ , % | 0,41 | 0,41 |
| Treonina digestível ⁵ , % | 0,92 | 0,92 |
| Triptofano digestível ⁵ , % | 0,27 | 0,26 |
| Valina digestível ⁵ , % | 1,01 | 1,01 |
| Isoleucina digestível ⁵ , % | 0,86 | 0,81 |
| Valores analisados | | |
| Fibra solúvel ⁶ , % | 1,10 | 0,93/1,11/0,94/2,11/2,31 |
| Fibra insolúvel ⁶ , % | 12,95 | 12,75/14,04/14,66/13,03/12,91 |

¹DC – dieta controle; DR – DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3, DF4 - DR com inclusão de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente, ²Nuklospray K21- 70% Lactose; ³Suplemento mineral - Agrocere[®] - Níveis garantidos por kg de produto: Iodo - 1,416,8 mg; Cobalto - 168 mg; Magnésio - 40,02 g; Zinco - 74,971 g; Cobre - 15 g; Ferro - 24,93 g; ⁴Suplemento vitamínico - Agrocere[®] - completely growth promoter-free, Níveis garantidos por kg de produto: Vit, A - 2,666,700 IU; Vit, D3 - 1,000,000 IU; Vit, E - 10,000 IU; Vit, K - 2,666,7 mg; Vit B2 - 2,000 mg; Vit, B12 - 11,000 µg; Ácido pantotênico - 7,000 mg; Ácido fólico - 399,99 mg; Niacina - 13 g; Colina - 120 g; Selênio - 130 mg; Biotina - 16,56 mg; ⁵Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al., (2011); ⁶Valores obtidos por meio de análises laboratoriais.

Tabela 2. Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas na fase II - dos 36 aos 56 dias de idade dos leitões.

| Ingredientes, % | Dietas experimentais ¹ | |
|--|-----------------------------------|-------------------------------|
| | DC | DR/DF1/DF2/DF3/DF4 |
| Milho | 61,65 | 63,00 |
| Farelo de soja | 5,00 | 5,00 |
| Produto lácteo ² | 10,00 | 10,00 |
| Óleo de soja | 1,40 | 2,40 |
| Concentrado proteico de soja | 17,75 | 10,09 |
| Açúcar | 0,00 | 2,84 |
| Fibra/Inerte | 0,50 | 2,00 |
| Fosfato bicálcico | 1,65 | 1,80 |
| Calcário calcítico | 0,79 | 0,76 |
| L-Lisina, HCl, 78,4% | 0,35 | 0,72 |
| DL-Metionina, 99% | 0,14 | 0,19 |
| L-Treonina, 98% | 0,08 | 0,26 |
| L-Triptofano, 99% | 0,07 | 0,10 |
| L-Valina, 96,5% | 0,00 | 0,18 |
| L-Isoleucina, 99% | 0,00 | 0,02 |
| Sal | 0,10 | 0,12 |
| Antioxidante | 0,02 | 0,02 |
| Suplemento mineral ³ | 0,40 | 0,40 |
| Suplemento vitamínico ⁴ | 0,10 | 0,10 |
| Total | 100,00 | 100,00 |
| Valores calculados | | |
| EM, kcal/kg | 3375 | 3375 |
| Proteína bruta ⁵ , % | 21,00 | 17,00 |
| Cálcio ⁵ , % | 0,82 | 0,83 |
| Fósforo disponível ⁵ , % | 0,45 | 0,46 |
| Lactose, % | 7,00 | 7,00 |
| Lisina digestível ⁵ , % | 1,36 | 1,36 |
| Metionina digestível ⁵ , % | 0,37 | 0,38 |
| Treonina digestível ⁵ , % | 0,84 | 0,84 |
| Triptofano digestível ⁵ , % | 0,25 | 0,24 |
| Valina digestível ⁵ , % | 0,98 | 0,92 |
| Isoleucina digestível ⁵ , % | 0,95 | 0,73 |
| Valores analisados | | |
| Fibra solúvel ⁶ , % | 1,58 | 1,42/1,66/1,44/2,65/2,78 |
| Fibra insolúvel ⁶ , % | 14,44 | 14,19/15,47/16,12/14,44/14,36 |

¹DC – dieta controle; DR – DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3, DF4 - DR com inclusão de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente, ²Nuklopray K21- 70% Lactose; ³Suplemento mineral - Agroceres® - Níveis garantidos por kg de produto: Iodo - 1,416,8 mg; Cobalto - 168 mg; Magnésio - 40,02 g; Zinco - 74,971 g; Cobre - 15 g; Ferro - 24,93 g; ⁴Suplemento vitamínico - Agroceres® - completely growth promoter-free, Níveis garantidos por kg de produto: Vit, A - 2,666,700 IU; Vit, D3 - 1,000,000 IU; Vit, E - 10,000 IU; Vit, K - 2,666,7 mg; Vit B2 - 2,000 mg; Vit, B12 - 11,000 µg; Ácido pantotênico - 7,000 mg; Ácido fólico - 399,99 mg; Niacina - 13 g; Colina - 120 g; Selênio - 130 mg; Biotina - 16,56 mg; ⁵Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al., (2011); ⁶Valores obtidos por meio de análises laboratoriais.

Desempenho

Os animais, a ração fornecida e as sobras de ração foram pesados no início e no final de cada fase experimental, para determinação do ganho diário de peso, do consumo diário de ração e da conversão alimentar. Os resultados de desempenho foram analisados dos 26 aos 56 dias de idade.

Incidência de diarreia

Com o objetivo de verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões, nos primeiros 21 dias do período experimental. Uma vez ao dia, no período da manhã, às 6:30h, foi verificada a consistência das fezes, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 1 - fezes normais, 2 - fezes pastosas e 3 - fezes aquosas. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3 diarreicas. Estas identificações foram realizadas sempre pelo mesmo observador.

Tempo de trânsito das dietas no trato gastrointestinal

Na fase II, aos 43 dias de idade, foi determinado o tempo de trânsito das dietas, realizado medindo-se o tempo gasto entre a ingestão do alimento marcado com óxido férrico, adição de 0,5% na ração, e o aparecimento das primeiras fezes com a coloração característica do marcador. Para isso, no dia da determinação do tempo de trânsito, os animais foram alimentados com a mesma quantidade de dieta marcada e em seguida, quando não houve sobra, foi oferecida mais ração sem o marcador e à vontade.

Análise estatística

Os efeitos das fontes de fibras purificadas e a redução do nível proteico das dietas sobre as variáveis estudadas, foram analisados utilizando-se o modelo descrito na seguinte Equação:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij};$$

Em que: y = variáveis estudadas; μ = médias dos valores para as variáveis estudadas, τ = efeito do tratamento i (DC, DR, DF1, DF2, DF3, DF4); β = efeito do bloco j e ε_{ij} = erro residual.

As pressuposições para a análise de variância foram analisadas utilizando-se o teste de Cramer-von Mises para a normalidade dos erros e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo procedimento PROC MIXED do software SAS 9.3 (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA). Os resultados são apresentados como médias ajustadas (LSMeans) com seus respectivos erro padrão (EP) e significância (P).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade de retenção de água e o volume de intumescimento (Tabela 3) foram maiores ($P < 0,05$) para as fibras solúveis (pectina e goma guar), principalmente para a goma guar, em relação às fibras insolúveis (lignocelulose e celulose).

As fontes de fibras solúveis, principalmente a goma guar, apresentaram maiores viscosidades que as fontes insolúveis.

Pode-se observar nas elétron-micrografias (Figuras 1 e 2) das fontes de fibras que as fontes solúveis apresentaram-se unidas, diferentemente das insolúveis que estão mais dispersas e alongadas.

Tabela 3. Caracterização das fontes de fibra quanto à capacidade de retenção de água (CRA), volume de intumescimento (VI) e viscosidade (VISC).

| Variáveis | Tipos de fibras purificadas | | | | EP ¹ | P |
|-----------|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-------|
| | Lignocelulose | Celulose | Pectina | Goma Guar | | |
| CRA, g/g | 4,90 ^b | 5,05 ^b | 86,17 ^a | 98,07 ^a | 3,602 | 0,001 |
| VI, mL/g | 10,79 ^c | 10,25 ^c | 23,92 ^b | 46,00 ^a | 0,856 | 0,001 |
| VISC, cP | 1,12 | 1,08 | 10,37 | 1413 | - | - |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

¹Erro padrão

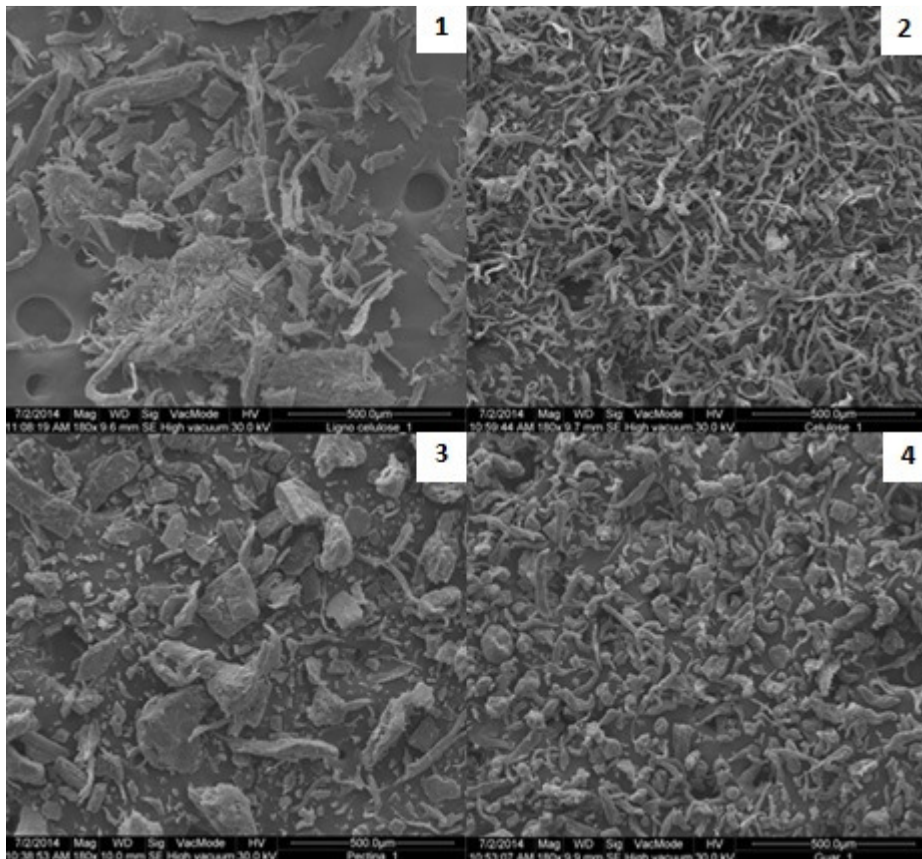


Figura 1. Elétron-micrografias da lignocelulose (1), celulose (2), pectina (3) e goma guar (4)(180x).

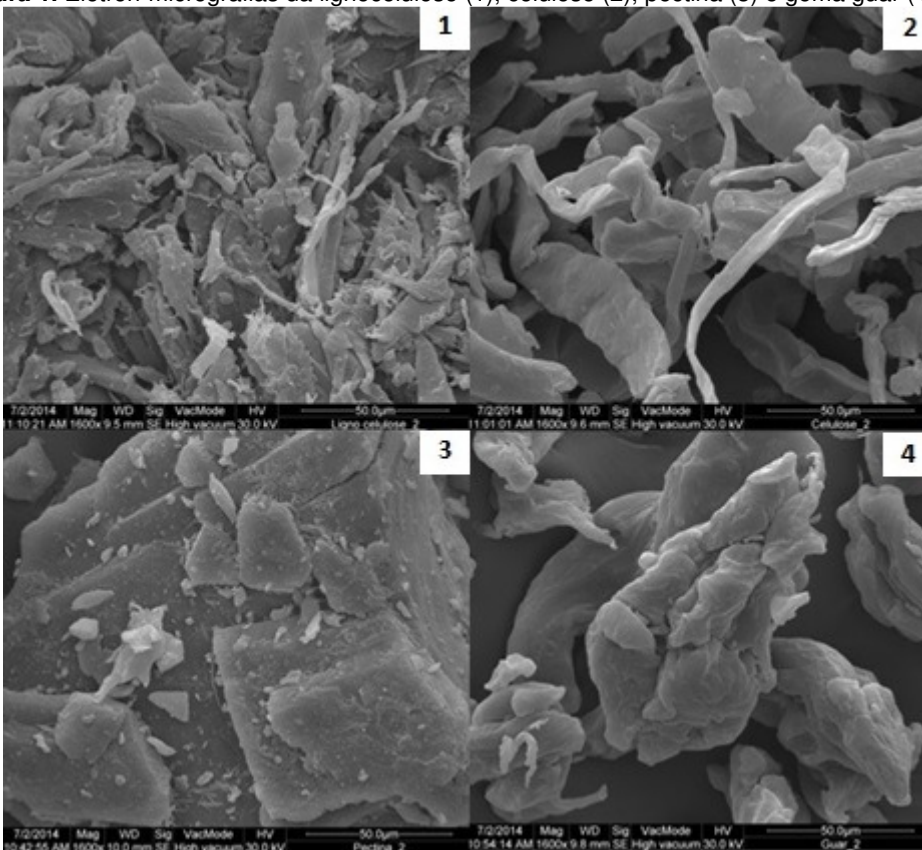


Figura 2. Elétron-micrografias da lignocelulose (1), celulose (2), pectina (3) e goma guar (4)(1600x).

Verificou-se uma correlação positiva entre a capacidade de retenção de água e a viscosidade com o conteúdo de PNA solúvel das fontes de fibras purificadas.

De acordo com Anguita et al. (2006), as interações entre os constituintes da digesta e suas capacidades de hidratação, determinam o destino dos componentes no intestino grosso; estruturas e características físico-químicas dos PNA, tais como a viscosidade e a capacidade de retenção de água, diferem muito entre ingredientes alimentares e afetam os processos digestivos (BERGNER, 1980; FRIERE et al., 2000; WENK, 2001; OWUSU-ASIEDU et al., 2006).

Ao realizar uma avaliação *in vitro* com cereais (aveia, cevada, milho, trigo e ervilha) e simular digestões gástrica e do intestino delgado, com tratamento térmico (cozimento e extrusão) ou não (cru), e analisando duas granulometrias, Anguita et al. (2006), relataram valores para CRA entre 0,80 e 5,35 g/g de matéria seca e para viscosidade entre 0,88 e 3,19 cP, diferentes dos resultados deste trabalho, possivelmente, devido à nossa análise ser apenas das fibras purificadas e também pela maior concentração de PNA presente nelas. Os autores correlacionaram positivamente a capacidade de retenção de água com o conteúdo de PNA solúvel observado em cada cereal. Resultado também verificado no presente estudo ao avaliarmos fibras purificadas indicando, assim, que apesar da diferença na quantidade de PNA, solúveis e insolúveis presentes nos cereais e nas fibras purificadas, refletir nas suas capacidades de retenção de água e na intensidade de seus efeitos, a forma de atuação na digesta é semelhante.

