

UFRRJ

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TESE

Xilanase e Probiótico em Dietas para Frangos de Corte

Noédson de Jesus Beltrão Machado

2019



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

XILANASE E PROBIÓTICO EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

NOÉDSON DE JESUS BELTRÃO MACHADO

Sob a Orientação da Professora
Cristina Amorim Ribeiro De Lima

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências, no Curso de Pós- Graduação
em Zootecnia, Área de Concentração em
Produção Animal

Seropédica, RJ
Outubro de 2019

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

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

M149x Machado, Noédson de Jesus Beltrão, 1992-
Xilanase e probiótico em dietas para frangos de
corte / Noédson de Jesus Beltrão Machado. -
Parintins, 2019.
67 f.: il.

Orientador: Cristina Amorim Ribeiro de Lima.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Zootecnia,
2019.

1. Aditivos. 2. Microbiota ileal. 3. Viscosidade
intestinal. I. Lima, Cristina Amorim Ribeiro de ,
1963-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Zootecnia III.
Título.

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

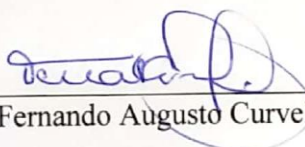
NOÉDSON DE JESUS BELTRÃO MACHADO

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

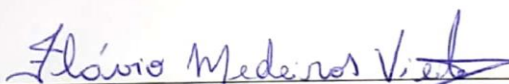
TESE APROVADA EM 11/10/2019



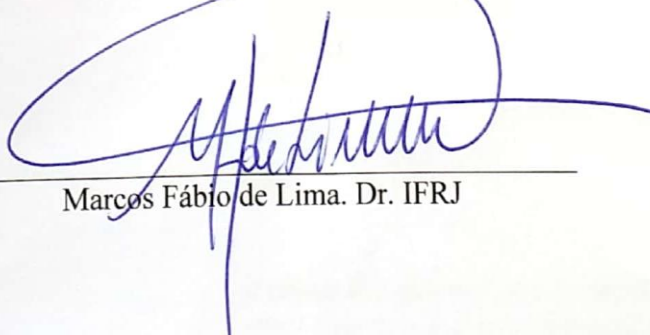
Cristina Amorim Ribeiro de Lima. Dr^a. UFRRJ
(Presidente)



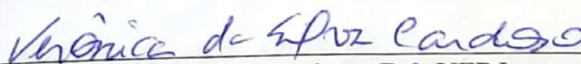
Fernando Augusto Curvello. Dr. UFRRJ



Flávio Medeiros Vieites. Dr. UFJF



Marcos Fábio de Lima. Dr. IFRJ



Verônica da Silva Cardoso. Dr^a. UFRJ

DEDICATÓRIA

*À Deus, Ele que por graça, me mostrou seu amor
filial e me levou a reconhecê-lo como Pai mesmo
diante de minha miséria humana;
Aos meus pais e irmã;
A minha esposa Nelma Machado, por toda
compreensão e ajuda nessa jornada do doutorado;
Aos meus filhos Júlio e Felipe Machado.*

AGRADECIMENTOS

A professora **Dra Cristina Amorim Ribeiro de Lima**, pela sua amizade, confiança, paciência e sobretudo por estar prontamente disponível a compreender seus orientados.

A **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ**, pela oportunidade de me profissionalizar.

Aos meus amigos **Debora Quaresma, Leonardo Willian, Felipe Dilelis**, e meus alunos do curso de Zootecnia da UFAM/Parintins que me auxiliaram nos experimentos.

Ao Setor de Avicultura da UFAM/Manaus, na pessoa do prof. **Dr. Frank Cruz**, por toda ajuda na condução dos experimentos.

Ao **Instituto Federal do Amazonas**, campus Parintins, pela oportunidade de realizar o experimento I em suas instalações.

A todos que passaram pela minha vida durante a jornada do doutorado e deixaram ensinamentos que sempre serão lembrados nas diversas situações encontradas no cotidiano.

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

RESUMO

MACHADO, Noédson de Jesus Beltrão. **Xilanase e probiótico em dietas para frangos de corte**. 2019. 67p. Tese (Doutorado em Zootecnia, Produção Animal). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

As dietas de frangos de corte são em geral constituídas por ingredientes de origem vegetal, que podem apresentar elevada quantidade de polissacarídeos não amiláceos, que são considerados fatores antinutricionais na nutrição de frangos. Dessa forma, o uso de enzimas e probióticos podem assegurar maiores disponibilidades de nutrientes de origem vegetal minimizando os efeitos dos PNA's. Foram realizados dois experimentos com o objetivo de estudar a suplementação de xilanase e probiótico em dietas para frangos corte. O experimento I foi realizado no IFAM/Parintins, em galpão experimental, conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, com seis repetições de sete aves cada. Para a composição dos tratamentos foram usados os produtos comerciais Colostrum Mix para a fonte do probiótico e a Smyzime Xylanase para a fonte enzimática, sendo realizada valorização da enzima em 150 kcal/kg de ração. Os tratamentos consistiram em: dieta referência; dieta referência com adição de probiótico; dieta basal com adição de xilanase e dieta basal com adição de xilanase e probiótico. A dieta referência atendia todas as exigências nutricionais dos frangos, enquanto a dieta basal foi formulada com menos 150 kcal de energia metabolizável por quilo de ração. Foram avaliados desempenho, características de carcaça e viscosidade intestinal. Já o experimento II, foi realizado em gaiolas metálicas, na UFAM/Manaus, conduzido em delineamento e com tratamentos semelhantes ao descrito anteriormente, sendo que todas as dietas foram suplementadas com farelo de trigo e as aves desafiadas via oral com vacina comercial de *Eimeria* administrada 10x acima da recomendação. Foram avaliados, desempenho, carcaça, viscosidade e pH intestinal e microbiota ileal. No experimento I, os tratamentos influenciaram o ganho de peso e consumo de ração, em que a suplementação isolada ou combinada dos aditivos não diferiram, porém conduziram a maiores ganhos em relação a dieta sem suplementação no período de 1 a 35 dias de idade. A viscosidade intestinal foi significativamente menor no tratamento com xilanase fornecida isoladamente (1,01 cP). No experimento II, no período de 10 a 35 dias de idade as dietas com xilanase e probiótico de maneira isoladas proporcionaram maior ganho de peso. O tratamento referência apresentou maior viscosidade no duodeno (1,42 cP) e íleo (1,21 cP), e maior valor de pH duodenal (6,54), sendo a dieta com probiótico resultando em menor valor de pH no ceco (6,11). A microbiota ileal foi influenciada pelos tratamentos, em que os frangos alimentados com a dieta contendo probiótico isoladamente apresentaram maior frequência do gênero *Lactobacillus* (94,20%). A suplementação com xilanase e probiótico proporcionaram melhorias no desempenho animal, viscosidade intestinal e modularam a microbiota ileal. Os aditivos fornecidos combinados na ração proporcionaram melhorias semelhantes ao fornecimento isolado, tão logo, não exerceram efeitos associativos.

Palavras-chave: Aditivo. Enzima. Microbiota. Viscosidade.

ABSTRACT

MACHADO, Noédson de Jesus Beltrão. **Xylanase and probiotic in broiler diets**. 2019. 67p. Thesis (Doctorate in Animal Science, Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Broiler diets are generally composed of ingredients of plant origin, which may have high amounts of non-starch polysaccharides, which are considered antinutritional factors in broiler nutrition. Thus, the use of enzymes and probiotics can ensure greater availability of nutrients of plant origin minimizing the effects of NSP. Two experiments were carried out to study xylanase and probiotic supplementation in diets for broilers. Experiment I was carried at IFAM/Parintins, in an experimental shed, conducted in a completely randomized design with four treatments, with six replications of seven birds each. For the composition of the treatments, Colostrum Mix commercial products were used for the probiotic source and Smyzime Xylanase for the enzymatic source, and the enzyme was valued at 150 kcal/kg of feed. The treatments consisted of: reference diet; reference diet with probiotic addition; basal diet with xylanase addition and basal diet with xylanase addition and probiotic. The reference diet met all the nutritional requirements of the chickens, while the basal diet was formulated with 150 kcal/kg less metabolizable energy. Performance, carcass characteristics and intestinal viscosity were evaluated. Experiment II was performed in metal cages at UFAM/Manaus, conducted in a design and with treatments similar to that described above, and all diets were supplemented with wheat bran and birds challenged orally with commercial *Eimeria* vaccine administered 10x above recommendation. Performance, carcass, intestinal viscosity and pH and ileal microbiota were evaluated. In experiment I, the treatments influenced weight gain and feed intake, in which the isolated or combined supplementation of the additives did not differ, but led to greater gains in relation to the diet without supplementation from 1 to 35 days of age. Intestinal viscosity was significantly lower in treatment with xylanase alone (1.01 cP). In experiment II, from 10 to 35 days of age, isolated xylanase and probiotic bedding provided greater weight gain. The reference treatment presented higher viscosity in duodenum (1.42 cP) and ileum (1.21 cP), and higher duodenal pH value (6.54), with the probiotic diet resulting in lower pH value in the cecum (6 , 11). The ileal microbiota was influenced by the treatments, in which broilers fed the diet containing probiotic alone presented higher frequency of the genera *Lactobacillus* (94.20%). Xylanase and probiotic supplementation provided improvements in animal performance, intestinal viscosity and modulated the ileal microbiota. Combined feed additives in feed provided similar improvements to the isolated feed, so they had no associative effects.

Key Words: Additive. Enzyme. Microbiota. Viscosity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dietas experimentais na fase de 01 a 07 dias.....	18
Tabela 2. Dietas experimentais na fase de 08 a 21 dias.....	19
Tabela 3. Dietas experimentais na fase de 22 a 35 dias.....	20
Tabela 4. Desempenho das aves alimentadas com dietas suplementadas com xilanase e probiótico.....	22
Tabela 5. Rendimentos de carcaça, cortes e miúdos de frangos alimentados com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico abatidos aos 36 dias de idade.....	25
Tabela 6. Viscosidade intestinal de frangos abatidos aos 36 dias de idade.....	27
Tabela 7. Dietas experimentais na fase inicial (10 a 21 dias de idade).....	34
Tabela 8. Dietas experimentais na fase crescimento (22 a 35 dias de idade).....	35
Tabela 9. Desempenho das aves alimentadas com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico.....	38
Tabela 10. Rendimentos de carcaça, cortes e miúdos de frangos alimentados com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico abatidos aos 36 dias de idade...	40
Tabela 11. Viscosidade de diferentes segmentos do intestino de frango.....	40
Tabela 12. Valores de pH em diferentes segmentos do intestino de frango.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do interior do galpão.....	17
Figura 2. Imagem das aves nas gaiolas.....	33
Figura 3. Frequência (%) dos filos encontrados no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	43
Figura 4. Frequência (%) das Classes encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	44
Figura 5. Frequência (%) das Ordens encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	45
Figura 6. Frequência (%) das Famílias encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	46
Figura 7. Frequência (%) dos Gêneros encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	47
Figura 8. Frequência (%) das Espécies encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.....	48

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ATP	Adenosina trifosfato
cP	Centipoise
FTU	Unidade de atividade de fitase
g	grama
kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
Mcal	Megacaloria
ml	Militro
mPa	Milipascal
NMP	Número mais provavl
PNA's	Polissacarídeos não amiláceos
s	segundos
t	tonelada
TGI	Trato gastrointestinal
UFC	Unidade formadora de colnia
η	viscosidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	02
2.1 Microbiota Intestinal em Frangos de Corte	02
2.2 Probiótico para Frangos de Corte.....	03
2.3 Fabricação de Probiótico.....	06
2.4. Xilanase.....	08
2.5 Carboidrases e Probióticos: Inter-Relações e Efeitos Aditivos	10
CAPÍTULO I	
XILANASE E PROBIÓTICO EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE.....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1 Local e Período Experimental.....	17
2.2 Tratamento e Dietas Experimentais.....	17
2.3 Medidas de Desempenho e Carcaça.....	20
2.4 Viscosidade Intestinal.....	21
2.5 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas.....	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4 CONCLUSÕES.....	28
CAPÍTULO II	
XILANASE E PROBIÓTICO PARA FRANGOS DE CORTE EM DIETAS CONTENDO FARELO DE TRIGO.....	29
Resumo.....	30
Abstract.....	31
1 INTRODUÇÃO.....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
2.1 Local e Período Experimental.....	33
2.2 Tratamento e Dietas Experimentais.....	34
2.3 Medidas de Desempenho e Carcaça.....	36
2.4 Viscosidade e pH Intestinal.....	36
2.5 Microbiota Ileal.....	36
2.6 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas.....	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4 CONCLUSÕES.....	51
4 CONCLUSÕES GERAIS.....	52
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 INTRODUÇÃO GERAL

As dietas de frangos de corte são em geral constituídas por ingredientes de origem vegetal, que podem apresentar elevada quantidade de polissacarídeos não amiláceos (PNA's), que são considerados fatores antinutricionais na nutrição de frangos. Dessa forma, o uso de enzimas, como as carboidrases, podem assegurar maiores disponibilidades de nutrientes de origem vegetal ao favorecer a lise das paredes celulares das células em substratos específicos, favorecendo a digestão de nutrientes que estavam indisponíveis nessas células.