Em contrapartida, Owusu-Asiedu et al. (2006) avaliaram a inclusão de goma guar e celulose purificada em dietas para suínos em crescimento e, constataram menor capacidade de retenção de água para a celulose (2,45 e 2,67 g/g MS, respectivamente) e maiores viscosidades (5,57 e 6,35 cP, respectivamente) das digestas com as duas fontes de fibras, em comparação com a dieta controle (3,26 g/g MS e 1,52cP), concluindo que a celulose tem características físico-químicas que, normalmente, são atribuídas às fibras solúveis; além de sugerirem que fibras purificadas podem atuar de modo semelhante aos ingredientes normalmente utilizados na alimentação animal. Os autores verificaram, ainda, que a adição de celulose purificada na dieta possibilitou maior quantidade de PNA solúvel (8,1%) e menor de insolúvel (13,1%) que a goma guar (7,6 e 15,4%, respectivamente). Essas

diferenças observadas entre os resultados para celulose purificada, podem ser devido à origem e ao processamento da fibra, que são de empresas e países diferentes.

Assim como no presente estudo, Hedemann et al. (2006) sugeriram que a inclusão de pectina pode aumentar a viscosidade no lúmen e a capacidade de retenção de água. McDonald et al. (1999) também observaram aumento da viscosidade da digesta ao avaliarem a adição de goma guar às dietas de leitões recém-desmamados. Goma guar e pectina aumentam a viscosidade da digesta e a capacidade de retenção de água (JOHANSEN et al., 1996; GRIESHOP et al., 2001).

De acordo com Bach Knudsen e Hansen (1991), a utilização de fibras solúveis, como polpa de beterraba, em dietas para suínos, pode aumentar a viscosidade no lúmen intestinal. Hopwood et al. (2004) relataram o mesmo ao adicionarem níveis de cevadinha às dietas de leitões e relacionaram PNA solúveis à maior capacidade de retenção de água. Ao estudarem alto e baixo níveis de PNA, Högberg e Lindberg (2004), relataram menores viscosidades das dietas contendo fibra insolúvel (farelo de trigo e tritcale), independentemente da concentração. Pluske et al. (2003) correlacionaram positivamente o aumento da viscosidade da digesta ileal com o conteúdo de PNA solúvel das dietas. Neste sentido, Serena et al. (2008) verificaram maiores viscosidade, capacidade de retenção de água e volume de intumescimento de dietas contendo fibra solúvel (polpa de beterraba, polpa de batata e pectina), para porcas.

Os resultados deste estudo e de outros acima citados, sugeriram que há possibilidade de comparar fibras purificadas com fibras de cereais, ressaltando suas concentrações em PNA e o grau de seus efeitos sobre a digesta e a fisiologia animal.

As dietas experimentais não influenciaram ($P > 0,05$) o consumo diário de ração dos animais (Tabela 4). O ganho diário de peso foi menor ($P < 0,05$) e a conversão alimentar pior ($P < 0,05$) nos animais alimentados com a dieta contendo goma guar e nível proteico reduzido (DF4) em comparação com as demais, que não diferiram entre si. O peso vivo final foi pior ($P < 0,05$) nos animais que consumiram a dieta com goma guar comparado às dietas controle (DC), com lignocelulose (DF1) e pectina (DF3), sem diferirem das demais.

Tabela 4. Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA), tempo de trânsito gastrointestinal e incidência de diarreia de leitões dos 26 aos 56 dias de idade.

| Variáveis | Dietas experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|------------------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| PV inicial, kg | 6,31 | 6,33 | 6,30 | 6,31 | 6,31 | 6,32 | 0,378 | 0,999 |
| PV final, kg | 14,85 ^a | 14,45 ^{a,b} | 15,08 ^a | 14,12 ^{a,b} | 16,28 ^a | 12,50 ^b | 0,891 | 0,039 |
| GDP, kg | 0,31 ^a | 0,29 ^a | 0,28 ^a | 0,27 ^a | 0,33 ^a | 0,22 ^b | 0,012 | 0,012 |
| CDR, kg | 0,51 | 0,53 | 0,55 | 0,47 | 0,55 | 0,47 | 0,039 | 0,399 |
| CA | 1,66 ^b | 1,84 ^b | 1,90 ^b | 1,72 ^b | 1,68 ^b | 2,24 ^a | 0,141 | 0,050 |
| TTG ³ , min | 507,9 ^{a,b} | 629,6 ^{a,b} | 445,4 ^{a,b} | 434,0 ^b | 572,1 ^{a,b} | 632,9 ^a | 47,45 | 0,009 |
| ID ³ , % | 14,29 | 7,48 | 8,84 | 9,52 | 12,24 | 16,33 | 3,865 | 0,431 |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$);

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão;

³TTG: tempo de trânsito gastrointestinal

⁴Incidência de diarreia: porcentagem de fezes diarreicas.

Hermes et al. (2009) não relataram diferenças no desempenho dos leitões ao avaliarem dietas com níveis normais e reduzidos (redução de 4%) de proteína bruta, suplementadas com lisina, metionina, treonina, triptofano, isoleucina e valina, visando alcançar um padrão ideal de aminoácidos (CHUNG e BAKER, 1992), demonstrando que esta redução no nível proteico das dietas não é prejudicial ao desempenho dos animais. O mesmo foi observado por Le Bellego e Noblet (2002), Htoo et al. (2007) e Heo et al. (2008). Estes resultados corroboraram com os observados no presente estudo, visto que não houve diferença no desempenho dos animais que consumiram as dietas controle e com redução no nível de proteína bruta.

Pesquisas anteriores relataram que a inclusão de fibra dietética na dieta de leitões recém-desmamados não é prejudicial ao desempenho dos animais (MATEOS et al., 2001; MATEOS et al., 2002; LÓPEZ et al., 2003).

Entretanto, efeitos deletérios sobre o crescimento de leitões alimentados com dieta contendo fonte de fibra solúvel, altamente viscosa, como a goma guar, já foram constatados anteriormente por McDonald et al. (1999), que verificaram menores ganho de peso e peso vivo final, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Schiavon et al. (2004) notaram pior ganho de peso de leitões que consumiram dieta com adição de polpa de beterraba (fibra solúvel). Hedemann et al. (2006) também observaram piores ganho de peso e conversão alimentar de leitões alimentados com dieta contendo fibra solúvel comparada à insolúvel.

Polissacarídeos não amiláceos solúveis aumentam a viscosidade da digesta no intestino delgado, prejudicando os processos de digestão e absorção de nutrientes, devido à queda da taxa de difusão de partículas na digesta e à redução do contato enzimas-substrato, assim como a redução das contrações peristálticas (CHERBUT et al., 1990; CAMPBELL e BEDFORD, 1992; EHRLEIN e STOCKMANN, 1998; McDONALD et al., 2001), fato que pode explicar os piores resultados nos parâmetros de desempenho observados com a inclusão de goma guar às dietas dos leitões deste trabalho.

O tempo de trânsito das dietas no trato gastrointestinal (Tabela 4) foi menor ($P < 0,05$) nos animais alimentados com dieta contendo celulose em comparação com aqueles recebendo dieta com goma guar, no entanto, sem diferirem dos demais. Apesar do mesmo nível de inclusão, as diferentes concentrações entre as quatro fontes de fibras presentes nas dietas refletiram nos resultados encontrados, pois, a celulose e a goma guar apresentaram maior concentração de fibras insolúvel (99%) e solúvel (65%), respectivamente, em relação à lignocelulose (66%) e a pectina (40%) e sabe-se que o nível de fibra da dieta influencia o tempo de trânsito gastrointestinal (STAGONIAS e PEARCE, 1985; DROCHNER et al., 2004). Fontes de fibra insolúvel reduzem o tempo de trânsito, devido ao aumento no peristaltismo e, conseqüentemente, na taxa de passagem da digesta; enquanto a presença de PNA solúvel retarda o tempo de trânsito gastrointestinal, devido à maior viscosidade da digesta (CUMMING et al., 1978; SPILLER et al., 1986; BACH KNUDSEN e HANSEN, 1991; WENK, 2001; MONTAGNE et al., 2003).

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram constatados por outros autores. Bardon e Fioramonti (1983) e Freire et al. (2000) observaram redução no tempo de trânsito gastrointestinal ao incluir uma fonte de fibra insolúvel à dieta de suínos. Wilfart et al. (2007) relataram menor tempo de trânsito da digesta nos intestinos delgado e grosso com a utilização de uma fonte de fibra insolúvel. Já, Owusu-Asiedu et al. (2006) constataram maior tempo de retenção da digesta no trato gastrointestinal, ou seja, maior tempo de trânsito gastrointestinal, quando a dieta continha goma guar em comparação à celulose, para suínos em crescimento.

Não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre as dietas experimentais para a incidência de diarreia (Tabela 4), no entanto, constatou-se grandes diferenças

numéricas neste parâmetro, sendo os animais que receberam as dietas com redução proteica e inclusão de fibras insolúveis os que apresentaram os menores valores.

Os leitões deste trabalho foram acometidos, de maneira geral, por uma diarreia crítica pós-desmame, devido, provavelmente, ao status sanitário da granja de origem e ao fato de nossas dietas não possuírem, em sua composição, óxido de zinco ou antimicrobianos, controladores de diarreia, comumente utilizados em granjas comerciais.

Htoo et al. (2007) não notaram diferença nos escores fecais dos animais ao reduzirem a proteína bruta das dietas e suplementarem com aminoácidos, e ressaltaram que o experimento foi executado em local com baixo desafio sanitário, o que contribuiu para a saúde intestinal dos leitões, minimizando a diarreia. Hermes et al. (2009) também não verificaram diferença na incidência de diarreia em leitões alimentados com dietas contendo altos e baixos níveis de proteína bruta e fibra, apesar de ressaltarem um maior número de intervenções com antibióticos, nos animais alimentados com dieta contendo baixo nível de proteína bruta e alto nível de fibra. Le Bellego e Noblet (2002) e Nyachoti et al. (2006) também não observaram diferenças na incidência de diarreia ao reduzirem os níveis de proteína bruta das dietas de leitões recém-desmamados.

CONCLUSÃO

A redução do nível proteico de dietas, suplementadas com lisina, metionina, treonina, triptofano, isoleucina e valina, não interfere no desempenho de leitões desmamados. A inclusão de goma guar às dietas proporciona prejuízos ao desempenho dos animais e maior tempo de trânsito gastrointestinal.

As fibras solúveis, principalmente a goma guar, apresentam maior capacidade de retenção de água, volume de intumescimento e viscosidade em relação às insolúveis. Há possibilidade de comparar fibras purificadas às contidas nos cereais e coprodutos, entretanto, é necessário considerar a diferença na concentração de polissacarídeos não amiláceos e a intensidade de seus efeitos sobre a digesta.

AGRADECIMENTOS

Bolsa de estudos concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq.

REFERÊNCIAS

ANGUITA, M.; GASA, J.; MARTIN-ORUE, S.M.; PEREZ, J.F. Study of the effect of technological processes on starch hydrolysis, non-starch polysaccharides solubilization and physicochemical properties of diferente ingredientes using a two-step *in vitro* system. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, p. 99-115, 2006.

AUMAITRE, A.; PEINIAU, J.; MADEC, F. Digestive adaptation after weaning and nutritional consequences in the piglet. **Pig News Information**, v. 16, p. 73–79, 1995.

AWATI, A.; WILLIAMS, B. A.; BOSCH, M. W.; GERRITS, W. J. J.; VERSTEGEN, M. W. A. Effect of inclusion of fermentable carbohydrates in the diet on fermentation end-product profile in feces of weanling piglets. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2133–2140, 2006.

BACH KNUDSEN, K. E.; HANSEN, I. Gastrointestinal implications in pigs of wheat and oat fractions. Digestibility and bulking properties of polysaccharides and other major constituents. **British Journal of Nutrition**, v. 65, p. 217-232, 1991.

BACH KNUDSEN, K. E. The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. **Journal of Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 3-20, 2001.

BARDON, T.; FIORAMONTI, J. Nature of the effects of bran on digestive transit time in pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 50, p. 685–690, 1983.

BERGNER, H. Chemische grundlagen des strohaufschlusses in der pelletierpresse. **Archives of Animal Nutrition**, v. 30, p.239–256, 1980.

CAMPBELL, G. L.; BEDFORD, M. R. Enzyme applications for monogastric feeds: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 72, p. 449-466, 1992.

CHERBUT, C.; ALBINA, E.; CHAMP, M.; DOUBLIER, J. L.; LECANNU, G. Action of guar gums on the viscosity of digestive contents and on the gastrointestinal motor function in pigs. **Digestion**, v. 46, p. 205–213, 1990.

CHUNG, T. K.; BAKER, D. H. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3102–3111, 1992.

CUMMINGS, J. H.; SOUTHGATE, D. A. T.; BRANCH, W. J.; HOUSTON, H.; JENKINS, D. J. A.; JAMES, W. P. T. Colonic response to dietary fibre from carrot, cabbage, apple, bran and guar gum. **The Lancet**, p. 5-8, 1978.

DONG, G. Z., ZHOU, A. G.; YANG, F.; CHEN, K. R.; WANG, K. Y.; DAO, D. M. Effect of dietary protein levels on the bacterial breakdown of protein in the large intestine and diarrhea in early weaned pigs. **Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica**, v. 27, p. 293–302, 1996.

DROCHNER, W.; KERLER, A.; ZACHARIAS, B. Pectin in pig nutrition, a comparative review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 367-380, 2004.

EHRLEIN, H.; STOCKMANN, A. Intestinal absorption of nutrients is not influenced by soy fiber and does not differ between oligomeric and polymeric enteral diets. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 43, p. 2099–2110, 1998.

FREIRE, J. P. B.; GUERREIRO, A. J. G.; CUNHA, L. F.; AUMAITRE, A. Effect of dietary fiber source on total tract digestibility, caecum volatile fatty acids and digestive transit time in the weaned piglet. **Animal Feed Science and Technology**, v.87, p.71-83, 2000.

GASKINS, H. R. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: 2nd ed. Lewis, A.J. and Southern, L.L. (Eds), **Swine Nutrition**, 2000, p. 585-608.

GRIESHOP, C. M.; REECE, D. E.; FAHEY, G. C. Nonstarch polysaccharides and oligosaccharides in swine nutrition. Lewis AJ, Southern LL. Boca Raton (Eds.). 2001. In **Swine Nutrition** (2nd edition). FL: CRC Press, p. 107–130, 2001.

HEDEMANN, M. S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H. N.; PEDERSEN, C.; LINDBERG, J. E.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K. E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1375-1386, 2006.

HEO, J. M.; KIM, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Effects of feeding low protein diets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. **Archives of Animal Nutrition**, v. 62, p. 343–358, 2008.

HERMES, R. G.; MOLIST, F.; YWAZAKI, M.; NOFRARÍAS, M.; GOMEZ DE SEGURA, A.; GASA, J.; PÉREZ, J. F. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3569-3577, 2009.

HÖGBERG, A.; LINDBERG, J. E. Influence of cereal non-starch polysaccharides and enzyme supplementation on digestion site and gut environment in weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 116, p. 113-128, 2004.

HOPWOOD, D. E.; PETHICK, D. W.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. Addition of pearl barley to a rice-based diet for newly weaned piglets increases the viscosity of the intestinal contents, reduces starch digestibility and exacerbates post-weaning colibacillosis. **British Journal of Nutrition**, v. 92, p. 419-427, 2004.

HOO, J. K.; ARAIZA, B. A.; SAUER, W. C.; RADEMACHER, M.; ZHANG, Y.; CERVANTES, M.; ZIJLSTRA, R. T. Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 12, p. 3303-3312, 2007.

JOHANSEN, H. N.; BACH KNUDSEN, K. E.; SANDSTRÖM, B.; SKJØTH, F. Effects of varying content of soluble dietary fiber from wheat flour and oat milling fractions on gastric emptying in pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p.339–351, 1996.

KIM, J. C.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Addition of oat hulls to an extruded rice-based diet for weaner pigs ameliorates the incidence of diarrhea and reduces indices of protein fermentation in the gastrointestinal tract. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p.1217–1225, 2008.

LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Weaning a challenge to gut physiologists. **Livestock Production Science**, v. 108, p. 82–93, 2007.

LE BELLEGO, L.; NOBLET, J. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. **Livestock Production Science**, v. 7, p. 45-58, 2002.

LIZARDO, R.; PEINIAU, J.; AUMAITRE, A. Consequences of the inclusion of sugar beet pulp in diets for early weaned and growing pigs. **Annales du Zootechnie**, v. 46, p. 281-294, 1997.

LÓPEZ, E.; LATORRE, M. A.; VALENCIA, D. G.; LÁZARO, R.; MATEOS, G. G. 2003. Inclusion of oat hulls in diets for piglets based on native or cooked cereals. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 47 (abstr.).

MATEOS, G. G.; AALCANTARILLA, A.; LATORRE, M. A.; LÁZARO, R.; GÓMEZ, E.; LASO, N. Influence of type of cereal and level of fiber on performance of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 106–107, 2001.

MATEOS, G. G.; LATORRE, M. A.; MARTÍN, F.; GRACIA, M. I.; LÁZARO, R. Influence of type of heat-processed cereal and oat hulls inclusion in the diet on nutrient digestibility and productive performance of young pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 199, 2002.

MATEOS, G. G.; MARTIN, F.; LATORRE, M. A.; VICENTE, B.; LAZARO, R. Inclusion of oat hulls in diets for young pigs based on cooked maize or cooked rice. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 57-63, 2006.

McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. Adverse effects of soluble non-starch polysaccharides (guar gum) on piglet growth and experimental colibacillosis immediately after weaning. **Research in Veterinary Science**, v. 67, p. 245–250, 1999.

McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newlyweaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 487-498, 2001.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, p. 95-117, 2003.

NYACHOTI, C. M.; OMOGBENIGUN, F. O.; RADEMACHER, M.; BLANK, G. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 125-134, 2006.

OWUSU-ASIEDU, A.; PATIENCE, J. F.; LAARFELD, B.; VAN KESSEL, A. G.; SIMMINS, P. H.; ZIJLSTRA, R. T. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 843- 852, 2006.

PIERCE, K. M.; CALLAN, J. J.; McCARTHY, P.; O'DOHERTY, J. V. The interaction between lactose level and crude protein concentration on piglet post-weaning performance, nitrogen metabolism, selected faecal microbial populations and faecal volatile fatty acid concentrations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, p. 267-282, 2007.

PLUSKE, J. R.; BLACK, B.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Effects of different sources and levels of dietary fibre in diets on performance, digesta characteristics and antibiotic treatment of pigs after weaning. **Animal Feed Science and Technology**, v. 107, p. 129-142, 2003.

ROBERTSON, J. A.; MONREDON, F. D.; DYSSSELER, P.; GUILLON, F.; AMADÒ, R.; THIBAUT, J. F. Hydration properties of dietary fiber and resistant starch: a European Collaborative Study. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 33, p. 72-79, 2000.

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. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**, 3 ed., Viçosa: UFV, 2011, 252p.

SALAZAR-LINDO E.; ALLEN, S.; BREWSTER, D. R.; ELLIOT, E. J.; FASANO, A.; PHILLIPS, A. D.; SANDERSON, I. R.; TARR, P. I. Intestinal infections and environmental enteropathy: working group report of the second world congress of pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition. **Journal of Pediatric and Gastroenterology Nutrition**, v. 39, S662-9. 2004.

SCHIAVON, S.; TAGLIAPIETRA, F.; BAILONI, L.; BORTOLOZZO, A. Effects of sugar beet pulp on growth and health status of weaned piglets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, p. 337-351, 2004.

SERENA, A.; HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Influence of dietary fiber on luminal environment and morphology in the small and large intestine of sows. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2217-2227, 2008.

SPILLER, G. A.; STORY, J. A.; WONG, L. G.; NUNES, J. D.; ALTON, M.; PETRO, M. S.; FURUMOTO, E. J.; WHITTAM, J. H.; SCALA, J. Effect of increasing levels of hard wheat fiber on fecal weight, minerals and steroids and gastrointestinal transit time in healthy young women. **Journal of Nutrition**, v. 116, p. 778-785, 1986.

STAGONIAS, G.; PEARCE, G. R. The digestion of fiber by pigs. 1. The effects of amount and type of fiber on apparent digestibility, nitrogen balance and rate of passage. **British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 513-530, 1985.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 21-33, 2001.

WILFART, A.; MONTAGNE, L.; SIMMINS, H.; NOBLET, J.; VAN MILGEN, J. Digesta transit in different segments of the gastrointestinal tract of pigs as affected by insoluble fibre supplied by wheat bran. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.54-62, 2007.

CAPÍTULO III - TIPOS DE FIBRAS E REDUÇÃO DO NÍVEL PROTEICO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, MICROBIOLÓGICAS E A IMUNIDADE INTESTINAL

RESUMO

Este estudo foi conduzido para avaliar o efeito de diferentes fontes de fibras purificadas em dietas, com níveis proteicos reduzidos, sobre a saúde intestinal de leitões recém-desmamados. Foram utilizados 42 leitões, desmamados aos 26 dias de idade, com peso médio inicial de $6,22 \pm 1,04$ kg, distribuídos em um delineamento de blocos completos casualizados, com seis tratamentos: DC: dieta controle sem redução proteica; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais da proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente, com sete repetições por tratamento e um animal por unidade experimental. Foram avaliados o pH dos conteúdos do intestino delgado e ceco; o peso relativo individual do estômago, intestino delgado, ceco, cólon e do trato gastrointestinal; as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nos conteúdos do ceco e íleo, respectivamente; a morfologia do jejuno; a microbiologia do intestino delgado; os escores de lesão e as células em apoptose e mitose no duodeno, jejuno e íleo, e a imunidade intestinal de leitões abatidos aos 36 dias de idade, quando encerrou-se o período experimental. A inclusão de celulose à dieta proporcionou a menor ($P < 0,05$) contagem de *Lactobacillus* (7,14 log UFC/g) comparada às demais que apresentaram contagens entre 8,96 e 9,25 log UFC/g, e a melhor ($P < 0,05$) relação altura das vilosidades/profundidade das criptas (1,37), não diferindo da dieta com lignocelulose (1,32), porém das demais, que variaram entre 1,03 e 1,13. A imunidade intestinal, as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico, o pH e os pesos relativos de órgãos não foram afetados ($P > 0,05$) pelas dietas. No duodeno o número de células em apoptose foi menor ($P < 0,05$) com a inclusão de celulose em comparação com a dieta controle e pectina, o número de células em mitose foi maior ($P < 0,05$) para os leitões que consumiram as dietas controle e com pectina e os escores de lesão foram menores ($P < 0,05$) nos animais alimentados com celulose (10,00) e lignocelulose (10,29) em relação à pectina (17,83). No íleo os menores ($P < 0,05$) escores de lesão foram observados nos animais alimentados com dietas com

celulose (4,56) e o número de células em mitose foi maior ($P < 0,05$) nos leitões recebendo as dietas controle (99,12), com nível proteico reduzido (89,11) e com inclusão de pectina (88,93) comparados aos que consumiram dietas com celulose (73,73) e lignocelulose (76,48). Não foram observadas alterações no jejuno ($P > 0,05$). Conclui-se que a redução no nível de proteína bruta das dietas não influencia à saúde intestinal dos animais. A inclusão de fibras purificadas insolúveis, principalmente a celulose, às dietas com nível proteico reduzido, proporciona benefícios à morfologia do epitélio intestinal de leitões, como melhor relação altura das vilosidades/profundidade das criptas, menores escores de lesão intestinal e apoptose.

Palavras-chave: escores de lesão intestinal, fibra dietética, morfologia, suínos

CHAPTER III – TYPES OF FIBERS AND REDUCED LEVEL OF CRUDE PROTEIN IN DIETS FOR WEANLING PIGS ON MORPHOPHYSIOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND INTESTINAL IMMUNITY

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of different sources of purified fibers on diets with reduced protein levels on intestinal health of weanling pigs. It was used 42 piglets weaned at 26 days of age, with initial average weight of 6.22 ± 1.04 kg were assigned in a randomized complete block design, with six treatments: CD: control diet without protein reduction; RD: CD with a reduction of four percentage points of crude protein; DF1, DF2, DF3 and DF4: RD with addition of 2.0% of lignocellulose, cellulose, pectin and guar gum, respectively, with seven replicates per treatment and one animal per pen. It was evaluated the pH of the small intestine and cecum content, the individual relative weights of stomach, small intestine, cecum, colon and the gastrointestinal tract, the concentrations of short chain fatty acid and lactic acid in the cecum and ileum contents, respectively, the morphology of the jejunum, the microbiology of the small intestine, the lesion scores and the apoptosis and the mitotic cells in the duodenum, jejunum and ileum and the intestinal immunity of pigs slaughtered at 36 days of age, when ended the trial period. The inclusion of cellulose in the diet provided the lowest ($P < 0.05$) *Lactobacillus* count (7.14 log CFU/g) compared to others who had counts between 8.96 and 9.25 log CFU/g and the best ($P < 0.05$) ratio of villus height/crypt depth (1.37), not differing from diet with lignocellulose (1.32), but with the other diets that ranged between 1.03 and 1.13. The intestinal immunity, the concentrations of short chain fatty acid and lactic acid, pH and relative organs weight were not affected ($P > 0.05$) by diets. In the duodenum the number of cells in apoptosis was lower ($P < 0.05$) with the addition of cellulose compared to the control diet and with pectin, the number of cells in mitosis was higher ($P < 0.05$) for piglets fed with the control diet and with pectin and the lesion scores were lower ($P < 0.05$) in the animals fed with cellulose (10.00) and lignocellulose (10.29) in relation to pectin (17.83). In the ileum the lowest ($P < 0.05$) scores of injury were observed in animals fed diet with cellulose (4.56) and the number of cells in mitosis was higher ($P < 0.05$) in piglets receiving control diet (99.12), diet with reduced protein level (89.11) and with pectin (88.93)

compared to those fed diets with cellulose (73.33) and lignocellulose (76.48). No changes were observed in the jejunum ($P>0.05$). In conclusion the reduction level of crude protein in the diets do not affect the intestinal health of animals. The inclusion of insoluble purified fibers, mainly cellulose, to the diets with reduced protein level provide benefits to the morphology of the intestinal epithelium of piglets such as better villus height/crypt depth ratio, lower scores of intestinal lesions and apoptosis.

Key-words: dietary fiber, intestinal lesion scores, morphology, swines

INTRODUÇÃO

O desmame é um período estressante para os leitões e está relacionado à redução no crescimento e distúrbios intestinais, provavelmente devido à imaturidade do trato gastrointestinal (HTOO et al., 2007). A alta concentração de proteína bruta, característica de dietas para leitões na fase pós-desmame, pode favorecer a ocorrência de diarreias, em decorrência da formação de metabólitos resultantes da fermentação microbiana da proteína não digerida (BERTSCHINGER et al., 1979).

Durante os últimos anos, tem havido grande interesse em utilizar ingredientes alternativos, com maiores teores de fibra dietética em comparação com os tradicionalmente utilizados, em dietas para suínos. Esta mudança é devido à possibilidade de estimular a saúde intestinal e melhorar o bem-estar dos animais (DE LEEUW et al., 2008).

A manutenção da saúde intestinal é complexa e depende de um delicado equilíbrio entre a microbiota comensal, a mucosa e o ambiente, sendo a alimentação responsável por fornecer condições, ao intestino, de criar e estabelecer esse equilíbrio (BACH KNUDSEN et al., 2012). A fibra dietética interage tanto com a microbiota quanto com a mucosa, influenciando diretamente a anatomia, a função e o desenvolvimento do trato gastrointestinal (MONTAGNE et al., 2003). Seus principais benefícios incluem modular as populações microbianas do trato digestório e influenciar o sistema imunológico (PETTIGREW, 2008).

Fibra dietética é definida, fisiologicamente, como componentes dietéticos resistentes à degradação por enzimas de mamíferos, aves ou peixes, ou quimicamente, como a soma de polissacarídeos não amiláceos e lignina (BACH KNUDSEN, 2001). Os polissacarídeos não amiláceos são classificados como solúveis ou insolúveis e sua predominância determina a solubilidade da fibra (BEDFORD, 2000).

Há divergência, na literatura, a respeito do tipo de fibra que beneficia a saúde intestinal de leitões. A inclusão de fibra solúvel em dietas pode reduzir a incidência de diarreia (WELLOCK et al., 2008) e influenciar a composição e atividade da microbiota do trato gastrointestinal (WILLIAMS et al., 2001). No entanto, fontes de fibra insolúvel podem reduzir a severidade de doenças entéricas pós-desmame (SMITH e HALLS,

1968), a contagem de enterobactérias (MOLIST et al., 2009) e melhorar a morfologia do epitélio intestinal (HANCZAKOWSKA et al., 2008).

Dessa forma, objetivou-se avaliar quatro fontes de fibras purificadas, sendo duas insolúveis (lignocelulose e celulose) e duas solúveis (pectina e goma guar), sobre as características morfofisiológicas, microbiológicas e a imunidade intestinal, em dietas com nível proteico reduzido para leitões recém-desmamados.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Setor de Suinocultura da Fazenda Escola do Departamento de Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL/PR.

Instalações, animais e dietas experimentais

Foram utilizados 42 leitões recém-desmamados, fêmeas, com idade média de 26 dias e peso médio inicial de $6,22 \pm 1,04$ kg, que foram alojados em baias elevadas, equipadas com bebedouros tipo chupeta, comedouros tipo calha e fonte de calor nos primeiros 20 dias do período experimental.

Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos completos casualizados, para controlar as diferenças no peso inicial, com seis tratamentos, sete repetições por tratamento e um animal por baia, representando a unidade experimental.

As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas, com base na proteína ideal, de acordo com Rostagno et al. (2011) e suplementadas com lisina, metionina, treonina, triptofano, valina e isoleucina, de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, dos 26 aos 36 dias de idade, e a elas não foram adicionados antibióticos ou qualquer promotor de crescimento, sendo:

DC: dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e fonte de lactose, sem redução do nível proteico;

DR: DC com redução de quatro pontos percentuais da proteína bruta;

DF1: DR com adição de 2,0% de lignocelulose;

DF2: DR com adição de 2,0% de celulose;

DF3: DR com adição de 2,0% de pectina;

DF4: DR com adição de 2,0% de goma guar.