Por sua vez os probióticos são constituídos por cepas de microrganismos viáveis, que agem como auxiliares na recomposição da microbiota do trato digestório dos animais, contribuindo para o seu equilíbrio. Diversos benefícios são observados com o uso desses microrganismos na nutrição de frangos de corte, como a manutenção da mucosa intestinal, aumento da atividade enzimática endógena e estímulo de respostas do sistema a imune.

Um dos principais benefícios dos probióticos está relacionado a modulação da microbiota intestinal dos frangos, uma vez, que estes microrganismos, devido a seus mecanismos de ação, podem alterar a composição microbiana de modo a favorecer o crescimento de bactérias benéficas e diminuir a incidência de bactérias patogênicas.

O uso conjunto de enzimas exógenas e probióticos representa uma excelente estratégia nutricional para minimizar os efeitos deletérios dos fatores antinutricionais oriundos dos carboidratos solúveis presentes na parede celular vegetal.

Portanto, considerando que as enzimas são uma importante ferramenta para minimizar os efeitos negativos dos PNA's e que os probióticos podem ser utilizados como equilibradores da microbiota intestinal em sinergia com a suplementação enzimática, se evidencia a importância de estudar os efeitos da suplementação de xilanase e probiótico em dietas para frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Microbiota Intestinal em Frangos de Corte

O sistema digestivo do frango tem se adaptado a mudanças no padrão de criação que coloca o trato intestinal a um ambiente metabólico intenso. Atualmente, um frango de corte de 30 dias, consome cerca de 10% do seu peso vivo por dia e o trato digestivo terá que lidar com mais de 7 g de ração por hora (SVIHUS, 2014).

Embriologicamente, o sistema digestivo tem origem na endoderme após invaginações na parte anterior e posterior, que se estende em direção à linha mediana do embrião até fundir-se, ocorrendo de modo simultâneo o dobramento na parte ventral da endoderme, acarretando na formação do trato que fica circundado pela mesoderme, processo que ocorre entre o segundo e o terceiro dia de incubação (HIRAMATSU e YASUGI, 2004). A endoderme dará origem ao revestimento epitelial do intestino e ductos das glândulas mucosas, enquanto que a mesoderme será a gênese da parede muscular e tecido conjuntivo (DIBNER e RICHARDS, 2004).

No início do desenvolvimento embrionário, o intestino situa-se no eixo ântero-posterior, dorsoventral, esquerdo-direito e, posteriormente, no eixo radial, em que o desenvolvimento morfológico específico e a diferenciação ao longo do eixo ântero-posterior darão origem à formação de três regiões: o intestino anterior, o intestino médio e o intestino posterior, as quais darão origem ao intestino do adulto: faringe, esôfago e estômago (para o intestino anterior), intestino delgado (para o intestino médio) e cólon (para o intestino posterior) (BARBARA et al., 2003).

Posteriormente, no desenvolvimento do intestino, as células derivadas da crista neural migram e colonizam o intestino para formar o sistema nervoso entérico (SNE), o qual surge das células da crista neural e colonizam todo o intestino para estabelecer sua inervação (YNTEMA e HAMMOND, 1954). Por volta de seis dias de incubação, o futuro intestino pode ser reconhecido por consistir em alça duodenal, intestino delgado e ceco, onde o intestino médio primitivo é aberto e está conectado à gema através do ducto da gema, de modo que as paredes do saco vitelínico e as paredes do intestino são contínuas (FREEMAN e VINCE, 1974).

Com o avançar dos demais dias da incubação, o desenvolvimento intestinal atinge uma taxa de peso maior que o peso corporal, sendo que nos três últimos dias de incubação, a relação entre o peso intestinal e o peso do corporal altera de 1% no dia 17 para 3,5% na eclosão (UNI et al., 2003). Todo esse processo pode sofrer alterações por ocorrências de alguns fatores, como a manipulação genética que pode levar a alterações na estrutura intestinal, apetite e imunidade (DUNNINGTON e SIEGEL, 1996).

Diante disso, o trato intestinal oferece condições para a ação enzimática que irá degradar as macro frações orgânicas em polímeros menores para a sua absorção, além de fornecer um microambiente favorável para a colonização de microrganismos com interações sistemáticas e sinérgicas, que auxiliam nos processos digestivos.

O conteúdo do intestino inclui a alimentação, secreções exócrinas do intestino, fígado e pâncreas e a microbiota intestinal, em que esta microbiota consiste em organismos que colonizaram o epitélio intestinal (DIBNER e RICHARDS, 2004). Esses microrganismos são distribuídos ao longo do TGI, mas devido às diferenças na morfologia, funcionalidade, interações metabólicas e microambiente, ocorre intensa heterogeneidade regional na composição da comunidade microbiana ao longo dos diferentes segmentos (YEOMAN, et al., 2012).

Entre os grupos colonizadores, podem ser encontrados diversos microrganismos como bactérias, archeas metanogênicas, fungos e vírus (QU et al., 2008). De acordo com ITO et al. (2004) a microbiota presente no TGI de frangos é composta por mais de 500 espécies com

valores aproximados de 10^{11} UFC/g de conteúdo intestinal.

A colonização ocorre imediatamente após a eclosão; tanto as microbiotas da casca quanto do ambiente formam o primeiro inóculo (APAJALAHTI, 2005). Geralmente, a parte superior do aparelho digestivo do sistema é preenchida por baixas concentrações de espécies tolerantes ao ácido, enquanto que o intestino grosso exibe uma maior variedade de organismos, incluindo coliformes, enterococos e anaeróbios (DIBNER e RICHARDS, 2004). A colonização segue nos dias seguinte, de modo que a diversidade da microbiota aumenta durante as primeiras semanas de vida (GERARD et al., 2008), de modo que Torok et al. (2009) demonstraram que, por volta dos 14 dias de idade, uma microbiota presumivelmente mais estável ainda não estava estabelecida.

Considerando essa diversidade, Wei et al. (2013) estabeleceram a presença de 915 unidades taxonômicas operacionais (UTOs) equivalentes a espécies (definidas como tendo uma distância filogenética de 3%), classificadas em 13 filos, dos quais o *Firmicutes* (70%), *Bacteroidetes* (12,3%) e *Proteobacteria* (9,3%) representaram mais de 90% de todas as sequências, sendo que ao todo, foram descritos 117 gêneros, dentre os quais *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* e *Bacteroides*.

A composição das comunidades bacterianas é influenciada principalmente pela idade, dieta e localização intestinal, além de genética do hospedeiro, ambiente de criação, estresse, estado imunológico e interações entre as comunidades (WEI et al., 2013). Por exemplo, no papo, ocorre predominância de bactérias anaeróbias facultativas gram-positivas, especialmente *Lactobacillus spp.* (MORISHITA et al. 1971), enquanto que na moela, predominam lactobacilos juntamente com enterococos, enterobactérias negativas à lactose (BJERRUM et al., 2005).

Em relação ao intestino, a primeira porção, chamada de duodeno, apresenta uma baixa densidade bacteriana devido ao curto tempo de trânsito, ao baixo pH e à diluição por secreções pancreáticas e biliares, de modo que na parte distal do intestino delgado, as enzimas digestivas são reduzidas e os ácidos biliares são desconjugados, tornando o ambiente mais favorável para o crescimento bacteriano (APAJALAHTI et al., 2004).

O íleo, porção mais distal do intestino delgado, apresenta condições mais favoráveis ao desenvolvimento microbiano, em que os principais gêneros encontrados são *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* e *Clostridiaceae* (LU et al. 2003). Os mesmos autores relatam uma composição semelhante para o ceco, como maiores notificações de *Bacterioides* e *Bifidobacterium*. Em face da grande variedade de microrganismos que podem colonizar o TGI de frangos e que a diversidade implica em processos metabólicos diversos, interações podem ocorrer entre o frango e a microbiota, sendo que de acordo com Clavijo e Floréz (2018), as principais são: 1) troca de nutrientes, 2) modulação do sistema imunológico, 3) fisiologia do sistema digestivo e 4) exclusão de patógenos.

A microbiota intestinal pode afetar a morfologia das vilosidades e criptas intestinais, digestão e absorção de nutrientes, o desenvolvimento do sistema imunológico, a produção de ácidos graxos de cadeia curta ricos em energia, síntese de vitaminas e proliferação de bactérias patogênicas (OAKLEY et al., 2014).

É importante ressaltar que o desenvolvimento inicial da microbiota intestinal exerce um papel importante no desempenho produtivo, na saúde geral e na resistência contra infecções microbianas (KERS et al., 2018). Tão logo, o contato inicial com a colonização dos microrganismos que irão compor a microbiota autóctone do TGI dos frangos de corte é fundamental para a sucessão da colonização e pela resposta do hospedeiro.

2.2 Probiótico para Frangos de Corte

De acordo com Jin et al. (1997) o termo "probiótico" foi introduzido pela primeira vez

por Lilly e Stillwell em 1965 para descrever promotores de crescimento produzidos por microrganismos, em que "Probiótico" é derivado do grego, que significa "pró vida". Esse termo sofreu muitas alterações ao longo dos avanços das pesquisas que buscavam compreender o mecanismo correto.

Posteriormente Fuller (1989) trouxe um conceito mais moderno, o qual afirma ser um alimento suplementar constituído de microrganismos vivos que são capazes de beneficiar o animal hospedeiro pelo equilíbrio da microbiota intestinal, a qual deve permanecer estável e viável nas diversas condições.

Atualmente, a Instrução Normativa nº 44 de 15/12/2015 (BRASIL, 2015) versa que probióticos são cepas de microrganismos vivos (viáveis), que agem como auxiliares na recomposição da microbiota do trato digestório dos animais, contribuindo para o seu equilíbrio.

Embora diferentes probióticos possam ser desenvolvidos para diferentes propósitos, uma cepa probiótica para frangos é desenvolvida principalmente para melhorar o desempenho, a saúde e a produtividade, que geralmente são alcançados afetando populações microbianas e morfologia intestinal (NAYEBPOR et al., 2007).

Os mecanismos de ação dos probióticos ainda não são muito bem elucidados, devido ao seu grande dinamismo com o lúmen intestinal. Entretanto, quatro possíveis mecanismos são relatados na literatura, dentre eles a competição por sítios de ligação, em que os probióticos aderem-se a parede do epitélio intestinal, dificultando a aderência de microrganismos patogênicos (ROTH e KIRCHGESSNER, 1998). De acordo com Ferreira et al. (2002), outro possível modo de ação está relacionado à produção de metabólitos, além de antagonismos devido a produção de bacteriocinas pelas cepas probióticas.

Os parâmetros intestinais são fundamentais na compreensão dos mecanismos associados à ação do probiótico, no qual é investigado principalmente seus efeitos nas alturas de vilosidades, profundidade de cripta e manutenção do microbioma. De acordo com Manafi et al. (2018) o aumento da altura das vilosidades e da razão vilosidade/profundidade em decorrência da suplementação com probiótico é potencialmente responsável pelo ganho de peso e eficiência a partir de maior absorção de alimentos. Maior altura das vilosidades jejunais em frangos de corte com 21 e 28 dias de idade alimentados com probiótico *E. faecium* foi demonstrado por Cao et al. (2013).

Vários autores discutiram os mecanismos pelos quais os probióticos podem auxiliar na manutenção e crescimento das vilosidades intestinais. Um deles, pode ser devido à maior formação de ácidos orgânicos de cadeia curta, assim, aumentam a acidez no intestino se reduz o crescimento de muitas bactérias intestinais patogênicas, reduzindo a colonização intestinal e os processos infecciosos, e em última análise, diminuem processos inflamatórios na mucosa intestinal (LODDI et al., 2004).