Tabela 1. Composições centesimal, química e energética das dietas experimentais utilizadas dos 26 aos 36 dias de idade dos leitões.

| Ingredientes, % | Dietas experimentais ¹ | |
|--|-----------------------------------|-------------------------------|
| | DC | DR/DF1/DF2/DF3/DF4 |
| Milho | 61,11 | 63,34 |
| Farelo de soja | 5,50 | 4,08 |
| Produto lácteo ² | 14,00 | 14,00 |
| Óleo de soja | 1,25 | 2,20 |
| Concentrado proteico de soja | 13,30 | 6,25 |
| Açúcar | 0,00 | 2,60 |
| Fibra/Inerte | 0,50 | 2,00 |
| Fosfato bicálcico | 1,82 | 1,90 |
| Calcário calcítico | 0,73 | 0,75 |
| L-Lisina, HCl, 78,4% | 0,63 | 1,00 |
| DL-Metionina, 99% | 0,19 | 0,23 |
| L-Treonina, 98% | 0,21 | 0,40 |
| L-Triptofano, 99% | 0,09 | 0,12 |
| L-Valina, 96,5% | 0,12 | 0,37 |
| L-Isoleucina, 99% | 0,00 | 0,20 |
| Sal | 0,03 | 0,03 |
| Antioxidante | 0,02 | 0,02 |
| Suplemento mineral ³ | 0,10 | 0,10 |
| Suplemento vitamínico ⁴ | 0,40 | 0,40 |
| Total | 100,00 | 100,00 |
| Valores calculados | | |
| EM, kcal/kg | 3400 | 3397 |
| Proteína bruta ⁵ , % | 20,00 | 16,00 |
| Cálcio ⁵ , % | 0,85 | 0,85 |
| Fósforo disponível ⁵ , % | 0,50 | 0,50 |
| Lactose, % | 9,80 | 9,80 |
| Lisina digestível ⁵ , % | 1,48 | 1,46 |
| Metionina digestível ⁵ , % | 0,41 | 0,41 |
| Treonina digestível ⁵ , % | 0,92 | 0,92 |
| Triptofano digestível ⁵ , % | 0,27 | 0,26 |
| Valina digestível ⁵ , % | 1,01 | 1,01 |
| Isoleucina digestível ⁵ , % | 0,86 | 0,81 |
| Valores analisados | | |
| Fibra solúvel ⁶ , % | 1,10 | 0,93/1,11/0,94/2,11/2,31 |
| Fibra insolúvel ⁶ , % | 12,95 | 12,75/14,04/14,66/13,03/12,91 |

¹DC – dieta controle; DR – DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3, DF4 – DR com inclusão de 2,0% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente. ²Nuklospray K21- 70% Lactose; ³Suplemento mineral - Agrocere[®] - Níveis garantidos por kg de produto: Iodo - 1,416,8 mg; Cobalto - 168 mg; Magnésio - 40,02 g; Zinco - 74,971 g; Cobre - 15 g; Ferro - 24,93 g; ⁴Suplemento vitamínico - Agrocere[®] - completely growth promoter-free, Níveis garantidos por kg de produto: Vit, A - 2,666,700 IU; Vit, D3 - 1,000,000 IU; Vit, E - 10,000 IU; Vit, K - 2,666,7 mg; Vit B2 - 2,000 mg; Vit, B12 - 11,000 µg; Ácido pantotênico - 7,000 mg; Ácido fólico - 399,99 mg; Niacina - 13 g; Colina - 120 g; Selênio - 130 mg; Biotina - 16,56 mg; ⁵Valores nutricionais dos ingredientes, propostos por ROSTAGNO et al., (2011); ⁶Valores obtidos por meio de análises laboratoriais.

Os animais não foram submetidos à jejum sólido, sendo, portanto, alimentados até o momento do abate.

Abate dos Animais

Todos os leitões foram pesados e abatidos 10 dias após o início do experimento, com 36 dias de idade, e no momento do abate, foram insensibilizados por choque elétrico, seguido por sangria, seguindo as normas da Comissão de Ética no uso de animais, protocolo n° 03321/14. Logo após a sangria, foram avaliadas as seguintes variáveis:

Peso dos órgãos do trato gastrointestinal

Foram pesados conjuntamente: estômago, intestino delgado e intestino grosso vazios (trato gastrointestinal) e, também, separadamente: estômago, intestino delgado, ceco e cólon vazios. De posse destes dados, foram calculados os pesos relativos dos órgãos em relação aos pesos vivos dos animais.

pH

Foram retirados os conteúdos do intestino delgado e do ceco, colocados separadamente em recipientes plásticos para determinação do pH, com auxílio de um potenciômetro digital, que foi inserido nas referidas amostras.

Análises microbiológicas

Amostras do conteúdo da porção final do intestino delgado (50 cm da junção do íleo com o ceco) foram colhidas para avaliação da microbiologia intestinal. Após o término das colheitas, as amostras foram encaminhadas, sob-refrigeração, ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina-UEL.

Nas referidas amostras foram identificadas e quantificadas, em unidades formadoras de colônia (UFC/g), as populações dos microrganismos dos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Escherichia coli*, pela técnica de plaqueamento adequada para cada bactéria, conforme descrito por Downes e Ito (2001).

Ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico

Para avaliação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta, amostras do conteúdo cecal foram colhidas e congeladas, para posterior análise e determinação por meio de cromatografia gasosa (ERWIN et al., 1961) dos ácidos totais (mmol/L) e acético, butírico, propiônico, valérico, isobutírico e isovalérico, em % relativa aos ácidos graxos de cadeia curta totais, no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

A concentração de ácido láctico (mmol/L) do conteúdo ileal foi determinada por colorimetria, de acordo com a metodologia descrita por Pryce (1969), no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-USP, Câmpus de Pirassununga.

Morfologia e Escores de lesão intestinal

Foram colhidos fragmentos (± 3 cm) da porção média do duodeno, jejuno e íleo, abertos pela borda mesentérica, fixados, com grampos, em papelão e colocados em solução de formalina tamponada 10%. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, para confecção das lâminas. As análises morfométricas do epitélio intestinal, por microscopia de luz, foram realizadas no Laboratório de Técnicas Morfológicas e Imunohistoquímica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Para confecção das lâminas, as amostras permaneceram em solução de formalina 10% por 24 horas. Após este período, foram lavadas em água corrente e álcool etílico 70% para retirada do fixador. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de alcoóis, 70 a 100%, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. A microtomia das mesmas foi feita à espessura de 5 μ m, sendo feitos 4 cortes semisseriados para cada segmento de cada animal. A coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina-eosina para avaliar as vilosidades, as criptas e os escores de lesão intestinal e para a contagem do número de células caliciformes, produtoras de mucinas neutras e ácidas, utilizou-se a coloração especial de ácido

periódico de Schiff (PAS) e Alcean Blue pH 2,5 (AB), respectivamente (KIERNAN, 1999).

Para as leituras das lâminas histológicas, utilizou-se microscópio de luz modelo Leica DM5000B, acoplado a um sistema para captura de imagens Leica DFC 300FX e sistema analisador de imagens por meio do programa Image Pro-Plus® 4.1, com aumento de 10 vezes, para avaliar a altura das vilosidades (AV, μm) e a profundidade das criptas (PC, μm), sendo realizadas 25 leituras por amostra para cada parâmetro. De posse dos resultados de AV e PC, calculou-se a relação AV/PC. Para avaliar o número de células caliciformes (CC), foram realizadas 15 contagens por fragmento, sendo realizada uma contagem por vilosidade e o valor obtido foi expresso em número de CC por vilosidade. As análises de morfometria foram realizadas apenas em fragmentos da porção média do jejuno.

Os escores de lesão intestinal foram utilizados para comparar alterações histológicas no duodeno, jejuno e íleo. A extensão e a severidade de cada lesão foram consideradas na pontuação, como descrito por Kolf-Clauw et al. (2009). Os critérios avaliados para pontuação foram: morfologia das vilosidades, morfologia dos enterócitos, edema intersticial e dilatação de vasos linfáticos (Tabela 2).

A pontuação de cada lesão foi calculada multiplicando-se o grau de severidade e a extensão da lesão. O grau de severidade foi determinado como: 1 - lesões leves; 2 - lesões moderadas e 3 - lesões severas. A extensão de cada lesão (de acordo com a intensidade ou a frequência observada) foi determinada por: 0 - ausente; 1 - baixa (até 25% da seção intestinal afetada); 2 - moderada (26-50% da seção intestinal afetada) e 3 - grande (mais que 50% da seção intestinal afetada). O escore final foi obtido através da soma das lesões pontuadas.

Tabela 2. Critérios histológicos utilizados para estabelecer os escores de lesão intestinal.

| Tipos de lesão | Fator de severidade |
|-------------------------------|---------------------|
| Dilatação de vasos linfáticos | 1 |
| Vacuolização celular | 1 |
| Enterócitos cúbicos/achatados | 2 |
| Atrofia de vilosidades | 2 |
| Fusão de vilosidades | 2 |
| Edema intersticial | 2 |
| Necrose apical de vilosidades | 3 |

Análise imunohistoquímica

Os fragmentos das porções médias do duodeno, do jejuno e do íleo foram colhidos e processados seguindo os mesmos procedimentos utilizados para análise morfológica.

As lâminas foram confeccionadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

O protocolo utilizado para todos os anticorpos foi baseado na técnica de imunohistoquímica (TERZIAN et al., 2007). As detecções de Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) e de morte celular por apoptose (Caspase) foram realizadas nos fragmentos de duodeno, jejuno e íleo, já as detecções de linfócitos T e B e macrófagos foram realizadas em fragmentos ileais.

Os cortes foram desparafinizados em estufa a 60°C por no mínimo uma hora e posteriormente foram reidratados em xilol por 20 minutos, em série decrescente de etanol e lavados em água destilada. Após a reidratação foi feita a recuperação anitgênica (Tabela 3).

Em seguida, para realizar o bloqueio da peroxidase endógena, em câmara escura e à temperatura ambiente, as lâminas foram primeiramente incubadas com produto comercial, *Hydrogen Peroxide Block* (Spring®, código DHP-125) por 30 minutos e, posteriormente, imersas em solução de metanol e peróxido de hidrogênio (8%) por 30 minutos.

A seguir foi feito o bloqueio das proteínas inespecíficas. As lâminas foram incubadas com produto comercial *Protein Block* (Spring®, código DPB-125) por uma hora, e depois, em solução de leite em pó desnatado Molico, a 8%, durante uma hora.

Posteriormente, fez-se a incubação dos anticorpos primários (Tabela 3), por 18 horas à -4°C em câmara úmida escura, os anticorpos foram diluídos em *Antibody Diluent* (Spring®, código AD5-125), cada um com sua diluição específica.

Após, as lâminas foram incubadas com anticorpos secundários, utilizando o método do Complexo de Polímeros ligado a peroxidase, sendo 10 minutos com *Reveal Complement* (Complemento - Spring®, código DCMT-999) e 30 minutos com o *Reveal HRP Conjugate* (Conjugado - Spring®, código DHRR-999).

Para a visualização das reações, foi utilizado o cromógeno DAB (3,3-diaminobenzidina, Spring®, código DAB5-999), por um minuto e meio por lâmina. A contra-coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina de Harris. Por fim, as lâminas foram desidratadas em séries crescentes de etanol, lavadas em xilol, para a montagem com Entellan (Merck).

Entre cada um dos passos, as lâminas foram lavadas por 5 minutos em água destilada e por 5 minutos em solução tampão Tris-HCl (pH 7,4).

As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de luz, modelo Leica DM5000B, acoplado a um sistema para captura de imagens Leica DFC 300FX, no Laboratório de Técnicas Morfológicas e Imunohistoquímica do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Para a determinação do número de células fortemente imunomarcadas, utilizou-se cinco campos microscópicos aleatórios, onde foi contabilizado o número total de células marcadas, na objetiva de 40x (MOREIRA et al., 2010). A partir dos valores obtidos nestes campos, fez-se uma média do número de células imunomarcadas por fragmentos de tecido intestinal de cada animal.

Tabela 3. Anticorpos primários utilizados nos cortes de duodeno, jejuno e íleo de leitões.

| Anticorpos primários | Células Imunomarcadas | Espécies de origem | Recuperação antigênica | Diluição |
|----------------------|-----------------------|---|--|----------|
| Anti-CD3 | Linfócitos T | Rabbit polyclonal (Spring, cód. M3072) | Câmara de pressão Pascal Dako ¹ | 1:700 |
| Anti-CD79 | Linfócitos B | Mouse monoclonal (DBS, cód. Mob 242-05) | Câmara de pressão Pascal Dako ¹ | 1:800 |
| Anti-macrófagos | Macrófagos | Mouse Monoclonal (DBS, cód. Mob 203-05) | Banho-maria ² | 1:75 |
| Anti-Caspase-3 | Células em apoptose | Rabbit polyclonal (Abcam, cód. AB4051) | Câmara de pressão Pascal Dako ¹ | 1:1000 |
| Anti-PCNA | Células em mitose | Mouse monoclonal (Abcam, cód. AB29) | Microondas ¹ | 1:1500 |

¹Recuperação com solução de tampão citrato de sódio mM (pH 6,0). ²Solução tampão com Tris-EDTA (pH 9,0)

Análise estatística

Os efeitos das fontes de fibras purificadas e a redução do nível proteico das dietas sobre as variáveis estudadas foram analisados utilizando-se o modelo descrito na seguinte Equação:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij};$$

Em que: y = variáveis estudadas; μ = médias dos valores para as variáveis estudadas, τ = efeito do tratamento i (DC, DR, DF1, DF2, DF3, DF4); β = efeito do bloco j e ϵ_{ij} = erro residual.

As pressuposições para a análise de variância foram analisadas utilizando-se o teste de Cramer-von Mises para a normalidade dos erros e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. As médias da concentração de AGCC total e a % de ácido butírico foram comparadas pelo Teste de Tukey a 10% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo procedimento PROC MIXED do software SAS 9.3 (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA). Os resultados são apresentados como médias ajustadas (LSMeans) com seus respectivos erro padrão (EP) e significância (P).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior ($P < 0,05$) relação altura das vilosidades e profundidade das criptas (AV/PC) foi observada nos animais que consumiram dieta com celulose e nível proteico reduzido (DF2), não diferindo daquela com lignocelulose (DF1), enquanto as menores ($P < 0,05$) relações foram encontradas nos leitões recebendo as dietas controle (DC) e aquela contendo goma guar (DF4) (Tabela 4). A altura das vilosidades, a profundidade das criptas e o número de células caliciformes, em ambas as colorações, não foram afetados ($P > 0,05$) pelas dietas experimentais.

Tabela 4. Valores de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), relação da altura das vilosidades/profundidade das criptas (AV/PC) e número de células caliciformes (CC) na porção média do jejuno, de leitões abatidos aos 36 dias de idade, em função das dietas experimentais.

| Variáveis | Dietas experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|---------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| AV, μm | 239,99 | 228,58 | 249,43 | 258,22 | 222,03 | 212,63 | 18,35 | 0,275 |
| PC, μm | 206,36 | 210,72 | 190,46 | 193,67 | 203,07 | 210,49 | 9,63 | 0,294 |
| AV/PC | 1,09 ^c | 1,11 ^{b,c} | 1,32 ^{a,b} | 1,37 ^a | 1,13 ^{b,c} | 1,03 ^c | 0,05 | 0,001 |
| CC AB ³ | 9,22 | 9,42 | 9,18 | 9,54 | 9,13 | 9,22 | 0,16 | 0,390 |
| CC PAS ³ | 8,47 | 8,83 | 8,53 | 8,59 | 8,70 | 8,89 | 0,17 | 0,369 |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$);

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão;

³AB: coloração das células pela técnica do Alcean Blue pH 2,5; PAS: coloração das células pela técnica do Shift PAS.

As variáveis analisadas, vilosidades, criptas e células caliciformes estão identificadas nas Figuras 1 e 2, nas duas colorações utilizadas, Alcian Blue e PAS.