Em relação aos ácidos graxos de cadeia curta e aminas biogênicas, Maiorka et al. (2002) relataram que os mesmos são auxiliares no processo de desenvolvimento da mucosa intestinal a partir do aumento do processo mitótico, o que leva ao aumento dos vilos. Inatomi e Otomaru (2017) observaram que aves alimentadas com dietas contendo *Bacillus amyloliquefaciens* apresentaram pH do conteúdo do jejuno e íleo menor que as aves alimentadas com dietas sem probiótico. Entretanto, Souza et al. (2018) identificaram que os probióticos a base de *Bacillus* não causaram efeitos na altura e largura das vilosidades e na relação vilo: cripta, porém, as aves que receberam dietas com probióticos tiveram menor profundidade de cripta no duodeno.

Em outra abordagem, Shah et al. (2019) destacaram que a suplementação dietética de Zn e probiótico isolado ou em combinação, aumentou vilosidades no duodeno quando comparado ao grupo controle. Dentre os diversos mecanismos, é possível observar que o Zn é conhecido por aumentar o número de bactérias produtoras de ácido láctico (MUDROŇOVÁ et al., 2006).

O uso de probióticos pode reverter a estrutura prejudicada da vilosidade-cripta de aves

estressadas pelo calor, a partir, do controle do nível de corticosterona (LEI et al., 2013). Além disso, Sun et al. (2016) observaram que após a administração de *Saccharomyces boulardii*, os frangos mostraram atividades de adenosina trifosfatase, β -glutamyl-transpeptidase, lipase e tripsina maior quando comparados com aqueles do tratamento controle sem adição de probiótico.

A influência de probióticos na melhoria da mucosa intestinal pode ser observada desde a formação desse tecido, a partir da inoculação do ovo, pois de acordo com Majidi-Mosleh et al. (2017) a injeção de bactérias probióticas, especialmente *Bacillus subtilis* no líquido amniótico, tem um efeito benéfico na expressão do gene MUC2 ileal, responsável pela produção de mucina intestinal, e na população bacteriana durante a primeira semana pós-eclosão, mas não tem efeito sobre o desempenho e resposta imune em frangos de corte.

Essas alterações podem ter origem histológicas, em que Gadde et al. (2017) observaram que a expressão dos genes da proteína de junção intestinal JAM2 e de zonas de oclusão (ZO1) foi significativamente maior nos grupos PB2 (*Bacillus subtilis*, cepa 1104 + cepa 747) e PB3 (*B. subtilis* cepa 1781 + cepa 747), enquanto ocludina foi encontrada elevada nos grupos PB1 (*B. subtilis* cepa 1781) e PB2 em comparação com o grupo controle, entretanto, nem a suplementação com probiótico nem com antibiótico alteraram a expressão de MUC2 no íleo aos 14 dias de idade, sendo que o aumento da expressão de proteína de adesão em frangos alimentados com dietas suplementadas com probiótico pode-se traduzir em aumento da função da barreira intestinal.

De modo semelhante, Huang et al. (2018), descreveram que a suplementação dietética de *Enterococcus faecium* modulou a secreção de citocinas, aumentando a expressão de proteínas de adesão, mantendo a barreira intestinal contra a infecção por *Escherichia coli* O78, cujos efeitos podem estar parcialmente associados aos seus mecanismos sobre a integridade intestinal e a imunidade humoral. Além de regular a microbiota intestinal e melhorar o metabolismo lipídico e energético, os probióticos podem aumentar a imunidade e, assim, beneficiar o hospedeiro (ZHOU et al., 2016).

Os probióticos podem atravessar a barreira intestinal através das células epiteliais, produzindo resposta do sistema imunológico e modulando a resposta inata e adaptativa (GALDEANO e PERDIGÓN, 2004). Corroborando com essa informação, Prado-Rebolledo et al. (2017) observaram que a infecção precoce por *Salmonella enteritidis* pode aumentar a permeabilidade intestinal, mas os efeitos adversos podem ser evitados pela administração do probiótico à base de bactérias ácido lácticas (FloraMax-B11®).

O uso de probiótico também apresenta efeitos benéficos nos parâmetros hematológicos. Desse modo, Wang et al. (2018) observaram que aos 21 dias de idade, as aves que se alimentaram com dieta com tento suplementação com probiótico microencapsulado, apresentaram maior nível de IgA do que aves nos grupos controle e recebendo antibiótico os quais concluíram que o produto microecológico composto de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* e β -manose teve benefícios no ganho de peso, nos níveis séricos de IgA, IgM, IL-2 e IL-6 e *Lactobacillus cecal* em frangos de corte.

Já em relação a microbiota intestinal, avaliando os efeitos de *Bacillus subtilis* CSL2 na composição e diversidade funcional de microrganismos fecais de frangos de corte desafiados com *Salmonella gallinarum*, Oh et al. (2017) concluíram que a cepa probiótica protegeu contra a infecção por *Salmonella*, e a suplementação alterou significativamente a diversidade e composição microbiana, aumentando a abundância de microrganismos benéficos. Por outro lado, frangos de corte infectados com *S. Gallinarum* tiveram o crescimento de bactérias potencialmente nocivas, como *Turicibacter*, *Enterobacteriaceae* e *Neisseriaceae*.

Muitas dessas alterações podem ser mediadas pela exclusão competitiva, produção de bacteriocinas específicas, redução do pH através produção de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta e pela competição por nutrientes (FOOKS e GIBSON, 2002).

Essa modulação ficou bem elucidada por Stef et al. (2017), os quais ao estudarem a influência do nível adicional de probióticos na microbiota intestinal em frangos de corte, concluíram que a administração do aditivo influencia a estrutura da microbiota em todos os gêneros caracterizados.

Estudando a incorporação de *Lactobacillus plantarum* e zeólitas em rações para frangos, Moretti et al. (2018) mostraram que o uso desses aditivos pode reduzir os níveis de aflatoxina B1 (AFB₁). Nesse contexto, é notório os benefícios do uso de probióticos na modulação microbioma. Tão logo, deve-se considerar que a administração de microrganismos em dietas para frangos de corte acarretará em efeitos que modularão não somente a composição microbiana, mas todo o ambiente intestinal e desse modo, ter influência em outros sistemas do animal.

2.3 Fabricação de Probiótico

Os probióticos utilizados nos alimentos e na terapêutica são principalmente selecionados e caracterizados com base em suas propriedades *in vitro* (COUDEYRAS e FORESTIER, 2010).

A triagem de probióticos baseia-se na estabilidade genotípica particular e características fenotípicas, como tolerância ao estresse gastrointestinal, adesão ao muco intestinal ou células epiteliais e exclusão competitiva de patógenos-alvo, incluindo a capacidade de produzir substâncias antimicrobianas (DING e SHAH, 2009). De modo geral, para projetar produtos probióticos, a principal exigência tecnológica é a estabilidade das bactérias durante a produção e durante o período de validade (HILL et al., 2014). A viabilidade e o número de microrganismos inoculados são vitais, já que o Nível Mínimo Sugerido (*SML* em inglês) de bactérias para produzir efeitos benéficos é de 10⁶ UFC/ml (VINDEROLA et al., 2000).

No processo de fabricação do probiótico as cepas podem sofrer variações que diferenciarão a sua atividade, fato que foi observado por Grześkowiak et al. (2010), que mostraram que os isolados do probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG subcultivado de diferentes produtos se comportaram divergente em relação à cepa original em sua capacidade de prejudicar a adesão do patógeno às células epiteliais e influenciar a exclusão por inibição e competição.

Analisando a influência dos processos de fabricação nas propriedades *in vitro* da cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35, Niveliez et al. (2012) observaram que o processo de fabricação influencia as propriedades da cepa probiótica e, portanto, deve ser adaptado de acordo com o microrganismo e a indicação terapêutica.

O ponto inicial na fabricação de um probiótico é a escolha do microrganismo que será utilizado. De acordo com Kosin e Rakshit (2006) os pontos que devem ser levados em consideração na escolha da cepa probiótica são: biossegurança; resistência em testes *in vitro/in vivo*; ser capaz de colonizar o intestino; possuir atividade antimicrobiana/antagônicos a agentes patógenos; estimular o sistema imune; possuir viabilidade após o processamento.

Analisando o desenvolvimento de um meio de cultivo econômico para a produção de probióticos como aditivos zootécnicos, Marcon (2010) concluiu que os meios de cultura a base de soro de leite adicionados de fonte de nitrogênio, como a combinação de proteose poptona, extrato de carne e extrato de levedura mostraram-se eficazes para o crescimento de *lactobacillus acidophilus* La04 e *Bifidobacterium lactis* Bb12. Esse passo é tão fundamental que Castele et al. (2006) concluíram que a escolha do meio deve ser considerada de forma individual, pois é pouco provável que um único meio seja adequado para uma variedade de aplicações.

Quanto a secagem, que será discutido a seguir nas técnicas de microencapsulamento, é importante para a finalização do produto. A secagem por pulverização, por exemplo, é usada para a preservação de culturas probióticas potenciais, grande parte da sua atividade é

tipicamente perdida após algumas semanas de armazenamento à temperatura ambiente, isso está associado ao estresse que é induzido por mudanças de temperatura, mudanças de fase e secagem, uma combinação que tende a danificar as membranas celulares e as proteínas associadas (ANAL e SING et al., 2007).

A microencapsulação é o processo pelo qual pequenas partículas ou gotículas são envolvidas por um revestimento para produzir cápsulas na faixa de micrômetro a milímetro, conhecidas como microcápsulas (BAFONNI et al., 2012). O encapsulamento de células microbianas envolve a captura de células dentro de uma matriz de material polimérico para produzir as cápsulas, que são permeáveis a nutrientes e metabólitos para manter a viabilidade celular dentro delas, e oferece proteção contra estresse, tanto mecânico quanto ambiental, as quais, dependendo do tipo de aplicação, as células microbianas podem ser encapsuladas para fins de isolamento, proteção ou liberação controlada, sendo esta uma tecnologia muito usada na indústria alimentícia e farmacêutica (SÁNCHEZ et al., 2012), já que, segundo Del Piano et al. (2010) a microencapsulação permite a liberação controlada no intestino após a barreira gástrica.

No processo industrial, de acordo com Poncelet e Dreffier (2007) a tecnologia é geralmente realizada em três etapas. O primeiro passo consiste em incorporar o componente bioativo em uma matriz que pode ser líquida ou sólida. No caso de o núcleo ser líquido, a incorporação será uma dissolução ou uma dispersão na matriz, enquanto que se o núcleo for sólido, a incorporação será uma aglomeração ou uma adsorção. Para o segundo passo, a matriz líquida é dispersa enquanto a solução é pulverizada na matriz sólida. O último passo consiste na estabilização por um processo químico (polimerização), físico-químico (gelificação) ou físico (evaporação, solidificação, coalescência).

De acordo com Soto et al. (2011) esta tecnologia de imobilização é aplicada a bactérias adicionadas a alimentos para seres humanos, porém apresenta o desafio de produzir um tamanho pequeno o suficiente para ser imperceptível para o paladar, essa desvantagem não é notada para animais, uma vez que diversas pesquisas têm usado essa tecnologia para produção de probióticos para nutrição animal.

Avaliando o efeito do *Enterococcus faecalis* microencapsulado CG1.0007 no desempenho, atividade antioxidante e microbiota intestinal em frangos de corte, Han et al. (2013) concluíram que *Enterococos* microencapsulados podem efetivamente melhorar o desempenho e a saúde de frangos, ademais, pode melhorar a diversidade e composição de microrganismos intestinais benéficos.

Para Rodklongtan et al. (2014), estudando a melhoria da sobrevivência de *Lactobacillus reuteri* KUB - AC5 no trato gastrointestinal de frangos de corte por microencapsulação com redes de polímeros semi-interpenetrantes de alginato-quitosana, observaram que tanto *in vitro* quanto *in vivo* a microcápsula pode proteger a célula da morte induzida por ácido no trato digestivo superior de frangos e distribuir as células em quantidade suficiente no intestino. Laurenti (2011), estudando materiais encapsulantes naturais para obtenção de cápsulas de *S. cerevisiae* para incorporação em ração extrusada de frangos de corte, concluíram que os materiais para o encapsulamento que eram compostos por mucilagem ocasionaram maior retenção do microrganismo no interior da esfera quando foi comparado com gomas, entretanto os materiais não conferiram proteção as células no processo de extrusão.

Culturas probióticas para aplicações alimentícias são frequentemente fornecidas em forma congelada ou seca, posteriormente liofilizadas ou secas por pulverização (HOLZAPFEL et al., 2001). Durante a liofilização, a água congelada é removida por sublimação, reduzindo assim os danos às estruturas biológicas (CAPELA et al., 2006).