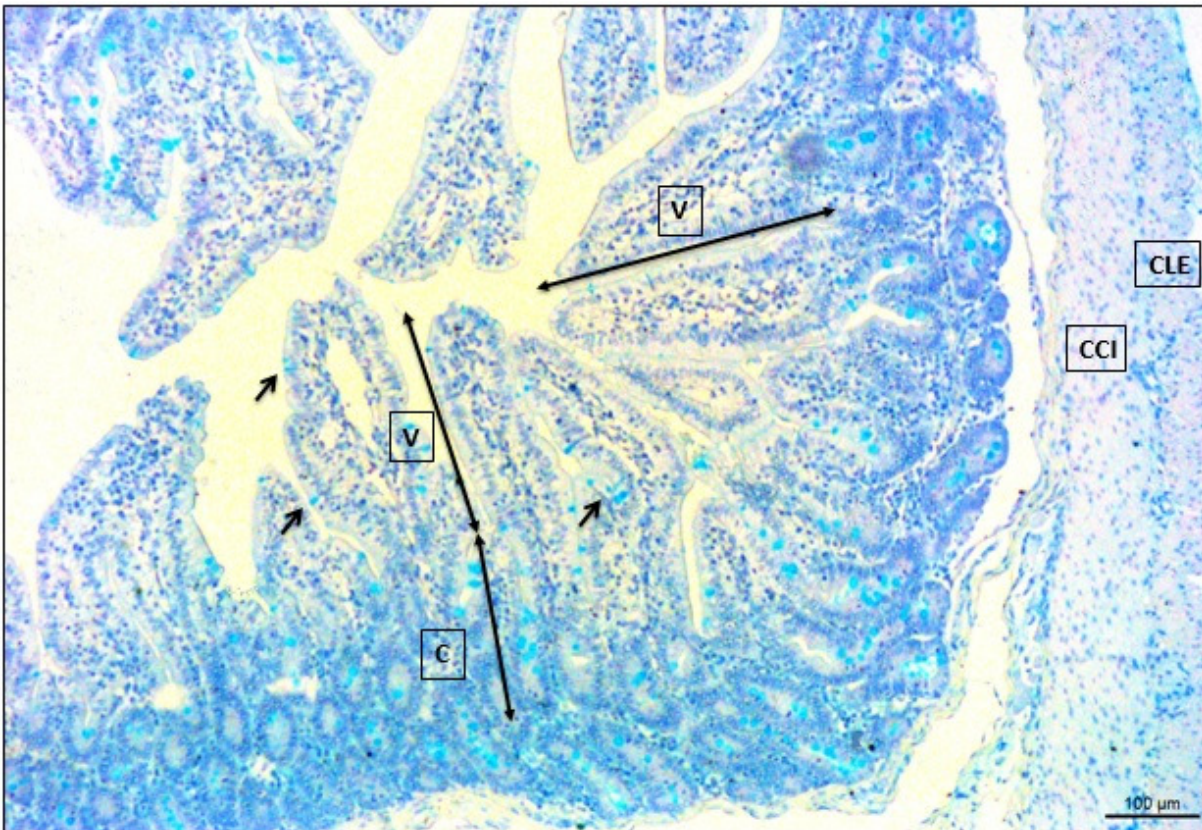


Figura 1. Fotomicrografia do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. CLE: camada muscular longitudinal externa; CCI: camada muscular circular interna; V: vilosidade; C: cripta; Setas: células caliciformes. Coloração: Alcian Blue.

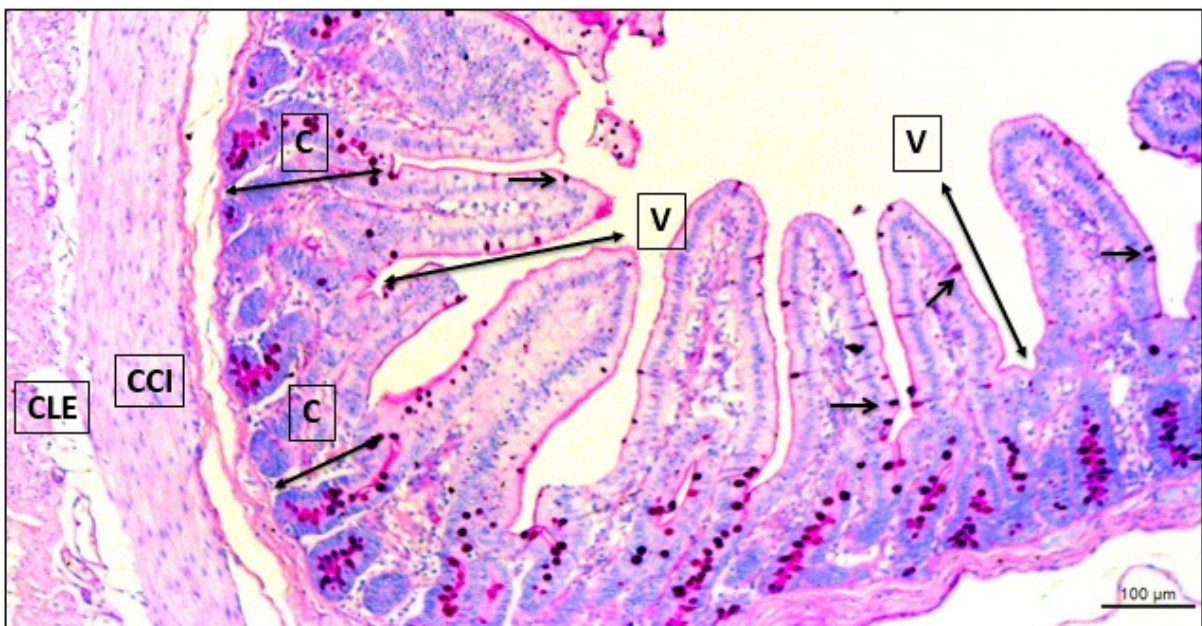


Figura 2. Fotomicrografia do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. CLE: camada muscular longitudinal externa; CCI: camada muscular circular interna; V: vilosidade; C: cripta; Setas: células caliciformes. Coloração: PAS.

De acordo com Montagne et al. (2003), a relação altura das vilosidades e profundidade das criptas é um critério útil para estimar a provável capacidade digestiva do epitélio intestinal, sendo que, redução nessa relação tem efeito deletério nos processos de digestão e absorção. Os autores afirmaram que um tipo de fibra dietética capaz de aumentar a relação AV/PC pode, também, melhorar a capacidade hidrolítica e absorviva do intestino delgado; desempenhando, assim, papel importante na redução da diarreia (DOBBINS e BINDER, 1981).

Leitões alimentados com dieta contendo carboximetilcelulose, que aumenta a viscosidade da digesta, apresentaram alterações na morfologia do epitélio, como redução na relação AV/PC (McDONALD et al., 2001). Os autores consideraram que um pequeno aumento na viscosidade intestinal pode ser benéfico, até atingir um limiar, acima do qual, a viscosidade torna-se prejudicial para a absorção de nutrientes no intestino e, por conseguinte, para o crescimento animal. No presente estudo, os leitões que consumiram dieta contendo goma guar, que aumentou a viscosidade da digesta, apresentaram a menor relação AV/PC, piores ganho diário de peso e conversão alimentar e maior taxa numérica de incidência de diarreia.

Jin et al. (1994) não relataram diferenças no comprimento das vilosidades de suínos em crescimento, entretanto, as profundidades das criptas foram maiores quando os animais consumiram dietas com maiores níveis de fibra. Estes resultados foram atribuídos às maiores taxas de proliferação celular, que ocorrem na cripta. Hedemman et al. (2006) verificaram menores vilosidades e maiores criptas em leitões alimentados com dieta contendo pectina (solúvel) em relação aos que receberam casca de cevada (insolúvel) na dieta. Os autores relacionaram estes resultados ao menor consumo de ração pelos animais. Contrariamente, neste trabalho não constatamos diferenças no consumo de ração entre os animais que receberam as diferentes dietas experimentais (verificados no Capítulo II). Hanczakowska et al. (2008) relataram melhorias na morfologia epitelial, como maior altura das vilosidades e menor profundidade das criptas em leitões alimentados com 1,5 e 2,0% de celulose purificada, sem alterações na relação AV/PC.

Bikker et al. (2006) estudaram a inclusão de carboidratos fermentáveis e/ou redução proteica em dietas para leitões e não observaram alterações morfológicas no epitélio do jejuno, demonstrando que a redução no nível de proteína bruta das dietas

não influencia negativamente a morfologia intestinal. Nyachoti et al. (2006) observaram o mesmo ao reduzirem o nível de proteína bruta das dietas de leitões.

Em relação ao número de células caliciformes (Tabela 4), no presente estudo, não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nos leitões que receberam as dietas avaliadas. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados anteriormente por Hermes et al. (2009), que ao avaliarem a inclusão de níveis de fibra em detergente neutro e redução proteica em dietas, não observaram diferenças no número de células caliciformes no intestino de leitões. Resultados semelhantes também foram descritos por Moore et al. (1988). Estes resultados sugeriram que não houve aumento na produção de muco com a inclusão de fibras às dietas, como tentativa de proteção das células intestinais aos danos físicos inerentes à fibra dietética, como os de natureza abrasiva (SAKATA, 1991).

Os pesos relativos do estômago, intestino delgado, ceco, cólon e trato gastrointestinal, assim como o pH dos conteúdos do intestino delgado e ceco e as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no conteúdo cecal e de ácido láctico no conteúdo ileal não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas experimentais (Tabela 5).

Observou-se maior concentração de AGCC total e de ácido butírico ($P<0,10$) nas digestas de leitões que consumiram dieta contendo goma guar e celulose, respectivamente, em comparação com aqueles que consumiram dieta com lignocelulose, sem diferirem dos demais (Tabela 5).

De acordo com Dierick et al. (1989), o consumo de alimentos com elevados teores de fibra dietética, independentemente da sua fração, pode aumentar o tamanho dos órgãos do sistema digestório. No entanto, alterações no tamanho e no peso do trato gastrointestinal não possuem influência direta sobre a saúde intestinal dos animais (BALDWIN et al., 1980) pois, podem estar relacionadas a maiores volumes de digesta e à fermentação no intestino grosso (SAKATA, 1987), no caso de alimentos fibrosos, o que não verificamos no presente estudo.

A inclusão de fibra na dieta de suínos pode alterar o pH ao longo do trato gastrointestinal, como consequência da produção de ácidos graxos de cadeia curta, produtos da fermentação da fibra e do aumento das secreções gástricas (MONTAGNE et al., 2003). No entanto, a utilização do pH como indicador da fermentação depende

de fatores como a produção, absorção e utilização dos AGCC pelos animais (PLUSKE et al. 1998). No presente estudo não foram constatadas diferenças na produção de AGCC, tampouco nos valores de pH ou nos pesos relativos de órgãos, indicativos de fermentação da fibra no trato gastrointestinal. Estes resultados podem ser explicados devido ao baixo nível de inclusão e às diferentes concentrações das fibras nas dietas experimentais.

Tabela 5. Pesos relativos do estômago, intestino delgado, ceco, cólon e trato gastrointestinal, valores de pH dos conteúdos do intestino delgado e ceco e concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no conteúdo cecal e de ácido láctico no conteúdo ileal de leitões abatidos aos 36 dias de idade.

| Variáveis | Dietas experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|---------------------|-----------------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| Estômago, % | 0,78 | 0,65 | 0,72 | 0,73 | 0,71 | 0,75 | 0,04 | 0,207 |
| Int. delgado, % | 4,85 | 4,69 | 4,63 | 4,69 | 4,40 | 5,28 | 0,24 | 0,105 |
| Ceco, % | 0,17 | 0,17 | 0,16 | 0,19 | 0,19 | 0,20 | 0,01 | 0,180 |
| Cólon, % | 1,80 | 1,26 | 1,45 | 1,62 | 1,65 | 1,53 | 0,16 | 0,253 |
| TGI, % | 7,60 | 6,77 | 6,96 | 7,40 | 7,96 | 7,77 | 0,32 | 0,141 |
| pH | | | | | | | | |
| Int. Delgado | 6,56 | 6,65 | 6,78 | 6,69 | 6,74 | 6,52 | 0,18 | 0,723 |
| Ceco | 6,12 | 6,16 | 6,49 | 6,41 | 5,94 | 5,96 | 0,27 | 0,141 |
| AGCC | | | | | | | | |
| Total, mmol/L | 105,20 ^{a,b} | 119,40 ^{a,b} | 91,08 ^b | 117,37 ^{a,b} | 126,03 ^{a,b} | 134,74 ^a | 13,82 | 0,081 |
| Acético, % | 53,82 | 55,29 | 56,21 | 48,76 | 51,89 | 46,99 | 2,56 | 0,079 |
| Propiônico, % | 30,93 | 27,81 | 31,26 | 31,33 | 29,47 | 33,10 | 1,85 | 0,109 |
| Butírico, % | 11,22 ^{a,b} | 12,31 ^{a,b} | 8,45 ^b | 15,46 ^a | 13,71 ^{a,b} | 13,77 ^{a,b} | 2,00 | 0,087 |
| Valérico, % | 2,94 | 3,25 | 2,84 | 3,25 | 3,71 | 4,84 | 0,62 | 0,171 |
| Isobutírico, % | 0,36 | 0,57 | 0,52 | 0,48 | 0,46 | 0,56 | 0,10 | 0,518 |
| Isovalérico, % | 0,73 | 0,77 | 0,72 | 0,72 | 0,76 | 0,74 | 0,13 | 0,947 |
| Ác. láctico, mmol/L | 17,87 | 14,01 | 9,69 | 10,40 | 18,78 | 14,02 | 4,90 | 0,453 |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,10$);

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão.

A redução no nível de proteína bruta das dietas não refletiu nas concentrações de isoácidos do conteúdo cecal. No entanto, a fermentação proteica, normalmente, é mais pronunciada na parte distal do intestino grosso, onde hidratos de carbono tornam-se um fator limitante para a fermentação microbiana (JENSEN, 2001). Análises de AGCC na digesta do cólon, proximal e distal, não foram realizadas neste experimento.

O ácido láctico tem propriedades antimicrobianas (NOUT et al., 1989) e é produzido pelos *Lactobacillus* e bifidobactérias, bactérias benéficas responsáveis por “promover” saúde intestinal, pois protegem o organismo contra infecções no intestino, ao criarem ambiente impróprio para a proliferação de patógenos (HAMPSON et al., 2001; PLUSKE et al., 2001; BACH KNUDSEN et al., 2003 e 2012). Não observamos diferenças nas concentrações de ácido láctico nos animais que receberam as dietas experimentais.

Em estudo avaliando a inclusão de goma guar à dieta de leitões desmamados, verificou-se aumento no peso do intestino grosso, menores valores de pH e maior concentração de AGCC total e butirato nos conteúdos do ceco e cólon proximal; os resultados foram relacionados à fermentação microbiana da fibra solúvel no intestino grosso (McDONALD et al., 1999), pois AGCC podem exercer influências tróficas sobre os intestinos, contribuindo para o aumento de seus pesos e redução nos valores de pH da digesta (SAKATA, 1987). A diferença nos resultados apresentados deve-se, provavelmente, ao nível de fibra avaliado, que foi de 10%, cinco vezes maior que o do presente estudo.

Wellock et al. (2008) constataram menor pH no conteúdo do íleo, sem diferenças no ceco e cólon e maiores concentrações dos ácidos acético, propiônico, butírico e valérico no ceco e, acético, butírico, valérico e isobutírico no cólon de leitões que consumiram dieta contendo fibra solúvel, comparados aos que receberam fibra insolúvel na dieta. Os resultados foram atribuídos ao maior poder fermentativo da fibra solúvel, no entanto, a fonte utilizada era inulina, não viscosa, o que reduz os efeitos prejudiciais relacionados ao aumento da viscosidade da digesta para leitões. Owusu-Asiedu et al. (2006) não notaram diferenças no pH ileal ao incluírem goma guar e celulose em dietas de suínos, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Por outro lado, Pluske et al. (2003) relataram menores pesos relativos de estômago e intestino delgado, valores de pH do ceco e cólon e concentração de AGCC no cólon distal, sem diferença nas concentrações de ácido láctico e AGCC no íleo e ceco, quando os animais foram alimentados com isolado de tremoço e amido de milho com alto teor de amilase. Os autores explicaram que uma combinação de fontes de fibras solúvel e insolúvel é fermentada, no intestino grosso, de forma mais eficaz do

que fontes de polissacarídeos isolados, e que valores baixos de pH não estão, necessariamente, relacionados à maior concentração de AGCC.