Entretanto algumas perdas podem ocorrer no processo, pois a maioria das bactérias probióticas não sobrevivem bem durante os extremos de temperatura e choque osmótico aos quais são expostas durante o processo de secagem por pulverização (SELMER-OLSEN et al.,

1999). Apesar disso, tem-se observado que certas cepas de probióticos são capazes de sobreviver ao processo de liofilização (RYBKA e KAILASAPATHY, 1995).

As vantagens da secagem por atomização são a rapidez e o custo relativamente baixo do procedimento, a técnica é altamente reprodutível e é facilmente adequada para aplicações industriais, entretanto, uma desvantagem da secagem por esse método é o problema da alta temperatura, que muitas vezes não é compatível com a sobrevivência das bactérias (BURGAIN et al., 2011).

Para minimizar esses efeitos, durante o processamento, são utilizados aditivos termoprotetores. Estes incluem uma variedade de compostos químicos simples e complexos, incluindo compostos de penetração rápida (por exemplo, álcoois monovalentes, amidas e sulfóxidos), compostos que penetram mais lentamente (como glicerol, um composto triol) e compostos não penetrantes ou não permeáveis (por exemplo, polissacarídeos, polialcoóis, álcoois de açúcar, proteínas e polietilenoglicol) (HUBALEK 2003).

De acordo com Burgain et al. (2011), prepara-se uma solução contendo as células probióticas e uma matriz polimérica dissolvida, a solução é pressionada e depois atomizada para formar uma “névoa” na câmara de secagem. O gás quente também é liberado na câmara de secagem, o qual permite a evaporação do solvente. As cápsulas são então transportadas para um separador de ciclone para recuperação.

A extrusão é a abordagem mais antiga e mais comum para fazer cápsulas com hidrocolóides (KING, 1995). De acordo com Krasaekoopt et al. (2003) a técnica envolve a suspensão de células através de uma agulha de seringa na forma de gotículas para a queda livre em uma solução, o tamanho e a forma dos grânulos dependem do diâmetro da agulha e da distância da queda livre, respectivamente. Ainda, de acordo com o mesmo autor, este método é o mais popular devido à sua facilidade, simplicidade, baixo custo e condições suaves de formulação, garantindo alta retenção de viabilidade celular.

Quanto a emulsão, nesse processo as microcápsulas são formadas pela formação de uma emulsão de água e óleo, usualmente estabilizada por agentes tensão-ativos, tais como o Tween 80, com o alginato a ser dissolvido na fase aquosa (PONCELET et al., 1992) e após essa etapa, a emulsão é então quebrada pela adição de CaCl_2 e as microcápsulas são recolhidas por centrifugação (NAZZARO et al., 2012).

A grande vantagem da utilização de emulsão é a facilidade de ser reproduzida em larga escala na indústria, obtendo alto grau de emulsificação (CHEN e CHEN, 2007). Além dos emulsificadores, nessa técnica são usados materiais de apoio, que auxiliam no processo de gelificação e são constantemente estudados, já que a eficácia destes produtos pode representar economia na técnica associada a vantagens no processo de finalização.

Dentre os materiais de suporte usados, tem se observados alginato 3% (SHEU e MARSHALL, 1991) e quitosana 4% (GROBOILLOT et al., 1993). Desse modo, uma das desvantagens dessa técnica pode ser o aumento nos custos de produção já que há necessidade do uso de óleos e outros materiais emulsificantes e estabilizantes (GBASSI e VANDAMME, 2012).

2.4 Xilanase

A célula vegetal é constituída de uma parede celular primária e secundária, em que de acordo com a constituição desta parede podem ser agrupados diversos polímeros, como polissacarídeos pécnicos, celulose, hemicelulose e proteínas (WAKABAYASHI, 2000).

A hemicelulose inclui xilano, manano, galactano e arabinano como principais heteropolímeros, de modo que os xilanos contém D-xilose como sua unidade monomérica e traços de L-arabinose (BASTAWDE, 1992). A hemicelulose não apenas é mais comum, mas também o principal polissacarídeo não celulósico da parede celular de angiospermas, gramíneas

e cereais, onde ocorre em muitas composições e estruturas diferentes (OLIVEIRA et al., 2010).

O componente xilano é composto por resíduos de β -xilopirranose, com ligações β 1-4, sendo que os produtos da hidrólise da ação enzimática das xilanases são constituídos de monômeros D-xilose e xilo-oligossacarídeos de diversos tamanhos (HECK, 2006), de modo que pode ocorrer variação nas estruturas de xilano entre espécie vegetal e até mesmo entre tecidos diferentes na mesma espécie, nas dicotiledôneas, por exemplo, o xilano é a hemicelulose predominante nas paredes celulares secundárias, mas pouco é encontrado nas paredes celulares primárias (RENNIE e SCHELLER, 2014).

Esta grande heterogeneidade dos complexos xilanos acarreta em efeitos deletérios na nutrição de frangos, uma vez que estes animais não apresentam complexos enzimáticos que hidrolisem estes compostos glicídicos, sendo necessário o uso de enzimas exógenas para auxiliar na mitigação dos efeitos negativos provocados pela composição destas substâncias.

As enzimas são específicas quanto ao substrato, pois possuem uma fenda denominada sítio ativo, no qual esse sítio contém aminoácidos com cadeias laterais que criam uma espécie de ligação específica com o substrato que está sob ação enzimática, que ao se ligarem, formam o complexo enzima-substrato (CHAMPE et al., 2006). Dessa forma, é de fundamental importância o conhecimento da enzima e do substrato para que sejam observados os efeitos da reação biológica e a obtenção de resultados oriundos dessa ligação (ARAÚJO et al., 2007).

O uso de enzimas exógenas na avicultura tem se mostrado uma excelente alternativa para a diminuição dos custos de produção, a partir da melhoria da eficiência de utilização dos alimentos tradicionalmente usados nas formulações de rações ou para ingredientes alternativos, como as farinhas de carne e ossos (MATIAS et al., 2015). De acordo com Bedford (2000) as enzimas exógenas utilizadas para frangos podem ser divididas em três grupos: enzimas para alimentos com baixa viscosidade (milho e soja), enzimas para alimentos com alta viscosidade (trigo e centeio) e enzimas capazes de degradar o ácido fítico.

A utilização na nutrição de frangos objetiva melhorar a digestibilidade dos nutrientes aumentando a disponibilidade destes para a digestão e conseqüentemente a absorção, em virtude da redução de fatores antinutricionais, como os PNA's (BARBOSA et al., 2012), além de terem sido consideradas como alternativas para redução do uso de antibióticos na alimentação dos frangos de corte (CHENG, 2014).

A Instrução Normativa nº 13 de 30/11/2004 (BRASIL, 2004) que aprova o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados a alimentação animal, versa que as enzimas exógenas são classificadas como aditivos zootécnicos pertencentes ao grupo funcional digestivo.

A xilanase é uma enzima do tipo glicosidase que atua na hidrólise de ligações β 1-4 das xilanas vegetal, atuando no rompimento das fibras possibilitando maior capacidade de ação de amilases e proteases, sendo uma importante característica desta enzima a sua atuação em ampla faixa de pH, que pode variar de 3,5 a 6,5, possibilitando sua ação ao longo de todo o intestino delgado (BARBOSA et al., 2014).

As xilanases podem ser obtidas de uma grande variedade de microorganismos, como bactérias, fungos, algas e protozoários (HALTRICH et al., 1996). Para a hidrólise das heterogêneas xilanas, são necessárias muitas enzimas xilanolíticas, a qual recebe um nome de sistema enzimático xilanolítico, de modo que a lise não é ao acaso, sendo dependente da natureza do substrato (LI et al., 2000).

Esse mecanismo de ação pode ser compreendido, de acordo com Dey e Roy (2018) da seguinte forma: após a ligação ao substrato, a reação começa com a participação ativa do nucleófilo que é geralmente um resíduo de ácido glutâmico presente na cadeia B6, em que este ataca o C-1 da molécula de xilana para deslocar o primeiro resíduo xilose da extremidade redutora e formar uma ligação para estabilizar o intermediário, momento em que o catalisador ácido-base, atua protonando o resíduo, posteriormente a molécula de água ataca o C-1 para

deslocar o nucleófilo, liberando assim o segundo produto e fornecendo também um próton ao ácido-base catalisador.

A quebra dos polímeros de xilanas por xilanase acarreta em vários produtos, se diferenciando quantitativamente pela xilose, xilobioses e xilotrioses, bem como pela composição dos açúcares substituídos (BIELY, 1985). Isso ocorre, dentre outros fatores, pelas diferenças no local de ação do substrato devido a diferentes grupos glicídicos.

Nessa configuração, diversas estruturas possíveis foram sendo geradas, de modo que no que tange o mecanismo, o domínio catalítico exibe uma arquitetura β -gelatina, composta por duas folhas β antiparalelas denominadas A e B, esculpindo uma fenda longa e profunda (PÄES et al., 2012).

2.5 Carboidrases e Probióticos: Inter-Relações e Efeitos Aditivos

Efeitos benéficos do uso de xilanase ou probiótico no desempenho animal foram bastante mencionados na literatura, sendo inclusive, recomendados para substituição a melhoradores de desempenho animal. Entretanto, o uso conjugado deles ainda é pouco mencionado, cujos resultados algumas vezes são contraditórios.

Por exemplo, Vandeplass et al. (2009) concluíram existir um potencial efeito sinérgico entre cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* e xilanase em dietas à base de trigo para frangos de corte, sendo observado melhoria na conversão alimentar e redução das concentrações de *Salmonella typhimurium* nas excretas, quando os aditivos foram conjugados ao invés de suplementados isoladamente.

Contrariando esses resultados, Praes (2013) estudando probiótico e enzimas em dietas de frangos de corte, observaram que a associação desses aditivos não melhorou o desempenho das aves em nenhuma das fases estudadas, sendo que os mesmos justificam que possivelmente ocorreu um antagonismo entre eles, em que a ação do probiótico poderia ter acarretado na redução da disponibilidade dos nutrientes que foram disponibilizados pelas enzimas à microbiota intestinal, tão logo, o uso isolado de um desse aditivos pode manter o desempenho das aves.

Já Gewehr et al. (2014) concluíram que a inclusão de um complexo multienzimático e probiótico, cuja formulação atende às exigências nutricionais dos frangos, não influencia no desempenho, já quando há redução de 3% de energia metabolizável e proteína bruta da dieta, a associação dos aditivos aumenta o consumo de ração.

A manutenção da funcionalidade gastrointestinal consiste no envolvimento orgânico da dieta, da mucosa intestinal e dos microrganismos presentes no trato. A ação de xilanase na mucosa intestinal de frango foi bastante estudada, verificando integridade, altura e profundidade de criptas, sendo encontrados efeitos favoráveis para a manutenção intestinal em frangos alimentados com dietas suplementadas com carboidrases. Sieo et al. (2005), observaram diferença significativa nas vilosidades do jejuno de frangos alimentados com a dieta suplementada com cepas de *Lactobacillus* produtores de β -glucanase.

Nesse aspecto, a fim de se postular possíveis mecanismos sinérgicos entre carboidrases e probiótico na funcionalidade intestinal, é necessário considerar a mucosa intestinal com relação direta a microbiota local, já que esta possui inter-relação, de modo que modulações nesta última podem afetar diretamente a manutenção daquela.

Naturalmente, a adição de probiótico atua na modulação da microbiota intestinal. Em relação a suplementação enzimática, a adição de xilanase em dietas para frangos pode acarretar em um efeito prebiótico, uma vez que o arabinoxilanos degradados são passíveis de fermentação pela microbiota cecal, o que resultaria em mudanças dessa microbiota e resistência transepitelial (RAVN et al., 2018). Lee et al. (2017) observaram uma diminuição na proporção de ácidos graxos voláteis ramificados no ceco, o que sugere a inibição da fermentação proteica,

além de mudanças no perfil do substrato disponível para fermentação, o que pode ter incentivado a colonização de *Bifidobacterium spp.* e maior produção de ácido acético e butírico.

Esses microrganismos, possuem metabólitos associados a ácidos biliares, como o colato, taurocolato, hiodeoxicolato, glicodeoxilcolato entre outros, que estão envolvidos na manutenção da função da barreira intestinal (RIDLON et al., 2006). Além disso, de acordo com Maiorka et al. (2002) o produto da microbiota intestinal, como ácidos graxos de cadeia curta e as aminas biogênicas, podem auxiliar no desenvolvimento da mucosa intestinal a partir do aumento do processo mitótico acarretando no aumento dos vilos.

Partindo desses princípios, a ação probiótica conjugada com ação de carboidrases exógenas na nutrição de frangos, acarretaria na modulação da microbiota intestinal, de modo que seus metabólitos estariam auxiliando na manutenção da mucosa do intestino. Por exemplo, Santos et al. (2012) avaliando o efeito dos aditivos probiótico (*Enterococcus faecium*) e um complexo enzimático (xilanase, amilase e β -glucanase), concluíram que tais aditivos são capazes de alterar a microbiota do lúmen íleal, entretanto, o probiótico estudado não se mostrou eficiente em colonizar o trato ileal desses animais.

Nesse aspecto, Praes (2013) observou que aos 42 dias de idade, as aves alimentadas com dietas suplementadas com enzimas + probiótico acarretaram em maior desenvolvimento de vilosidades em todos os segmentos do intestino delgado. De maneira geral, bactérias com ação probiótica podem proporcionar melhorias na mucosa intestinal, alterações na permeabilidade e o aumento das junções epiteliais (LUEGAS et al., 2015).

Por fim, a própria acidificação do meio, como resultado do processo fermentativo das bactérias intestinais, age como uma barreira a microrganismo patogênicos, uma vez que ácidos graxos de cadeia curta podem diminuir o pH do trato intestinal (SAMUEL et al., 2008).

Para a discussão dos efeitos de carboidrases e probióticos na metabolizabilidade da dieta, é necessário compreender alguns pontos. Primeiramente, a quantidade de substâncias químicas que são encontradas nos alimentos é esplendorosa, sendo que se estima que mais de 8.000 são nutrientes (WISHART, 2008). Tais compostos, alteram quimicamente a digesta e de acordo com Apajalahti (2005) esta composição determina amplamente a distribuição da microbiota no trato digestório. De acordo com Pack et al. (1998) o uso de carboidrases pode melhorar a digestibilidade das dietas da seguinte forma: quebrando a parede celular e permitindo o ataque enzimático aos nutrientes encapsulados; inativam os fatores antinutricionais encontrados nos cereais e nas fontes de proteína vegetal.

Outro ponto importante é a viscosidade, que é dependente de vários fatores, incluindo o tamanho da molécula, se é ramificado ou linear, concentração, em que a suplementação enzimática reduz o tamanho dessa estrutura e, assim, auxilia na redução da viscosidade (MOFTAKHARZADEH et al., 2017). Ainda, a diminuição da viscosidade, favorece o acesso das enzimas endógenas aos nutrientes, uma vez que tanto a taxa de passagem e a acessibilidade de nutrientes pelas enzimas digestivas podem depender da viscosidade intestinal (BOGUHN e RODEHUTSCORD, 2010).

Quanto ao probiótico, o fornecimento desse aditivo em rações para frangos de corte também pode levar a melhorias na digestibilidade, pois de acordo com Leedle (2000), algumas espécies de microrganismos secretam amilase, protease e lipase, que podem favorecer a digestão do alimento.

A xilanase e probióticos administrados isoladamente em dietas para frangos de corte tem mostrados efeito significativo na digestibilidade das dietas ou aumento na disponibilidade energética (PELICANO et al., 2003; VALADARES et al., 2016), entretanto na literatura são encontrados pouquíssimos trabalhos que observaram efeitos conjuntos desses aditivos, o que não deixa claro um efeito sinérgico. Em seu estudo, Santos et al. (2012) concluíram que a adição de enzimas isoladas ou em combinação com probiótico não foi capaz de expressar aumento dos parâmetros de metabolizabilidade das dietas.

Para tanto, mais trabalhos são necessários, cujo objetivo seja verificar se as carboidrases e probióticos exercem efeitos sinérgicos na metabozabilidade das dietas. Nesse aspecto, deve-se considerar a atividade enzimática endógena, uma vez que a possibilidade de secreção enzimática por microrganismos probióticos pode acarretar em um efeito negativo na secreção de enzimas dos enterócitos e pâncreas.

Estudos recentes vêm mostrando os efeitos benéficos da suplementação de carboidrases no meio ambiente, Lan et al. (2017) verificaram que emissões de gases NH₃ (amônia) e H₂S (ácido sulfúrico) foram menores em suínos alimentados com carboidrases. De modo semelhante, Wen-Chao e Kim (2017) concluíram que a suplementação com xilanase reduziu as concentrações de NH₃ e R.SH (mercaptano total) nas excretas, o que pode reduzir as emissões de odor. Dessa forma, a inclusão de xilanase pode ser um complemento útil para moderar o impacto odorífero de esterco (O'SHEA et al., 2014). Além disso, como as carboidrases afetam a hidrofília da digesta, sua ação pode reduzir a quantidade de água excretada, levando a cama a apresentar menor umidade.

A adição de enzimas exógenas e sua combinação com probiótico baseado em *Bacillus spp.* não alterou a quantidade de resíduos produzidos e ofereceu benefícios ambientais, reduzindo a carga microbiana e as quantidades de fósforo e fibras insolúveis na cama (PRAES et al., 2016). De forma semelhante, Praes et al. (2016) estudando os efeitos de dietas suplementadas com *blend* enzimático (fitase, protease e xilanase) e probiótico (contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*) observaram que houve maior redução no número de coliformes totais e de coliformes termotolerantes na cama de frangos de corte com dietas contendo enzimas (0,68 x 10⁷ NMP/100mL) e enzimas combinadas com probiótico (0,14 x 10⁷ NMP/100mL), sendo que tais resultados evidenciam que os aditivos avaliados melhoraram a qualidade higiênica da cama.

Com o objetivo de avaliar a influência de aditivos enzimáticos e probióticos na dieta de frangos de corte sobre a biodigestão anaeróbia da cama em digestores contínuos, Pras et al. (2016), concluíram que a suplementação com probiótico (*Bacillus spp.*) e probiótico + enzimas (carboidrases) em dietas para frangos de corte, inibiram a produção de biogás e metano.

CAPÍTULO I

XILANASE E PROBIÓTICO EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi estudar a suplementação de xilanase e probiótico em dietas para frangos corte. O experimento foi realizado no Instituto Federal do Amazonas em Parintins/AM, em galpão experimental, sendo conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, com seis repetições de sete aves cada. Para a composição dos tratamentos foram usados os produtos comerciais Colostrum Mix para a fonte do probiótico e a Smyzime Xylanase para a fonte enzimática, sendo realizada valorização da enzima em 150 kcal/kg de ração. Os tratamentos consistiram em: dieta referência; dieta referência com adição de probiótico; dieta basal com adição de xilanase e dieta basal com adição de xilanase e probiótico. A dieta referência atendia todas as exigências nutricionais dos frangos, enquanto a dieta basal foi formulada com menos 150 kcal de energia metabolizável por quilo de ração. Foram avaliados desempenho, características de carcaça e viscosidade intestinal. Na fase inicial, o uso de xilanase e probiótico, fornecidos isoladamente ou não, proporcionaram maiores ganhos de peso (130,83; 123,15 e 127,05 g respectivamente) em relação ao tratamento referência (107,88 g), entretanto, considerando o período de 1 a 21 dias de idade, xilanase+probiótico e o tratamento referência proporcionaram menor ganho de peso (735,38 g e 724,27 g respectivamente). Não foram observados efeitos significativos nos rendimentos de carcaça, porém o tratamento referência e xilanase+probiótico proporcionaram maiores percentuais de gordura abdominal (2,82 e 2,94% respectivamente). Os frangos alimentados com a dieta contendo xilanase apresentaram menor viscosidade intestinal (1,01 cP) contra 1,32; 1,29 e 1,21 cP para a dieta referência, probiótico e xilanase+probiótico respectivamente. Os aditivos xilanase e probiótico, adicionados a ração, proporcionaram melhorias no desempenho animal em relação a dieta sem suplementação, evidenciando a importância do uso desses aditivos nas formulações de rações. O uso combinado de xilanase e probiótico não apresentou efeito associativo.

Palavras-chave: Aditivos. Desempenho. Viscosidade intestinal.

ABSTRACT

The objective of this research was to study xylanase and probiotic supplementation in diets for broilers. The experiment was carried at the Federal Institute of Amazonas in Parintins/AM, in an experimental shed, and was conducted in a completely randomized design with four treatments, with six replications of seven birds each. For the composition of the treatments, Colostrum Mix commercial products were used for the probiotic source and Smyzime Xylanase for the enzymatic source, and the enzyme was valued at 150 kcal/kg of feed. The treatments consisted of: reference diet; reference diet with probiotic addition; basal diet with xylanase addition and basal diet with xylanase and probiotic addition. The reference diet met all the nutritional requirements of broilers, while the basal diet was formulated with 150 kcal/kg of feed less metabolizable energy. Performance, carcass characteristics and intestinal viscosity were evaluated. In the initial phase, the use of xylanase and probiotic, supplied alone or combined, provided greater weight gains (130.83; 123.15 and 127.05 g respectively) compared to the reference treatment (107.88 g), however, considering the period from 1 to 21 days of age, xylanase + probiotic and the reference treatment provided lower weight gain (735.38 g and 724.27 g respectively). No significant effects on carcass yields were observed, but reference treatment and xylanase + probiotic provided higher percentages of abdominal fat (2.82 and 2.94% respectively). The broilers fed the diet containing xylanase showed lower intestinal viscosity (1.01 cP) against 1.32; 1.29 and 1.21 cP for reference diet, probiotic and xylanase + probiotic respectively. The xylanase and probiotic additives added to the diet provided improvements in animal performance compared to the diet without supplementation, highlighting the importance of using these additives in feed formulations. The combined use of xylanase and probiotic had no associative effect.

Key words: Additives. Performance. Intestinal viscosity.

1 INTRODUÇÃO

A adição de microrganismos probióticos benéficos em dietas para frangos de corte pode auxiliar na melhoria do estado de saúde e desempenho durante todo o período de produção. Entre as espécies microbianas probióticas disponíveis, os gêneros *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, *Bacillus*, *Streptococcus* foram relatados como possuindo papel benéfico na nutrição de aves.

O uso dessas cepas tem sido mais frequente com as crescentes restrições ao uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho em dietas para frangos, principalmente a partir de um mercado consumidor cada vez mais exigente, atento a possibilidade de resistência de microrganismos aos produtos utilizados como medicamentosos.

Em outro ponto, considerando a grande quantidade de PNA's nos ingredientes usados na alimentação dos frangos, as carboidrases, que são enzimas que possuem como substratos os carboidratos, são capazes de degradar os constituintes da parede vegetal, proporcionando diversos benefícios, como diminuição da viscosidade, aproveitamento energético, modulação da microbiota, diminuição de impactos ambientais entre outros, sendo um exemplo as xilanases.

Como a ação das xilanases podem liberar xiloses e estas podendo ser usadas pelos microrganismos presentes no íleo ou ceco, um efeito prebiótico secundário com a adição desta enzima, poderia favorecer a estabilização ou crescimento de microrganismos benéficos e consequentemente melhorias na saúde intestinal, de tal modo, que este efeito prebiótico auxiliado pela adição de probióticos nas dietas poderiam acarretar em um ambiente intestinal saudável e favorável a digestão e absorção.

Entretanto, poucos trabalhos objetivaram estudar os efeitos de xilanase e probiótico de maneira combinada na nutrição de frangos de corte, e os poucos resultados encontrados divergem sobre os possíveis efeitos desta suplementação. Este experimento teve por objetivo avaliar o uso isolado ou combinado de xilanase e probiótico em dietas para frangos de corte, avaliando o desempenho animal, características de carcaça e viscosidade intestinal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amazonas com número do protocolo 030/2019.

Foram utilizados 168 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, previamente vacinados contra Marek, Bouda aviária e Gumboro. O período total dos experimentos foi de 05 de outubro a 09 de novembro de 2018. Os frangos foram alojados no galpão experimental do módulo de avicultura do Setor de Produção Animal do Instituto Federal do Amazonas, na cidade de Parintins/AM, em que o galpão era convencional de madeira, piso de cimento, telado, com cortinas laterais e coberto com telhas de fibrocimento, com pintura branca em sua face externa, sendo que este local experimental possuía 24 boxes de 3,10 m² cada, provido de comedouros tubulares e bebedouros pendulares (Figura 1).



Figura 1. Imagem do interior do galpão.

As aves receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental que foi dividido em três fases de criação: pré-inicial (01 a 07 dias), inicial (08 a 21 dias) e crescimento (22 a 35 dias), utilizando diferentes rações, formuladas com a adição de xilanase, probiótico e uma associação destes dois componentes (xilanase + probiótico). Os animais foram alojados sobre cama de maravalha. A temperatura durante o período experimental foi registrada, com média de máxima de 34°C e média de mínima de 25°C.