Hermes et al. (2009) não observaram diferenças nas concentrações de ácidos láctico, butírico, propiônico e acético ao avaliarem níveis de proteína bruta e de fibra para leitões. Já, Htoo et al. (2007) estudaram a redução proteica em dietas para leitões, e não verificaram alteração nos pH ileal e cecal ou na concentração de AGCC ileal, apenas reduções nas de ácido butírico ileal, AGCC, ácidos acético, isobutírico e isovalérico cecal, concluindo que ao reduzir o nível de proteína, diminui também a quantidade de substrato para fermentação e atividade microbiana. Estes resultados diferiram dos encontrados no presente estudo, contudo, os autores ressaltaram que a quantidade de fibra das dietas com redução proteica, foi menor comparada à controle, e relacionaram este fato à redução nas concentrações de AGCC.

A maior quantificação de AGCC total pode estar relacionada ao maior tempo de trânsito gastrointestinal das dietas com goma guar, como consequência do aumento da viscosidade da digesta, disponibilizando mais substrato, por mais tempo, para fermentação. Especulou-se que maior produção de AGCC poderia ser induzida pelas propriedades viscosas da goma guar, que retardam a absorção de nutrientes no intestino delgado, arrastando-os fisicamente até o intestino grosso (McDONALD et al., 1999). A maior concentração de ácido butírico, nos animais que consumiram dieta contendo celulose (DF2), pode ser correlacionada positivamente à maior relação altura das vilosidades e profundidade das criptas apresentada pelos mesmos animais, pois sabe-se que este ácido estimula a função e desenvolvimento do intestino delgado (ROEDIGER, 1982; SAKATA 1987; MONTAGNE et al., 2003). Neste sentido, Chen et al. (2013) relataram maior concentração de ácido butírico no cólon e maior relação AV/PC no íleo de leitões que consumiram fonte de fibra insolúvel. As menores concentrações observadas nas digestas de leitões alimentados com dieta contendo lignocelulose pode ser explicada pela presença de lignina nessa fonte de fibra, pois a lignina diminui a taxa fermentativa da fibra, ao influenciar a digestibilidade da celulose, tornando-a menos disponível à degradação microbiana no intestino grosso (JOHNSTON et al., 2003).

As dietas experimentais não afetaram ($P>0,05$) a quantificação de *Escherichia coli*, porém, a contagem de *Lactobacillus* foi menor ($P<0,05$) nos animais alimentados

com a dieta contendo celulose e nível proteico reduzido, comparada às demais (Tabela 6).

Tabela 6. Contagens de *Lactobacillus* e de *E. coli* (log UFC/g) no conteúdo intestinal de leitões abatidos aos 36 dias de idade.

| Variáveis | Diets experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|----------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| <i>Lactobacillus</i> | 9,24 ^a | 9,25 ^a | 8,96 ^a | 7,14 ^b | 9,04 ^a | 8,97 ^a | 0,51 | 0,015 |
| <i>E. coli</i> | 4,52 | 4,94 | 4,91 | 4,85 | 4,67 | 4,99 | 0,39 | 0,842 |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$);

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão.

Nyachoti et al. (2006) também não constataram influência da redução do nível proteico de dietas, para leitões, sobre a população de *E. coli* e coliformes totais, e relataram que embora um alto nível de proteína bruta na dieta colabore para a fermentação proteica, este fator por si só não resulta, necessariamente, em aumento da população de bactérias patogênicas no intestino delgado, pois outras condições sanitárias também devem ser consideradas. Da mesma forma, Hermes et al. (2009) não verificaram efeito da redução proteica das dietas sobre as quantificações de microrganismos.

A menor concentração de *Lactobacillus* no conteúdo intestinal de leitões alimentados com dieta contendo celulose pode ser explicada pela maior motilidade e menor tempo de trânsito gastrointestinal da digesta, que reduz a disponibilidade de substrato para o crescimento bacteriano (STAGONIAS e PEARCE, 1985; LOW, 1993; PLUSKE et al., 2003; MATEOS et al., 2006), pois, a taxa de passagem da digesta limita processos microbianos em diferentes partes do trato digestório (WENK, 2001). Resultados semelhantes foram verificados por Marujo (2013) ao avaliar níveis crescentes de celulose em dietas para leitões recém-desmamados.

Bikker et al. (2006), no entanto, não observaram interações entre a redução no nível de proteína bruta e a adição de carboidratos fermentáveis (7,5% ou 13,4%), em dietas para leitões, sobre a microbiologia analisada, no entanto, a adição de fibra resultou em maior contagem de *Lactobacillus* e menor de coliformes no conteúdo ileal. Os autores relacionaram estes resultados às altas concentrações de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta, que reduziram o pH da digesta propiciando meio favorável à proliferação de bactérias benéficas (FULLER, 1977). Não observamos, no

presente estudo, diferenças no pH e nas concentrações de ácido láctico e ácidos graxos, possivelmente, devido à menor concentração de fibra e diferença na composição das dietas, que são formuladas basicamente com milho e farelo de soja, diferentemente do estudo citado que utilizou vários coprodutos para atingir níveis desejados de fibra e proteína bruta.

Ressaltamos divergências na literatura quanto ao tipo de fibra que favorece a microbiota intestinal; Chen et al. (2013) relataram aumento na população de *Lactobacillus* e redução na de *E. coli*, com a adição de fibra insolúvel à dieta. Aumentos na relação *Lactobacillus*:coliforme foram constatados com a inclusão de polissacarídeos não amiláceos solúveis à dieta de leitões (WELLOCK et al., 2008). Molist et al. (2009), no entanto, verificaram redução na população de enterobactérias, sem alteração na de *Lactobacillus*, ao adicionarem fibras insolúvel e solúvel às dietas. Owusu-Asiedu et al. (2006) avaliaram a inclusão de celulose e goma guar em dietas para suínos em crescimento, e verificaram que os animais que consumiram goma guar apresentaram maior concentração de *Lactobacillus*, enterobactérias e *Clostridium*, enquanto, os que ingeriram celulose evidenciaram maior concentração de bifidobactérias e enterobactérias no conteúdo ileal. Estes resultados foram relacionados ao aumento na viscosidade da digesta e à redução na digestibilidade de alguns nutrientes, promovidos pelas duas fontes de fibra, pois uma alteração na viscosidade da digesta, modifica a fisiologia e o ecossistema intestinal (CHOCT et al., 1996).

As quantificações de linfócitos B (CD79), T (CD3) e macrófagos não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelas dietas experimentais (Tabela 7), sugerindo que o nível de inclusão de fibras solúveis e insolúveis não influenciou o sistema imunológico do animal.

Tabela 7. Contagens (n° de células imunomarcadas) de linfócitos T (CD3), B (CD79) e macrófagos (MAC) na porção média do íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade.

| Variáveis | Dietas experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|-----------|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| CD3 | 84,55 | 78,54 | 62,66 | 84,80 | 84,26 | 71,19 | 7,33 | 0,099 |
| CD79 | 73,31 | 76,89 | 68,28 | 80,20 | 73,48 | 70,77 | 5,91 | 0,760 |
| MAC | 12,99 | 6,50 | 5,42 | 6,41 | 9,19 | 7,69 | 1,83 | 0,075 |

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão.

As imunomarcações para linfócitos T ocorreram nas criptas, placas de Peyer, mas principalmente nas vilosidades (Figura 3); para linfócitos B ocorreram nas criptas e vilosidades, mas principalmente nas placas de Peyer (Figura 4) e para macrófagos ocorreram nas criptas (Figura 5) e região muscular, mas principalmente nas vilosidades e placas de Peyer.

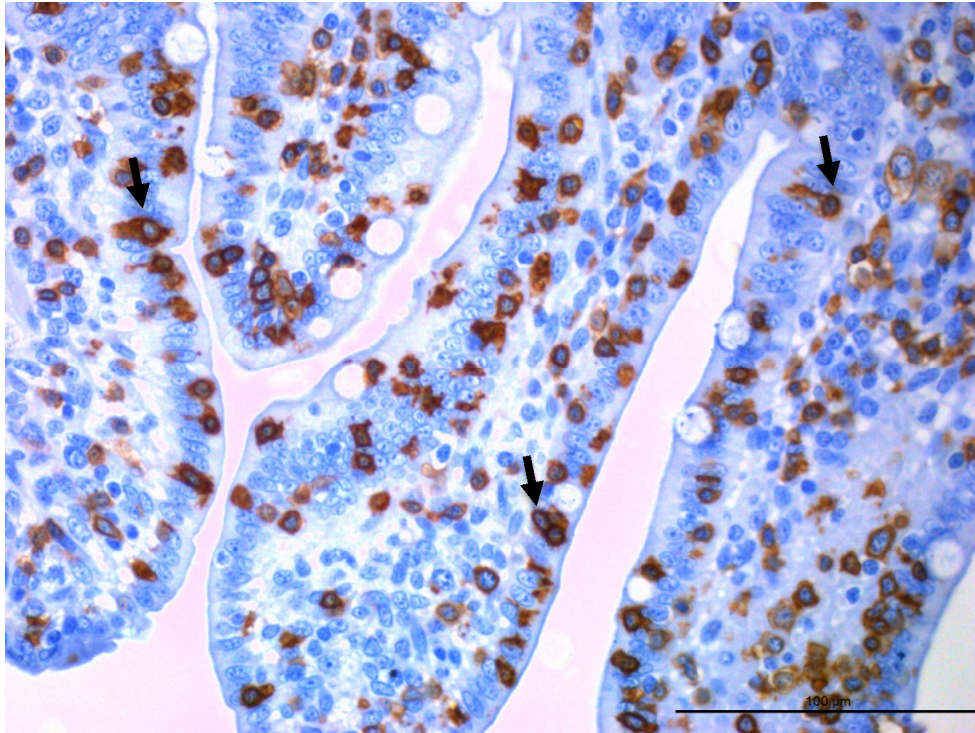


Figura 3. Fotomicrografia da imunomarcção de linfócitos T em vilosidades ileais de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar a forte imunomarcção na membrana das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x. Setas: células fortemente imunomarcadas.

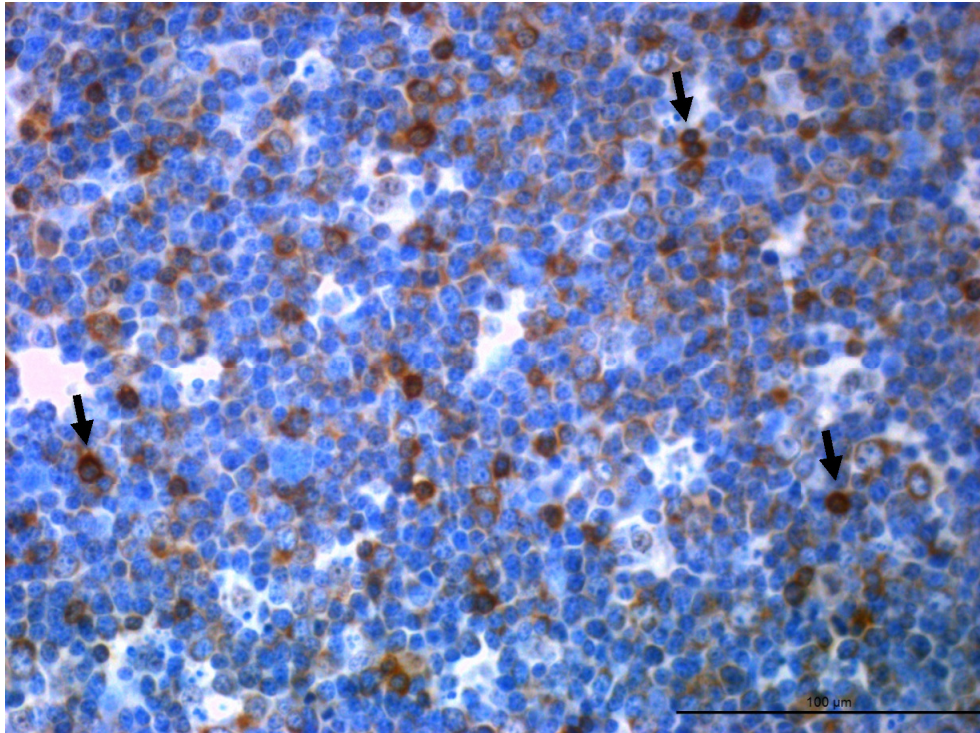


Figura 4. Fotomicrografia da imunomarcção de linfócitos B nas placas de Peyer do íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar a forte imunomarcção na membrana das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x. Setas: células fortemente imunomarcadas.

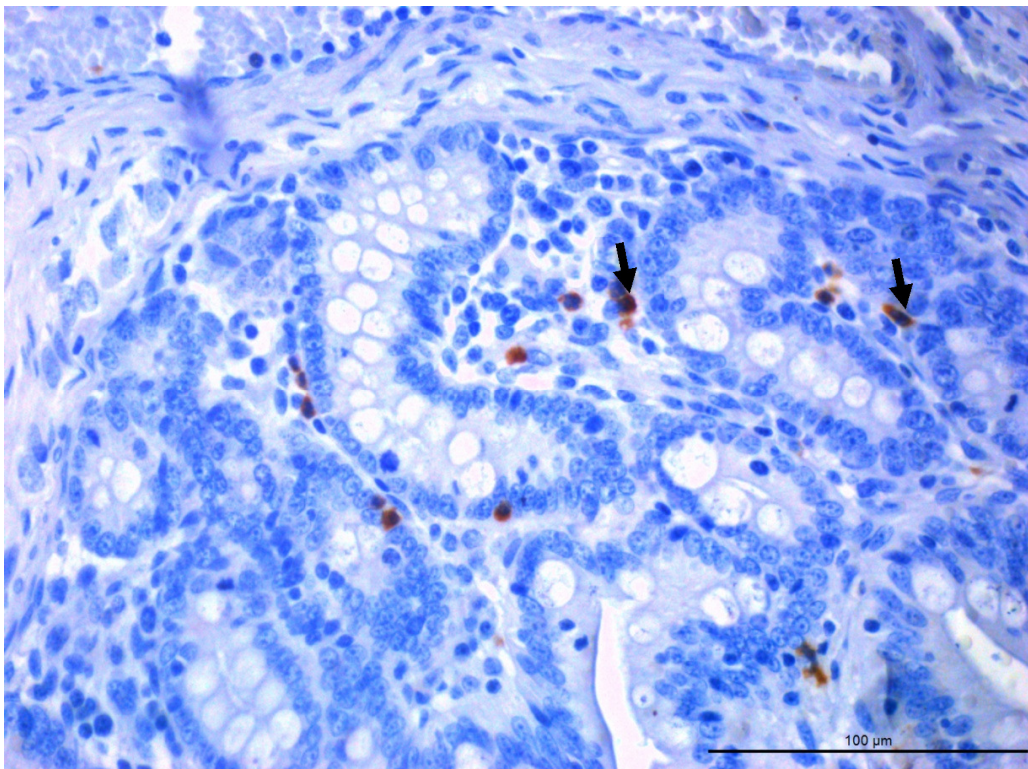


Figura 5. Fotomicrografia da imunomarcção de macrófagos nas criptas ileais de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar a forte imunomarcção no citoplasma das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x. Setas: células fortemente imunomarcadas.

Estudos avaliando fibras dietéticas e respostas imunológicas em suínos são escassos na literatura. As pesquisas existentes nessa área, são em grande parte, com ratos, cães e humanos.

Considerando que o intestino é a primeira linha de defesa do organismo e que respostas imunitárias ocorrem para potenciais agentes patogênicos (SCHLEY e FIELD, 2002), os resultados do presente estudo demonstraram não haver efeito das fibras purificadas e da redução do nível proteico das dietas sobre a população de patógenos avaliada, bem como no número de linfócitos e macrófagos.