2.2 Tratamentos e Dietas Experimentais

Todas as dietas foram suplementadas com fitase (Smizyme Phytase, Saulus), sendo esta de 500 FTU (6-fitase), adicionada na proporção de 1 kg/t de ração. A inclusão desta enzima em todos os tratamentos foi considerando seus efeitos benéficos na nutrição de frangos e a solidificação de seu uso na indústria avícola. A xilanase (Smizyme Xylanase, Saulus) também foi adicionado na proporção de 1kg/t de ração. O probiótico (COLOSTRUM MIX®) é composto por microrganismos probióticos de Exclusão Competitiva (NAGF) e componentes probiótico obtidos a partir da microbiota intestinal de aves adultas SPF (*Specific Pathogen Free*), contendo *Enterococcus ssp* (10⁶ UFC/g) e *Lactobacillus acidophilus* (10⁷ UFC/g) e foi

adicionado as dietas na proporção de 5 kg/t na fase pré-inicial (01 a 07 dias de idade), para a colonização do trato e de 1 kg/t nas fases seguintes. Todas as dietas foram formuladas de acordo com as recomendações nutricionais preconizadas por Rostagno et al. (2017) (Tabelas 1, 2 e 3).

Foi realizada a valorização da matriz nutricional de cada enzima nas formulações das dietas, sendo que a enzima xilanase contribuiu com 150 kcal/kg de ração e a enzima fitase contribuiu com 0,097% e 0,095% de fósforo disponível na fase inicial e crescimento respectivamente, de acordo com Rostagno et al. (2017). Os tratamentos foram: dieta referência; dieta referência com adição de probiótico; dieta basal com adição de xilanase e dieta basal com adição de xilanase e probiótico.

Tabela 1. Dietas experimentais na fase de 01 a 07 dias.

Ingredientes	Quantidades (%)			
	Referência	Xilanase	Probiótico	Xilanase+Probiótico
Milho Grão (7,86%) ¹	47,768	50,219	47,748	50,209
Farelo de Soja (46,50%) ¹	45,840	45,238	45,810	45,208
Óleo de Soja	2,490	0,623	2,490	0,623
Calcário	1,403	1,409	1,403	1,409
Fosfato Bicálcio	1,220	1,216	1,220	1,216
Sal Comum	0,537	0,536	0,537	0,536
DL-Metionina	0,328	0,325	0,328	0,325
L-Lisina HCL	0,108	0,119	0,108	0,119
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura mineral ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina	0,055	0,055	0,055	0,055
L-Treonina	0,031	0,030	0,031	0,030
BHT	0,010	0,010	0,010	0,010
Fitase	0,010	0,010	0,010	0,010
Xilanase	-	0,010	-	0,010
Probiótico	-	-	0,050	0,050
Nutriente	Composição Calculada (%) ⁴			
Ácido Linoleico	3,1859	1,6981	3,2025	1,7147
Cálcio	1,0110	1,0110	1,0110	1,0110
Cloro	0,3850	0,3875	0,3850	0,3874
Energia metabolizável (Mcal/kg)	3,0000	2,8500	3,0000	2,8500
Fósforo disponível	0,3850	0,3850	0,3850	0,3850
Lisina digestível	1,3640	1,3640	1,3640	1,3640
Metionina+cisteína Digestível	0,9890	0,9890	0,9890	0,9890
Metionina digestível	0,6531	0,6518	0,6531	0,6518
Potássio	0,9885	0,9885	0,9885	0,9885
Proteína bruta	25,310	25,310	25,310	25,310
Sódio	0,2270	0,2270	0,2270	0,2270
Treonina digestível	0,8820	0,8820	0,8820	0,8820
Triptofano digestível	0,2985	0,2980	0,2985	0,2980
Valina digestível	1,0290	1,0290	1,0290	1,0290

¹Valor de proteína bruta determinado no laboratório de bromatologia do ICSEZ/UFAM.

²Níveis de garantia por kg de produto: Vit. A: 6000000 UI; Vit D3: 2000000 UI; Vit E: 12000 mg; Vit K3 : 800 mg ; Vit B1: 1000 mg ; Vit B2 : 4500 mg ; Vit B6 : 1500 mg ; Vit B12: 12000 mg; niacina: 30000 mg; pantotenato de cálcio: 10000 mg; ác. fólico: 550 mg; biotina: 50 g; antioxidante: 5000 mg; excipiente q.s.p.: 1000 g.

³Níveis de garantia por kg de produto: ferro: 60000 mg; cobre:13000 mg; manganês: 120000; zinco: 100000 mg; iodo: 2500 mg; selênio: 500 mg e excipiente q.s.p.: 1000 g.

⁴Tabelas brasileiras para aves e suínos.

Tabela 2. Dietas experimentais na fase de 08 a 21 dias.

Ingredientes	Quantidades (%)			
	Referência	Xilanase	Probiótico	Xilanase+Probiótico
Milho Grão (7,86%) ¹	49,226	51,676	49,216	51,676
Farelo de Soja (46,50%) ¹	43,386	42,783	43,386	42,773
Óleo de Soja	3,731	1,864	3,731	1,864
Calcário	1,191	1,198	1,191	1,198
Fosfato Bicálcio	1,162	1,158	1,162	1,158
Sal Comum	0,523	0,522	0,523	0,522
DL-Metionina	0,330	0,326	0,330	0,326
L-Lisina HCL	0,112	0,123	0,112	0,123
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura mineral ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina	0,082	0,082	0,082	0,082
L-Treonina	0,048	0,047	0,048	0,047
BHT	0,001	0,001	0,001	0,001
Fitase	0,010	0,010	0,010	0,010
Xilanase	-	0,010	-	0,010
Probiótico	-	-	0,010	0,010
Nutriente	Composição Calculada (%)⁴			
Ácido linoleico	3,8620	2,3742	3,8653	2,3775
Cálcio	0,9070	0,9070	0,9070	0,9070
Cloro	0,3766	0,3791	0,3766	0,3791
Energia metabolizável (Mcal//Kg)	3,1000	2,9500	3,1000	2,9500
Fósforo disponível	0,3350	0,3350	0,3350	0,3350
Lisina digestível	1,3060	1,3060	1,3060	1,3060
Metionina+cisteína Digestível	0,9660	0,9660	0,9660	0,9660
Metionina digestível	0,6425	0,6412	0,6425	0,6412
Potássio	0,9483	0,9483	0,9483	0,9483
Proteína bruta	24,300	24,300	24,300	24,300
Sódio	0,2210	0,2210	0,2210	0,2210
Treonina digestível	0,8620	0,8620	0,8620	0,8620
Triptofano digestível	0,2849	0,2834	0,2849	0,2834
Valina digestível	1,0060	1,0060	1,0060	1,0060

¹Valor de proteína bruta determinado no laboratório de bromatologia do ICSEZ/UFAM.

²Níveis de garantia por kg de produto: Vit. A: 6000000 UI; Vit D3: 2000000 UI; Vit E: 12000 mg; Vit K3 : 800 mg ; Vit B1: 1000 mg ; Vit B2 : 4500 mg ; Vit B6 : 1500 mg ; Vit B12: 12000 mg; niacina: 30000 mg; pantotenato de cálcio: 10000 mg; ác. fólico: 550 mg; biotina: 50 g; antioxidante: 5000 mg; excipiente q.s.p.: 1000 g.

³Níveis de garantia por kg de produto: ferro: 60000 mg; cobre:13000 mg; manganês: 120000; zinco: 100000 mg; iodo: 2500 mg; selênio: 500 mg e excipiente q.s.p.: 1000 g.

⁴Tabelas brasileiras para aves e suínos.

Tabela 3. Dietas experimentais na fase de 22 a 35 dias.

Ingredientes	Quantidades (%)			
	Referência	Xilanase	Probiótico	Xilanase+Probiótico
Milho Grão (7,86%) ¹	52,931	55,382	52,921	55,372
Farelo de Soja (46,50%) ¹	39,052	38,449	39,052	38,449
Óleo de Soja	4,615	2,748	4,615	2,748
Calcário	1,144	1,150	1,144	1,150
Fosfato Bicálcio	0,950	0,946	0,950	0,946
Sal Comum	0,499	0,498	0,499	0,498
DL-Metionina	0,317	0,314	0,317	0,314
L-Lisina HCL	0,156	0,168	0,156	0,168
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura mineral ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina	0,065	0,065	0,065	0,065
L-Treonina	0,060	0,059	0,060	0,059
BHT	0,001	0,001	0,001	0,001
Fitase	0,010	0,010	0,010	0,010
Xilanase	-	0,010	-	0,010
Probiótico	-	-	0,010	0,010
Nutriente	Composição Calculada (%) ⁴			
Ácido linoleico	4,3716	2,8837	4,3749	2,8871
Cálcio	0,8220	0,8220	0,8220	0,8220
Cloro	0,3635	0,3660	0,3635	0,3660
Energia metabolizável (Mcal//Kg)	3,2000	3,0500	3,2000	3,0500
Fósforo disponível	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870
Lisina digestível	1,2350	1,2350	1,2350	1,2350
Metionina+cisteína Digestível	0,9140	0,9140	0,9140	0,9140
Metionina digestível	0,6109	0,6096	0,6109	0,6096
Potássio	0,8808	0,8808	0,8808	0,8808
Proteína bruta	22,620	22,620	22,620	22,620
Sódio	0,2110	0,2110	0,2110	0,2110
Treonina digestível	0,8150	0,8150	0,8150	0,8150
Triptofano digestível	0,2616	0,2601	0,2616	0,2601
Valina digestível	0,9510	0,9510	0,9510	0,9510

¹Valor de proteína bruta determinado no laboratório de bromatologia do ICSEZ/UFAM.

²Níveis de garantia por kg de produto: Vit. A: 6000000 UI; Vit D3: 2000000 UI; Vit E: 12000 mg; Vit K3 : 800 mg ; Vit B1: 1000 mg ; Vit B2 : 4500 mg ; Vit B6 : 1500 mg ; Vit B12: 12000 mg; niacina: 30000 mg; pantotenato de cálcio: 10000 mg; ác. fólico: 550 mg; biotina: 50 g; antioxidante: 5000 mg; excipiente q.s.p.: 1000 g.

³Níveis de garantia por kg de produto: ferro: 60000 mg; cobre:13000 mg; manganês: 120000; zinco: 100000 mg; iodo: 2500 mg; selênio: 500 mg e excipiente q.s.p.: 1000 g.

⁴Tabelas brasileiras para aves e suínos.

2.3 Medida de Desempenho e Carcaça

Ao final de cada fase experimental os frangos foram pesados para obtenção do ganho de peso pela diferença do peso médio final e o peso médio inicial. O consumo de ração foi obtido pela diferença entre o consumo total de cada unidade experimental e o número de aves alojadas na unidade. A conversão alimentar foi obtida pela razão entre o consumo médio de rações e o ganho de peso das aves.

Ao final do experimento, os frangos foram submetidos a um jejum de seis horas e após

serem pesados, foram retiradas duas aves de cada parcela experimental com peso médio representativo da unidade experimental. Os frangos foram insensibilizados por deslocamento cervical e abatidos por sangria na veia jugular, sendo escaldados, depenados e eviscerados. As carcaças foram então pesadas e avaliadas, além dos pesos absolutos, os rendimentos de carcaça, peito, asa, coxa+sobrecoxa. O cálculo do rendimento de carcaça foi realizado com base no peso vivo após o jejum e o peso da carcaça, eviscerada, sem cabeça, sem pés, vísceras e gordura abdominal.

2.4 Viscosidade Intestinal

Das aves abatidas para análise de carcaça foram coletados os conteúdos intestinais por compressão mecânica no sentido crânio-caudal, em recipiente adequado, identificado e levado para o Laboratório de Química do Instituto de Ciências Sociais, Educação e Zootecnia – ICSEZ/UFAM para a determinação da viscosidade intestinal.

Para a realização da análise foi utilizada metodologia descrita por Morgado (2013). Inicialmente, foram pesados 0,5 g do conteúdo e adicionado 1,5 mL de água destilada, sendo em seguida o material centrifugado a 3000 rpm e retirado 0,5 mL do sobrenadante. Posteriormente, foi diluído em 14,5 mL de água, para atingir uma constante de 15 mL. Foi utilizado viscosímetro Cannon-Fenske, capilar de 150 mm, com banho regulado a 37 °C. Foram realizadas duas determinações por amostra, para compor o valor médio do tempo de escoamento da amostra. A fórmula utilizada para calcular a viscosidade foi: $\eta = k.T$, em que:

η = Viscosidade da amostra;

T = Tempo de escoamento da amostra (em segundos);

k = valor da constante do viscosímetro.

2.5 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos, com seis repetições, composta por 7 aves. Os tratamentos foram constituídos pelas diferentes dietas. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} : valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do tratamento i , i = dietas experimentais, sendo $i = 1, 2, 3$ e 4 .

e_{ij} : erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$ e 6 .

A análise dos dados foi realizada com auxílio do sistema de análise estatística SISVAR (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, 2010) (FERREIRA, 2003) com o critério de 5% de probabilidade. A seguir os dados foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desempenho

Na fase pré-inicial (1 a 7 dias de idade) os aditivos utilizados influenciaram o ganho de peso ($p=0,0022$) e conversão alimentar ($p=0,0057$), não exercendo influência ($p=0,8600$) sobre o consumo de ração (Tabela 4). No período de 8 a 21 dias de idade, somente a variável conversão alimentar foi significativamente influenciada ($p=0,0041$), enquanto que no período de 22 a 35 dias de idade todos os parâmetros apresentaram resultados estatisticamente diferentes.

Tabela 4. Desempenho das aves alimentadas com dietas suplementadas com xilanase e probiótico.

Tratamentos	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar
Desempenho 1 a 7 dias de idade			
Referência	107,88 a	170,83	1,59 b
Probiótico	123,15 b	172,81	1,41 a
Xilanase	130,83 b	170,23	1,30 a
Xilanase+Probiotico	127,05 b	178,64	1,40 a
Probabilidade	0,0022	0,8600	0,0057
CV ¹	4,21	7,69	6,92
Desempenho 8 a 21 dias de idade			
Referência	608,99	853,30	1,40 b
Probiótico	649,14	862,37	1,32 a
Xilanase	616,56	868,85	1,40 b
Xilanase+Probiotico	676,42	895,85	1,32 a
Probabilidade	0,1620	0,2646	0,0041
CV ¹	7,63	6,42	3,88
Desempenho 22 a 35 dias de idade			
Referência	934,84 b	1166,00 a	1,24 a
Probiótico	1049,52 a	1389,52 b	1,32 ab
Xilanase	996,90 ab	1419,52 b	1,42 b
Xilanase+Probiotico	985,47 ab	1347,62 b	1,36 ab
Probabilidade	0,0213	0,0005	0,0200
CV ¹	3,42	3,41	4,02
Desempenho 1 a 21 dias de idade			
Referência	724,27 a	1024,13	1,41
Probiótico	795,36 b	1035,18	1,30
Xilanase	781,01 b	1039,08	1,33
Xilanase+Probiotico	755,38 ab	1074,49	1,42
Probabilidade	0,0132	0,3590	0,3156
CV ¹	3,54	2,78	4,17
Desempenho 1 a 35 dias de idade			
Referência	1651,71 a	2190,13 a	1,32
Probiótico	1821,81 b	2424,70 b	1,33
Xilanase	1744,29 b	2458,60 b	1,38
Xilanase+Probiotico	1788,94 b	2422,11 b	1,35
Probabilidade	0,0117	0,0010	0,3090
CV ¹	2,37	2,31	3,30

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Já no período de 1 a 21 dias de idade, houve efeito significativo somente para o ganho de peso ($p=0,0132$). Quanto ao período de criação de 1 a 35 dias de idade, os tratamentos influenciaram o ganho de peso ($p=0,0117$) e a conversão alimentar ($p=0,0110$). Na fase pré-inicial, o tratamento referência acarretou no menor ganho de peso quando comparado com as demais dietas, evidenciando a relação benéfica do suplemento desses aditivos, uma vez que as aves nesta fase ainda estão em processo de estabilização da sua condição fisiológica digestiva.

Analisando o resultado de ganho de peso aos sete dias é possível verificar que o uso dos aditivos, isolados ou associados, não diferiram, o que pode ser explicado pelo pouco tempo de exposição e conseqüentemente a estes atuarem de modo efetivo junto ao trato gastrintestinal da ave.

A ausência de efeitos significativos no consumo de ração dos frangos, corrobora com os dados encontrados por Ramos et al. (2011), que mostraram não haver diferenças no consumo de ração de aves alimentadas com antibiótico, probióticos, prebióticos e simbióticos na fase inicial de criação.

A conversão alimentar foi melhor nas aves que foram alimentadas com ração contendo os aditivos. A maior eficiência citada anteriormente com uso de xilanase e probiótico, pode explicar a melhora significativa na conversão alimentar, considerando a maximização do aproveitamento do conteúdo das dietas, seja pela sua maior absorção ou seja pelo maior substrato glicídico com a utilização do probiótico suplementado.

Semelhante aos dados obtidos neste trabalho, em relação à conversão alimentar, Vandeplass et al. (2009) concluíram existir um potencial efeito sinérgico entre cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* e xilanase em dietas à base de trigo para frangos de corte, sendo observado melhora na conversão alimentar e redução das concentrações de *Salmonella typhimurium* nas excretas, quando os aditivos foram conjugados ao invés de suplementados isoladamente.

Quando observado o período da fase inicial (até os 21 dias de idade), apenas o ganho de peso foi influenciado pelos tratamentos, em que a adição de xilanase e probiótico de maneira isolada apresentaram maiores valores (781,01 g e 795,36 g respectivamente) que, no entanto, não foi suficiente para interferir positivamente na conversão alimentar.

Apesar de observar ganhos com a suplementação de probiótico e xilanase, esses resultados não foram evidenciados quando os aditivos foram fornecidos de maneira conjugada, o que pode ser explicado, em parte, pela menor eficiência do uso energético oriundo do produto enzimático, pois de acordo com Praes (2013) estudando probiótico e enzimas em dietas de frangos de corte, observaram que a associação desses aditivos não melhorou o desempenho das aves em nenhuma das fases estudadas, sendo que os mesmos justificam que possivelmente ocorreu um antagonismo entre eles, em que a ação do probiótico poderia ter acarretado na redução da disponibilidade dos nutrientes que foram disponibilizados pelas enzimas à microbiota intestinal.

No período compreendido entre 1 a 35 dias de idade, o ganho de peso e consumo de ração foram influenciados, de modo que em ambas variáveis o tratamento referência apresentou menor ganho (1651,71 g), porém com menor consumo de ração (2190,13 g), o que pode ter contribuído para que não houvesse diferenças na conversão alimentar entre os tratamentos.

É possível observar que os maiores ganhos no desempenho foram influenciados diretamente pelo consumo de ração, ou seja, a medida que se aumentou a ingestão de ração houve mais ganho no peso, possivelmente pelo maior aporte de nutriente ao sistema orgânico do animal e que o período específico de 22 a 35 dias idade contribuiu preponderantemente para esse resultado.

Para analisarmos, a divergência nos resultados dos animais alimentados com os aditivos e os pertencentes ao tratamento referência, é preciso observar as particularidades de cada aditivo usado, já que uso de xilanase ou probiótico promoveu efeito estimulatório no consumo de ração,

quando comparados com a dieta referência.

Esse achado corrobora com os encontrados por Alkhalif et al. (2010) que descreveram que em relação à taxa média de consumo de ração entre 0 - 4 e 0 - 6 semanas, as aves alimentadas com 1 g/kg de probiótico consumiram significativamente mais ração do que as aves do grupo sem probiótico, sendo 80,41 g e 74,21 g respectivamente. De modo semelhante, Falaki et al. (2010) estudando o efeito de diferentes níveis de probiótico e prebiótico no desempenho e característica de carcaça de frangos de corte, observaram que em todos os períodos de criação a inclusão de probiótico aumentou significativamente o consumo de ração.

Nesse sentido, Abdel-Hafeez et al. (2017) afirmaram que probiótico e simbiótico podem exercer um efeito estimulatório, aumentando o apetite e a ingestão de ração, o que outrora tinha sido constatado por Nahashon et al. (1993), em que a suplementação de culturas de *Lactobacillus* estimulava o apetite e aumentava a retenção de gordura, nitrogênio, cálcio, fósforo, cobre e manganês.

O mecanismo pelo qual o probiótico pode levar ao aumento no consumo não é de fácil entendimento, porém, é sabido que este aditivo atua na modulação microbiana intestinal e o mecanismo de como esta microbiota pode exercer efeitos sobre a saciedade foram discutidos, de modo que Fetissov (2016) descreve que as bactérias metabolizam fibras não digeríveis e produzem vários substratos energéticos, como ATP, lactato e butirato e após a lise bacteriana, são liberadas moléculas bioativas como lipopolissacarídeo (LPS) e proteínas que continuam suas atividades enzimáticas, sintetizando metabólitos bioativos, como 5-hidroxitriptamina (5HT), ou atuando diretamente como miméticos de hormônios peptídicos, como o homólogo da proteína peptidase B caseinolítica (ClpB), os sinais bacterianos aciona a liberação local e sistêmica do peptídeo tirosina tirosina (PYY) e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP1), transmitindo assim a saciedade.

Diante do exposto, alterações na microbiota podem ter modificado a produção de sinalizadores químicos que atuaram no sistema neuroendócrino da ave modificando a sua percepção de saciedade.

Quanto a ação da xilanase, em uma possível explicação para esse resultado (aumento da ingestão de ração), é importante ressaltar que dentre vários efeitos, pode se destacar a melhor taxa de passagem da alimentação (BEDFORD e SCHULZE, 1998) e tal melhora parece ser características das carboidrases, em que de acordo com Salih et al. (1991) estudando resposta de frangos alimentados com cevada sem casca com β -glucanase na dieta em diferentes idades, identificaram que a taxa de passagem da ração foi aumentada pela adição da enzima, ou seja, mais rapidamente a digesta passou pelo trato.

Esse efeito da xilanase na passagem intestinal pode estar associado a diminuição da viscosidade, uma vez que alta viscosidade intestinal pode diminuir a taxa de passagem da digesta (GOHL e GOHL, 1997). Desse modo, alterações na viscosidade e taxa de passagem do alimento no trato intestinal parece estar diretamente associado a um efeito sobre o consumo, o que foi percebido por Mannion (1981) que relataram que uma dieta à base de cevada para pintos de corte reduz a ingestão de ração, mas quando β -glucanase foi adicionada à ingestão de ração aumentou. Nesse sentido, pode-se inferir que os mecanismos aqui demonstrados como possíveis causadores para o aumento do consumo de ração dos frangos atuaram de forma sinérgicas, já que a adição de xilanase e probiótico de forma combinada também levou ao aumento no consumo e por conseguinte maior ganho de peso em comparação a dieta referência.

3.2 Características de Carcaça

Foram observados efeitos significativos para todos os parâmetros de peso de carcaça e cortes. Em relação aos rendimentos o efeito significativo só foi verificado para rendimento de coxa+sobrecoxa ($p=0,008$), enquanto que para os pesos relativos dos miúdos comestíveis foi

encontrado efeito significativo para percentual de gordura abdominal. (Tabela 5).

O peso de carcaça foi menor para tratamento referência (1290 g) e para o tratamento xilanase+probiótico (1275 g). Analisando os resultados, fica evidente que o menor peso de carcaça para esses tratamentos foi em decorrência do menor peso dos cortes de peito e coxa+sobrecoxa. Em contrapartida, a administração de probiótico e xilanase de maneira isolada acarretaram em maiores pesos de carcaça (1623 e 1700 g respectivamente), em que a média desses tratamentos configuram uma diferença de 380 g a mais que o peso de carcaça do tratamento xilanase+probiótico.

A influência dos referidos aditivos nos pesos de carcaça e cortes já foi reportada na literatura, quando Falaki et al. (2010) encontraram maior peso de carcaça e rendimento muscular de peito em frangos de corte abatidos aos 42 dias de idade alimentados com formulação comercial de probiótico ou simbiótico. De forma semelhante Hassan et al. (2018) observaram que os tratamentos com probióticos promoveram maior peso de carcaça quando comparados com aves do grupo controle. A melhoria no peso de carcaça e rendimentos com dietas com probióticos podem estar associados ao efeito benéfico deste aditivo na melhoria da utilização de nutrientes (ZHANG et al. 2016).

Tabela 5. Rendimentos de carcaça, cortes e miúdos de frangos alimentados com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico abatidos aos 36 dias de idade.