Hipóteses sobre a ação de ingredientes funcionais, como a fibra dietética, na função imune de animais têm sido discutidas. Uma delas é que a fibra não é fermentada na parte superior do trato digestório, sendo substrato para bactérias benéficas no intestino grosso, aumentando, assim, a proporção de bactérias ácido-láticas no cólon, o número de linfócitos e leucócitos e a função fagocítica de macrófagos (NAGENDRA e VENKAT RAO, 1994; GASKINS et al., 1996; PIERRE et al., 1997; SCHLEY e FIELD, 2002).

Um mecanismo através do qual a fibra pode influenciar o sistema imune, pode ser a estimulação imunológica por meio do contato direto da microbiota, reestabelecida após a fermentação (bactérias benéficas), ou de substâncias microbianas, como antígenos citoplasmáticos e componentes da parede celular, com o tecido linfoide associado do intestino, que podem atravessar a barreira epitelial do intestino, atingindo as placas de Peyer e induzindo a ativação de células imunitárias (BERG, 1985; De SIMONE et al., 1987; LINK-AMSTER et al., 1994; SCHIFFRIN et al., 1995). De Simone et al. (1988) sugeriram que há sites de receptores de bactérias ácido-láticas em linfócitos, o que pode levar à ativação do sistema imune. Verificou-se redução na população de *Lactobacillus* nos leitões que consumiram dieta contendo celulose, no entanto, não houve reflexo deste resultado sobre o número de células imunitárias nas placas de Peyer dos animais.

Outra hipótese é que os AGCC têm propriedades imunomoduladoras, como aumento na atividade de células “natural killer”, na produção de anticorpos e na reação linfocitária mista em ratos e humanos (ISHIZAKA et al., 1993; PRATT et al., 1996; SCHLEY e FIELD, 2002). Não constatamos diferenças na produção de AGCC e

tampouco no número de linfócitos e macrófagos nos leitões que receberam as diferentes dietas experimentais.

Ao avaliarem fibras fermentáveis e não fermentáveis em dietas para cães, Field et al. (1999), relataram aumento de células T, subtipos CD4 e CD8, no tecido linfoide associado ao intestino de animais que consumiram fibras fermentáveis, e sugeriram que estas fibras melhoram a função imune, pois estimulam a produção de células Th1, cuja resposta é a ativação de macrófagos. O mesmo foi observado por Lim et al. (1997) ao fornecerem pectina comparada à celulose para ratos. Gómez-Conde et al. (2007) incluíram níveis de fibra solúvel em detergente neutro para coelhos desmamados aos 25 dias de idade, e não constataram diferença no número de linfócitos totais na lâmina própria, apenas um aumento em um subtipo de linfócito T, o CD8, citotóxico e supressor, com a redução no nível de fibra. Este resultado foi relacionado à um efeito protetor da mucosa pela fibra, que favorece a resposta imune. Não verificamos essas diferenças entre as dietas com ou sem adição de fibras para leitões.

Hermes et al. (2009) estudaram alto e baixo níveis de fibras e de proteína bruta em dietas para leitões, e observaram maior número de linfócitos intraepiteliais nos animais que consumiram dieta com redução de 4% na proteína bruta, sem diferenças para a inclusão de fibras ou para interação fibras e nível de proteína bruta. Os autores relacionaram o aumento dos linfócitos intraepiteliais ao aumento de diarreia e da necessidade de intervenção medicamentosa, o que não observamos nesta pesquisa. Chen et al. (2013) relataram que fontes de fibra insolúveis, como farelo de trigo e fibra da ervilha, podem melhorar o funcionamento da barreira intestinal de leitões recém-desmamados, através do aumento na concentração de fatores de barreira intestinal, como o MHC-II, que tem a capacidade de apresentar antígenos peptídicos para linfócitos T CD4 sendo, portanto, necessário para iniciar a resposta imunológica.

Os escores de lesão intestinal no jejuno não foram afetados ($P > 0,05$) pelas dietas experimentais (Tabela 8). No duodeno os menores ($P < 0,05$) escores foram observados nos animais que consumiram as dietas contendo lignocelulose e celulose, quando comparados aos que receberam pectina na dieta, enquanto no íleo os menores ($P < 0,05$) escores de lesões foram verificados nos leitões consumindo a dieta com celulose e maiores ($P < 0,05$) naqueles recebendo as dietas controle (DC), com

redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta (DR) e naquela contendo pectina (DF3).

O número de células em apoptose e mitose no jejuno não foram influenciadas ($P>0,05$) pelas dietas experimentais, assim como o número de células em apoptose no íleo. O número de células em apoptose no duodeno foi menor ($P<0,05$) nos animais alimentados com dieta contendo celulose e nível proteico reduzido, diferindo apenas da dieta controle e não das demais. O número de células em mitose no duodeno foi maior ($P<0,05$) nos leitões que receberam as dietas controle e aquela contendo pectina, quando comparados aos que consumiram a dieta com celulose. No íleo, os maiores ($P<0,05$) números de células em mitose foram constatados nos animais consumindo as dietas controle, com redução no nível proteico, e aquelas contendo pectina e goma guar, quando comparados àqueles recebendo as dietas contendo lignocelulose e celulose, as quais não diferiram entre si.

Tabela 8. Valores de escores de lesão intestinal e número de células em apoptose e mitose no duodeno, jejuno e íleo de leitões abatidos aos 36 dias de idade.

| Variáveis | Dietas experimentais ¹ | | | | | | EP ² | P |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-----------------|-------|
| | DC | DR | DF1 | DF2 | DF3 | DF4 | | |
| Escores de lesão intestinal | | | | | | | | |
| Duodeno | 16,14 ^{a,b} | 14,00 ^{a,b} | 10,29 ^b | 10,00 ^b | 17,83 ^a | 15,17 ^{a,b} | 1,69 | 0,012 |
| Jejuno | 9,86 | 10,00 | 7,99 | 7,29 | 10,28 | 10,29 | 0,91 | 0,087 |
| Íleo | 8,14 ^a | 8,00 ^a | 6,00 ^{a,b} | 4,56 ^b | 8,00 ^a | 7,67 ^{a,b} | 0,65 | 0,010 |
| N° de células em Apoptose | | | | | | | | |
| Duodeno | 51,63 ^a | 46,77 ^{a,b} | 34,89 ^{a,b} | 32,08 ^b | 39,54 ^{a,b} | 36,12 ^{a,b} | 4,01 | 0,010 |
| Jejuno | 38,83 | 39,17 | 33,49 | 31,37 | 36,72 | 39,86 | 3,01 | 0,288 |
| Íleo | 37,79 | 33,74 | 35,85 | 32,37 | 42,39 | 40,72 | 4,40 | 0,429 |
| N° de células em Mitose | | | | | | | | |
| Duodeno | 92,80 ^a | 90,18 ^{a,b} | 83,66 ^{a,b} | 75,05 ^b | 95,27 ^a | 88,73 ^{a,b} | 3,89 | 0,011 |
| Jejuno | 88,23 | 95,03 | 85,84 | 91,90 | 95,54 | 98,09 | 5,19 | 0,076 |
| Íleo | 99,12 ^a | 89,11 ^a | 76,48 ^b | 73,73 ^b | 88,93 ^a | 89,80 ^a | 2,73 | 0,001 |

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$);

¹DC: dieta controle sem redução do nível proteico; DR: DC com redução de quatro pontos percentuais na proteína bruta; DF1, DF2, DF3 e DF4: DR com adição de 2% de lignocelulose, celulose, pectina e goma guar, respectivamente;

²Erro padrão.

As imunomarcações de apoptose ocorreram principalmente nas vilosidades (Figura 6) e as de mitose nas criptas (Figura 7).

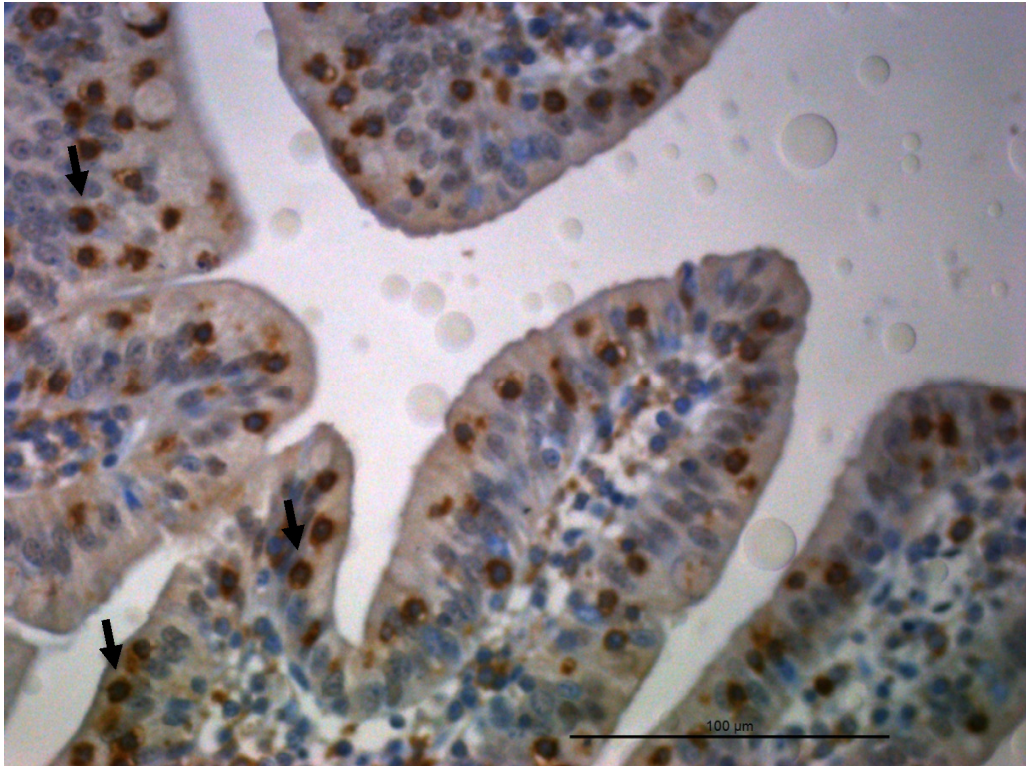


Figura 6. Fotomicrografia da imunomarcção das células em apoptose nas vilosidades do duodeno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar a forte imunomarcção no citoplasma das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x. Setas: células fortemente imunomarcadas.

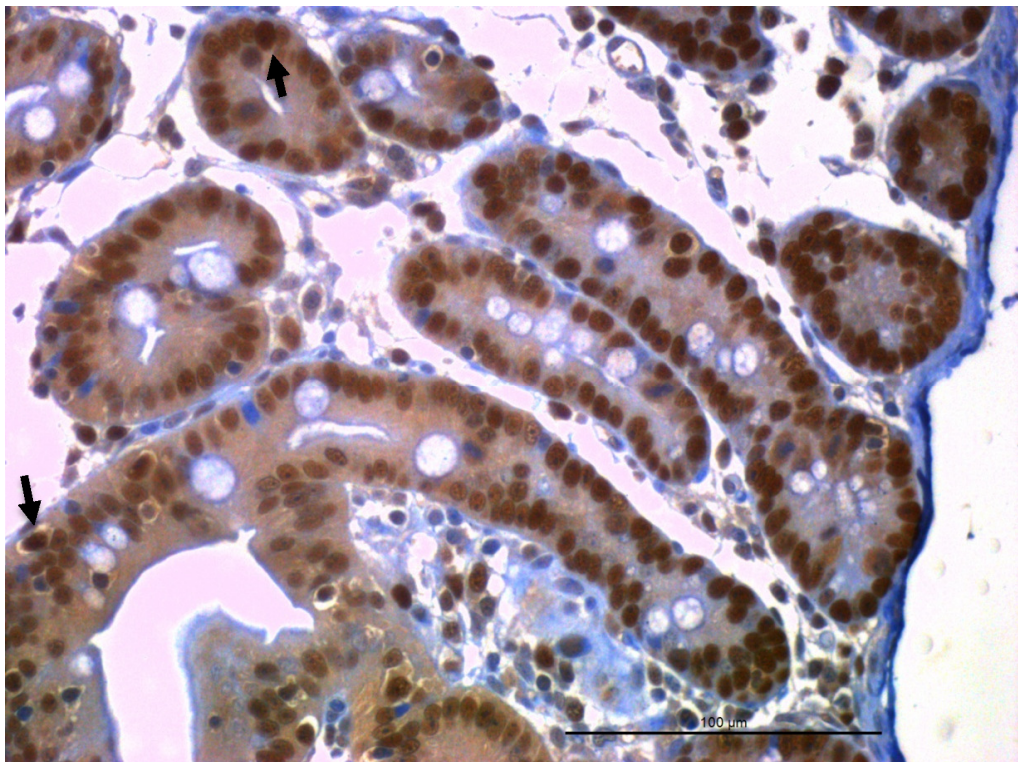


Figura 7. Fotomicrografia da imunomarcção de proliferação celular nas criptas do jejuno de leitões abatidos aos 36 dias de idade. Notar a forte imunomarcção intranuclear das células. Complexo de polímeros ligados à peroxidase. Objetiva de 40x. Setas: células fortemente imunomarcadas.

Os leitões alimentados com dieta contendo celulose e nível proteico reduzido, apresentaram os menores escores de lesão intestinal, os menores números de células em apoptose e mitose e a melhor relação altura das vilosidades/profundidade das criptas, ou seja, essa fonte de fibra proporcionou maiores benefícios à morfologia do epitélio intestinal, possivelmente, pelo seu maior grau de pureza, 99% de fibra insolúvel.

Ao avaliarem a inclusão de 10% de palha de trigo em dietas para leitões com 14 kg de peso vivo, Jin et al. (1994) verificaram maior proliferação e morte celular, no jejuno e íleo, dos animais que consumiram dieta contendo a fibra, e concluíram que este ingrediente levou ao aumento do *turnover* celular no intestino. No presente estudo, observamos menores contagens de células em apoptose e mitose, no duodeno e íleo, de leitões alimentados com dieta contendo celulose, provavelmente pelo menor nível de inclusão da fibra e pela fonte ser purificada e causar menos injúrias ao epitélio. Fato comprovado por Cassidy et al. (1984) que relataram menor proliferação celular no jejuno de ratos alimentados com celulose, e associaram este resultado aos menores danos à mucosa epitelial. O mesmo foi relatado por Southon et al. (1985).

Pieper et al. (2012) estudaram alta e baixa concentrações de proteína bruta (14,5 e 20,0%) e fibra (14,5 e 18,0%) para leitões desmamados aos 25 dias de idade, e observaram maiores números de células em mitose e de reações inflamatórias no epitélio, sem diferença para apoptose, nos animais que receberam dietas contendo alto nível de proteína, independentemente do nível de fibra. Os resultados foram relacionados às maiores concentrações de metabólitos e isoácidos, número de patógenos, incidência de diarreia e diminuição do ganho de peso, verificados nos leitões que consumiram estas dietas. Não constatamos diferenças quanto à concentração de isoácidos, patógenos e incidência de diarreia, entretanto, maiores números de células em mitose e apoptose foram verificadas nos leitões alimentados com dietas contendo alto nível de proteína bruta (DC) e redução do nível proteico e inclusão de pectina (DF3). Os animais que consumiram dieta controle também apresentaram baixa relação AV/PC e altos escores de lesão intestinal, resultados que podem explicar a maior taxa de renovação celular, pois diminuição na relação AV/PC no intestino delgado foi associada ao aumento na taxa de proliferação e morte celular,

resultando em um *turnover* celular mais acelerado (MONTAGNE et al., 2003). Os leitões que consumiram dieta com redução no nível de proteína bruta e inclusão de pectina apresentaram também, os maiores escores de lesão intestinal, isso pode ser devido ao menor grau de pureza dessa fibra (40% de fibra solúvel) e pela maior viscosidade da digesta, contribui para a apoptose no epitélio e estimula, conseqüentemente, a proliferação celular nas criptas (GEE et al., 1996; PLUSKE et al., 2001).

Um estudo comparando a inclusão de altos níveis de fibras solúvel e insolúvel em dietas para porcas, não constatou diferenças na morfologia do epitélio, tampouco no número de células em mitose nos intestinos delgado e grosso. (SERENA et al., 2008). A ausência de efeitos avaliando tipos de fibras em alto e baixo níveis, deve-se, provavelmente, à maturidade do trato gastrointestinal destes animais, pois o efeito da fibra na morfologia epitelial e na renovação celular é variável e depende das características físico-químicas, nível de inclusão na dieta, duração da ingestão e idade do animal (MONTAGNE et al., 2003).

CONCLUSÃO

A redução no nível de proteína bruta das dietas não influencia a morfofisiologia, microbiologia e imunidade do trato gastrointestinal.

A inclusão de fibras purificadas insolúveis às dietas, principalmente a celulose, proporciona benefícios à morfologia do epitélio intestinal de leitões, como melhor relação altura das vilosidades/profundidade das criptas, menores escores de lesão intestinal e menor número de células em apoptose.

AGRADECIMENTOS

Bolsa de estudos concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq.

REFERÊNCIAS

BACH KNUDSEN, K. E. The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. **Journal of Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 3-20, 2001.

BACH KNUDSEN, K. E.; PETKEVICIUS, S.; JØRGENSEN, H.; MURREL, K. D. A high load of rapidly fermentable carbohydrates reduces worm burden in infected pigs. In: PATERSON, J. E. (Ed.). 2003. **Manipulating Pig Production IX**. Australasian Pig Science Association Inc., Werribee, Australia, p. 169, 2003.

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

BALDWIN, R. L.; SMITH, N. E.; TAYLOR, J.; SHARP, M. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion. **Journal of Animal Science**, v. 51, p.1416-1428, 1980.

BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, p. 1-13, 2000.

BERG, R. D. Indigenous intestinal microflora and the host immune response. **EOS Journal of Immunology and Immunopharmacology**, v. 4, p. 161–168, 1985.

BERTSCHINGER, H. U.; EGGENBERGER, E.; JUCKER, H.; PFIRTER, H. P. Evaluation of low nutrient, high fiber diets for the prevention of porcine *Escherichia coli* enterotoxaemia. **Veterinary Microbiology**, v. 3, p. 281–290, 1979.

BIKKER, P.; DIRKZWAGER, A.; FLEDDERUS, J.; TREVISI, P.; LE HUËROULURON, I.; LALLÈS, J. P.; AWATI, A. The effect of dietary protein and fermentable carbohydrates levels on growth performance and intestinal characteristics in newly weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3337-3345, 2006.

CASSIDY, M. M.; FITZPATRICK, L. R.; VAHOUNY, G. V. 1984. The effect of fiber in the postweaning diet on nutritional and intestinal morphological indices in the rats. In: **2nd Washington Symposium of Dietary Fiber**. p 229.

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

CHOCT, M.; HUGHES, R. J.; WANG, J.; M. R. BEDFORD, M. R.; MORGAN, A. J.; ANNISON, G. Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chicken. **British Poultry Science**, v. 37, p. 609–621, 1996.

DE LEEUW, J. A.; BOLHUIS, J. E.; BOSCH, G.; GERRITS, W. J. J. Effects of dietary fibre on behaviour and satiety in pigs. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, p. 334-342, 2008.

De SIMONE, C.; VESELY, R.; NEGRI, R.; BIANCHI SALVADORI, B.; ZANZOGLU, S.; CILLI, A.; LUCCI, L. Enhancement of immune response of murine Peyer's patches by a diet supplemented with yogurt. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 9, p. 87–100, 1987.

De SIMONE, C.; TZANTZOGLU, S.; BALDINELLI, L.; Di FABIO, S.; BIANCHI SALVADORI, B.; JIRILLO, E.; VESELY, R. Enhancement of host resistance against *Salmonella typhimurium* infection by a diet supplemented with yogurt. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 10, p. 399–415, 1988.

DIERICK, N. A.; VERVAEKE, I. J.; DEMEYER, D. I.; DECUYPERE, J. A. Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. **Animal Feed Science and Technology**, v.23, p.141-167, 1989.

DOBBINS, J. W.; BINDER, H. J. Pathophysiology of diarrhoea: alterations in fluid and electrolyte transport. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 10, p. 605–626, 1981.

DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. Washington, D. C.: **American Public Health Association**, 2001.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 1768-1771, 1961.

FIELD C. J.; McBURNEY, M. I.; MASSIMINO, S.; HAYEK, M. G.; SUNVOLD G. D. The fermentable fiber content of the diet alters the function and composition of canine gut associated lymphoid tissue. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.72, p. 325–341, 1999.

FULLER, R. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. **British Poultry Science**, v. 18 p. 89–94, 1977.

GASKINS, H. R.; MACKIE, R. I.; MAY, T.; GARLEB, K. A. Dietary fructo-oligosaccharide modulates large intestinal inflammatory responses to *Clostridium difficile* in antibiotic-compromised mice. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 9, p. 157–166, 1996.

GEE, J.; LEE-FINGLAS, W.; WERTLEY, G.; JOHNSON, I. Fermentable carbohydrates elevate plasma enteroglucagon but high viscosity is also necessary to stimulate small bowel mucosal cell proliferation in rats. **Journal of Nutrition**, v.126, p. 373–379, 1996.

GÓMEZ-CONDE, M. S.; GARCÍA, J.; CHAMORRI, S.; EIRAS, P.; REBOLLAR, P. G.; PÉREZ de ROZAS, A.; BADIOLA, I.; BLAS, C.; CARABAÑO, R. Neutral detergent-soluble fiber improves gut barrier function in twenty-five-day-old weaned rabbits. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 3313-3321, 2007.

HAMPSON D. J.; PLUSKE, J. R.; PETHICK, D. W. Dietary manipulation of enteric disease. LINDBERG, J. E.; OGLE, B. (Eds.). 2001. In **Digestive Physiology of Pigs**. Wallingford, UK: CABI Publishing, p. 247-258, 2001.

HANCZAKOWSKA, E.; SWIATKIEWICZ, M.; BIAŁECKA, A. Pure cellulose as a feed supplement for piglets. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 64, p. 45-48, 2008.

HEDEMANN, M. S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H. N.; PEDERSEN, C.; LINDBERG, J. E.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K. E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1375-1386, 2006.

HERMES, R. G.; MOLIST, F.; YWAZAKI, M.; NOFRARIAS, M.; GOMEZ DE SEGURA, A.; GASA, J.; PÉREZ, J. F. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3569-3577, 2009.

HTOO, J. K.; ARAIZA, B. A.; SAUER, W. C.; RADEMACHER, M.; ZHANG, Y.; CERVANTES, M.; ZIJLSTRA, R. T. Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 12, p. 3303-3312, 2007.

ISHIZAKA, S.; KIKUCHI, E.; TSUJII, T. Effects of acetate on human immune system. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 15, p. 151-162, 1993.

JENSEN, B.B. Possible ways of modifying type and amount of products from microbial fermentation in the gut. In: PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K. E.; LINDBERG, J. E. (Eds.). 2001. **Gut Environment of Pigs**. Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 181-200, 2001.

JIN, L.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A.; CATON, J. S.; CRENSHAW, J. D.; Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation, and morphology in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2270-2278, 1994.

JOHNSTON, L. J.; NOLL, S.; RENTERIA, A.; SHURSON, J. Feeding by-products high in concentration of fiber to nonruminants. In: National Symposium on Alternative Feeds for Livestock and Poultry, 3.. 2003, Kansas City, **Anais...** Kansas City, 2003, Não paginado.

KIERNAN, J. A. 1999. Histological and histochemical methods: theory and practice. *Shock*, v. 12, 479p.

KOLF-CLAUW, M.; CASTELLOTE, J.; JOLY, B. Development of a pig jejunal explant culture for studying the gastrointestinal toxicity of the mycotoxin deoxynivalenol: Histopathological analysis. **Toxicology in vitro**, v. 23, p. 1580-1584, 2009.

LIM, B. O.; YAMADA, K.; NONAKA, M.; KURAMOTO, Y.; HUNG, P.; SUGANO, M. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 663–667, 1997.

LINK-AMSTER, H.; ROCHAT, F.; SAUDAN, K. Y.; MIGNOT, O.; AESCHLIMANN, J. M. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 10, p. 55–64, 1994.

LOW, A. G. 1993. Role of dietary fibre in pig diets. In: **Recent developments in pig nutrition**, second ed. Nottingham University Press, Nottingham.

MARUJO, M. V. **Celulose em dietas para leitões recém-desmamados**. 2013, 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

MATEOS, G. G.; MARTIN, F.; LATORRE, M. A.; VICENTE, B.; LAZARO, R. Inclusion of oat hulls in diets for young pigs based on cooked maize or cooked rice. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 57-63, 2006.

McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. Adverse effects of soluble non-starch polysaccharides (guar gum) on piglet growth and experimental colibacillosis immediately after weaning. **Research in Veterinary Science**, v. 67, p. 245–250, 1999.

McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 487-498, 2001.

MOLIST, F.; GOMES DE SEGURA, A.; GASA, A.; HERMES, R. G.; MANZANILLA, E. G.; ANGUITA, M.; PÉREZ, J. F. Effects of the insoluble and soluble dietary fibre on the physicochemical properties of digesta and microbial activity in early weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, p. 346-353, 2009.

MOORE, R. J.; KORNEGAY, E. T.; GRAYSON, R. L.; LINDEMANN, M. D. Growth, nutrient utilization and intestinal morphology of pigs fed high-fiber diets. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 1570, 1988.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, p. 95-117, 2003.

MOREIRA, P. R. R.; VIEIRA, L. M.; ANDRADE, M. M. C.; BANDARRA, M. B.; MACHADO, G. F.; MUNARI, D. P.; VASCONCELOS, R. O. Immune response pattern of the popliteal lymph nodes of dogs with visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 107, p. 605-613, 2010.

NAGENDRA, R.; VENKAT RAO, S. Effect of feeding infant Dietary fibres, prebiotics and immune functions S229 formulations containing bifidus factors on in vivo proliferation of bifidobacteria and stimulation of intraperitoneal macrophage activity in rats. **Journal of Nutritional Immunology**, v. 2, p. 61–68, 1994.

NOUT, M. J.; ROMBOUTS, F. M.; HAVELAAR, A. Effect of accelerated neutral lactic acid fermentation on infant food ingredients on some pathogenic microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 8, p. 351–361, 1989.

NYACHOTI, C. M.; OMOGBENIGUN, F. O.; RADEMACHER, M.; BLANK, G. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 125-134, 2006.

OWUSU-ASIEDU, A.; PATIENCE, J. F.; LAARFELD, B.; Van KESSEL, A. G.; SIMMINS, P. H.; ZIJLSTRA, R. T. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 843- 852, 2006.

PETTIGREW, J. E. Ingredientes alimentares que melhoram a saúde. **Revista Porkworld**, v. 46, p. 278-283, 2008.

PIEPER, R.; KRÖGER, S.; RICHTER, J. F.; WANG, J.; MARTIN, L.; BINDELLE, J.; HTOO, J. K.; Von SMOLINSKI, D.; VAHJEN, W.; ZENTEK, J.; Van KESSEL, A. G. Fermentable Fiber Ameliorates Fermentable Protein-Induced Changes in Microbial Ecology, but Not the Mucosal Response, in the Colon of Piglets. **Journal of Nutrition**, v. 142, p. 661-667, 2012.

PIERRE, F.; PERRIN, P.; CHAMP, M.; BORNET, F.; MEFLAH, K.; MENANTEAU, J. Short-chain fructo-oligosaccharides reduce the occurrence of colon tumors and develop gut-associated lymphoid tissue in min mice. **Cancer Research**, v. 57, p. 225–228, 1997.

PLUSKE, J. R.; DURMIC, Z.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Confirmation of the role old rapidly fermentable carbohydrates in the expression of swine dysentery in pigs after experimental infection. **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1737-1744, 1998.

PLUSKE, J. R.; KIM, J. C.; McDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; HAMPSON, D. J. Non-starch polysaccharides in the diets of young weaned piglets. VARLEY, M. A.; WISEMAN, J. (Eds.). 2001. In **The Weaner Pig: Nutrition and Management**. Wallingford, UK: CABI Publishing, p. 81-112, 2001.

PLUSKE, J. R.; BLACK, B.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Effects of different sources and levels of dietary fibre in diets on performance, digesta characteristics and antibiotic treatment of pigs after weaning. **Animal Feed Science and Technology**, v. 107, p. 129-142, 2003.

PRATT, V. C.; TAPPENDEN, K. A.; McBURNEY, M. I.; FIELD, C. J. Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition improves nonspecific immunity after intestinal resection in rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 20, p. 264–271, 1996.

PRYCE, J. D. A. modification of the Barker -Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst**, v. 94, p. 1151-1152, 1969.

ROEDIGER, W. E. W. Utilisation of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, v. 83, p. 424–429, 1982.

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. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**, 3 ed., Viçosa: UFV, 2011, 252p.

SAKATA, T. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. **British Journal of Nutrition**, v. 58, p. 95–103, 1987.

SAKATA, T. 1991. Chemical and physical trophic effects of dietary fibre on the intestine of monogastric animals. *Pig News and Information*, 12, 165. (abstr).

SCHLEY, P. D.; FIELD, C. J. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 221–230, 2002.

SCHIFFRIN, E. J.; ROCHAT, F.; LINK-AMSTER, H.; AESCHLIMANN, J. M.; DONNET-HUGHES, A. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 491–497, 1995.

SERENA, A.; HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Influence of dietary fiber on luminal environment and morphology in the small and large intestine of sows. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2217-2227, 2008.

SMITH, H. W.; HALLS, S. The production of oedema disease and diarrhoea in weaned pigs by the oral administration of *Escherichia coli*: factors that influence the course of the experimental disease. **Journal of Medical Microbiology**, v. 1, p. 45–59, 1968.

SOUTHON, S.; LIVESEY, G.; GEE, J. M.; JOHNSON, I. T. Differences in international protein synthesis and cellular proliferation in well-nourished rats consuming conventional laboratory diets. **British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 87–95, 1985.

STAGONIAS, G.; PEARCE, G. R. The digestion of fiber by pigs. 1. The effects of amount and type of fiber on apparent digestibility, nitrogen balance and rate of passage. **British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 513-530, 1985.

TERZIAN, A. C. B.; ZUCCARI, D. A. P. C.; PEREIRA, R. S.; PAVAM, M. V.; RUIZ, C. M.; SUEIRO, F. A. R.; COELHO, J. Avaliação da caspase 3 e Ki-67 como marcadores prognósticos nas neoplasias mamárias em cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 2, p. 96-102, 2007.

WELLOCK, I. J.; FORTOMARIS, P. D.; HOUDIJK, J. G. M.; WISEMAN, J.; KYRIAZAKIS, I. The consequences of non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on the health and performance of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 520–530, 2008.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 21-33, 2001.

WILLIAMS, B. A., VERSTEGEN, M. W. A., TAMMINGA, S. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. **Nutrition Research Review**, v. 14, p. 207–227, 2001.