Tratamentos	Pesos (g)				
	Carcaça	Peito	Coxa+Sobrecoxa	Asa	Dorso
Referência	1290 a	493,75 a	420,00 a	200,00 b	335,00 b
Probiótico	1623 b	508,75ab	460,00 ab	202,00 b	325,00 ab
Xilanase	1700 b	593,75 b	540,00 b	191,25 a	343,75 b
Xilanase+Probiótico	1275 a	430,00 a	417,50 a	167,50 a	280,00 a
Probabilidade	0,0003	0,026	0,025	0,0225	0,0094
CV ¹	5,40	8,12	7,48	6,52	6,18
Tratamentos	Rendimentos (%)				
	Carcaça	Peito	Coxa+Sobrecoxa	Asa	Dorso
Referência	71,03	36,48	28,96 a	18,80	11,17
Probiótico	71,34	37,23	31,43 a	19,56	11,36
Xilanase	70,20	35,11	31,44 ab	19,17	10,99
Xilanase+Probiótico	69,89	38,08	34,75 b	19,83	11,25
Probabilidade	0,2827	0,3767	0,0008	0,5741	0,8755
CV ¹	2,02	8,05	6,30	6,91	7,13
Tratamentos	Pesos relativos (%)				
	Moela	Coração	Fígado	Gordura	
Referência	2,54	0,51	28,85	2,82 a	
Probiótico	2,57	0,55	31,76	1,73 b	
Xilanase	2,42	0,48	30,65	1,82 b	
Xilanase+Probiótico	2,46	0,46	33,12	2,94 a	
Probabilidade	0,3421	0,2210	0,4317	0,0010	
CV ¹	12,11	8,90	11,09	17,32	

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quanto a suplementação de xilanase, Chen et al. (2018) sugeriram que a adição de xilanase poderia melhorar significativamente as características de carcaça de frangos de corte. Maiores pesos de carcaça de frangos alimentados com dietas contendo xilanase em relação a dieta referência e a dieta xilanase+probiótico pode estar associado ao melhor ambiente intestinal caracterizado pela diminuição da viscosidade e consequentemente melhor aproveitamento dos

nutrientes pela maior ação de enzimas endógenas.

Analisando o impacto de uma multcarboidrase contendo α -galactosidase e xilanase sobre a energia digestível ileal, digestibilidade de proteína bruta e digestibilidade de aminoácidos ileais em frangos de corte, Jasek et al. (2018) verificaram que a inclusão de enzimas também melhorou a digestibilidade de aminoácidos individuais, como ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina e triptofano.

Nesse pressuposto, dentre os aminoácidos citados, destaca-se a lisina, sendo que de acordo com Sklan e Noy (2004), aproximadamente 7,5% de toda a proteína da carcaça é composta por este aminoácido, exercendo influência diretamente nos parâmetros de carcaça (BRASIL et al., 2018). Tão logo o mecanismo de aproveitamento aminoacídico proporcionado pela adição de xilanase nas dietas, pode parcialmente explicar os ganhos nos pesos de carcaça e de cortes. Esse argumento também pode contribuir para os achados no desempenho, uma vez que a melhor digestibilidade está associada a uma maior taxa de absorção e conseqüentemente maior metabolização do aminoácido de acordo com as rotas bioquímicas do organismo.

Com a exposição, combinado com a análise dos resultados das características de carcaça, fica evidente que de algum modo os possíveis efeitos benéficos advindos desses aditivos não ocorreram de forma aditiva, mas de forma interativa negativa, ou seja, acarretando na diminuição dos pesos de carcaça e de alguns cortes. Por ocasião do uso de complexo enzimático Café et al. (2002) observaram um aumento no percentual de gordura em relação a dieta controle sem adição do complexo, o que demonstra uma relação possível da combinação dos aditivos na lipogênese.

Em relação aos rendimentos, os resultados encontrados, em parte corroboram com os achados de Aristides et al. (2012), que utilizando antimicrobianos, probióticos, prebiótico e simbiótico não observaram diferenças significativas nos cortes comerciais de frangos (asas, pernas, peito e dorso) em nenhum dos tratamentos utilizados. De modo semelhante, Dessimoni et al. (2019) ao estudarem o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte em resposta à associação de carboidrase com fitase, observaram que a inclusão de enzimas associadas ou não com fitase não influenciaram o rendimento de carcaça, rendimento de peito e gordura abdominal.

É importante ressaltar que os probióticos podem exercer efeitos no peso de intestinos, conforme mencionado por Awad et al. (2009), em que o peso do intestino delgado mostrou um ligeiro aumento para as aves alimentadas com antibióticos ou probióticos, o que pode revelar alterações histológicas. De tal maneira, considerando que estes segmentos não fazem parte do cálculo para o rendimento de carcaça, mas contribuem para o maior peso vivo e por conseguinte influenciar no ganho de peso, isso pode contribuir para explicar, em parte, a ausência de efeitos significativos nos rendimentos mesmo em tratamentos que apresentaram ganhos de pesos mais elevados.

A ausência de efeitos significativos também foi reportada por outros autores como Mujnisa et al. (2018) ao estudarem *Lactococcus lactis* ssp. como probiótico no percentual de carcaça, conteúdo de gordura abdominal e nível de colesterol em frangos de corte, concluindo que o percentual de gordura abdominal não diferiu entre os cinco tratamentos.

Para o peso dos órgãos, Awad et al. (2009) observaram que os tratamentos não exerceram influência nos pesos relativos de proventrículo, moela, intestino delgado, coração, cólon e bursa de Fabrícus, resultados que se assemelham ao encontrados nesta pesquisa para moela e coração.

3.3 Viscosidade Intestinal

Na Tabela 6 pode ser observado que o tratamento com uso de xilanase isolada acarretou

na menor viscosidade intestinal ($p=0,0236$), com valor de 1,01 centipoise (cP).

Tabela 6. Viscosidade intestinal de frangos abatidos aos 36 dias de idade.

Tratamentos	Viscosidade (cP)
	Intestino
Referência	1,32 b
Probiótico	1,29 b
Xilanase	1,01 a
Xilanase+Probiótico	1,21 b
Probabilidade	0,0236
CV ¹	3,21

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

O tratamento com uso de xilanase apresentou menor valor de viscosidade, evidenciando sua ação na digesta intestinal. Ressalta-se que a viscosidade intestinal relacionada à fibra alimentar pode ser entendida como a capacidade de alguns polissacarídeos de espessar ou formar géis quando misturados com fluidos resultantes de emaranhados físicos entre os constituintes dos polissacarídeos no fluido ou solução (GUILON e CHAMP, 2003). Arczewska-Wlosek et al. (2019), estudando a eficiência da xilanase em frangos de corte alimentados com níveis crescentes de centeio, observaram que a adição da enzima reduziu esse efeito desvantajoso da viscosidade oriunda da adição do centeio ($3,02 \text{ mPa} \times \text{s}$ da dieta sem xilanase contra $1,80 \text{ mPa} \times \text{s}$ com inclusão da enzima).

Os ingredientes de origem vegetal, devido sua composição química, possuem uma grande proporção de pentosanas solúveis, de modo especial grãos viscosos, e essas pentosanas possuem peso molecular suficientemente alto para aumentar a viscosidade do conteúdo do trato gastrointestinal, resultando em uma diminuição concomitante na difusão de nutrientes e, portanto, no valor nutritivo da dieta (BEDFORD e SCHULZE, 1998).

Dessa forma, a mitigação dos efeitos deletérios dos PNA's que aumentam a viscosidade, proporciona melhor aproveitamento energético oriundo do metabolismo dos compostos químicos da célula. O mecanismo pelo qual esses componentes químicos afetam a viscosidade, pode ser explicado principalmente pelo fato de serem solúveis em água e possuírem uma capacidade notável de atrair e reter-la, dessa forma interagir diretamente com as moléculas de água para formar uma grande rede ou estrutura semelhante a uma malha, aumentando assim a viscosidade da digesta (BEDFORD e CLASSEN, 1993), desse modo, a hidrólise dos xilanos ocasionado pela ação da xilanase suplementada na dieta, diminui os efeitos da interação da água com esses compostos glicídicos, diminuindo a retenção e levando a menor viscosidade.

No tratamento em que foi adicionado xilanase+probiótico não foi observada melhoria na viscosidade em relação à dieta referência e a dieta com probiótico isolado, ou seja, o mecanismo benéfico exemplificado acima não foi confirmado neste tratamento. De acordo com Cockburn e Koropatkin (2016) as bactérias intestinais comensais têm uma capacidade extensiva de utilizar carboidratos de seu ambiente, incluindo a fibra e glicanos endógenos, como aqueles que estão na camada mucosa do hospedeiro, diminuindo portanto, o aporte do substrato para o complexo xilanolítico, limitando sua ação e por conseguinte seu produto.

4 CONCLUSÕES

Os aditivos xilanase e probiótico incluídos nas dietas resultaram em maior consumo de ração e maior ganho de peso dos frangos. Os resultados positivos do fornecimento de xilanase e probiótico isoladamente foram semelhantes aqueles obtidos com o fornecimento conjunto destes dois aditivos, não tendo sido comprovado um possível efeito associativo.

CAPÍTULO II

XILANASE E PROBIÓTICO EM DIETAS CONTENDO FARELO DE TRIGO PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi estudar a suplementação de xilanase e probiótico em dietas para frangos corte, avaliando o desempenho, características de carcaça, viscosidade e pH intestinal e microbiota ileal. O experimento foi realizado no setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias/UFAM, em gaiolas metálicas, sendo conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, com seis repetições de seis aves cada. Para a composição dos tratamentos foram usados os produtos comerciais Colostrum Mix como a fonte do probiótico e a Smyzime Xylanase para a fonte enzimática, sendo realizada valorização da enzima em 150 kcal/kg de ração. Os tratamentos consistiram: dieta referência; dieta referência com adição de probiótico; dieta basal com adição de xilanase e dieta basal com adição de xilanase e probiótico. A dieta referência atendia todas as exigências nutricionais dos frangos, enquanto a dieta basal foi formulada com menos 150 kcal de energia metabolizável por quilo de ração. Em todas as dietas foram adicionadas farelo de trigo (5 e 3% para fase inicial e crescimento respectivamente) e fitase. Aos 10 dias de idade todas as aves foram desafiadas por via oral com vacina comercial de *Eimeria* em uma dosagem 10x acima da recomendação. Na fase inicial, o uso de xilanase e probiótico, fornecidos isoladamente ou não, proporcionaram maiores ganhos de peso (705,77; 743,83 e 715,85 g respectivamente) em relação aos frangos alimentados com a dieta referência (577,82 g), entretanto, considerando o período de 10 a 35 dias de idade, xilanase+probiótico e o tratamento referência proporcionaram menor ganho de peso (2746,40 e 2600,62 g respectivamente). A viscosidade intestinal foi influenciada pelos tratamentos, sendo que no ceco, os aditivos suplementados isolados ou combinadamente, proporcionaram valores menores. O tratamento com probiótico proporcionou menor valor de pH cecal (6,11). A microbiota ileal foi influenciada pelos tratamentos, em que os frangos alimentados com a dieta contendo probiótico isoladamente apresentaram maior frequência do gênero *Lactobacillus* (94,20%). A suplementação com xilanase e probiótico proporcionaram melhorias no desempenho animal, viscosidade intestinal e modularam a microbiota ileal. Os aditivos fornecidos combinados na ração proporcionaram melhorias semelhantes ao fornecimento isolado, tão logo, não exerceram efeitos associativos.

Palavras-chave: Aditivo. Microbiota ileal. Viscosidade ileal.

ABSTRACT

The objective of this research was to study the xylanase and probiotic supplementation in broiler diets, evaluating the performance, carcass characteristics, viscosity and pH intestinal and ileal microbiota. The experiment was carried out in the poultry sector of the Faculty of Agricultural Sciences / UFAM, in metallic cages, and was conducted in a completely randomized design with four treatments, with six replications of six birds each. For the composition of the treatments were used the commercial products Colostrum Mix as the source of the probiotic and Smyzime Xylanase for the enzymatic source, being realized valorization of the enzyme in 150 kcal/kg of feed. The treatments consisted of: reference diet; reference diet with probiotic addition; basal diet with xylanase addition and basal diet with xylanase addition and probiotic. The reference diet met all the nutritional requirements of the broilers, while the basal diet was formulated with 150 kcal/kg of feed less metabolizable energy. In all diets were added wheat bran (5 and 3% for initial phase and growth respectively) and phytase. At 10 days of age all birds were challenged orally with commercial vaccine *Eimeria* at a dosage 10x above recommendation. In the initial phase, the use of xylanase and probiotic, supplied alone or not, provided greater weight gains (705.77; 743.83 and 715.85 g respectively) compared to chickens fed the reference diet (577.82 g), however, considering the period from 10 to 35 days of age, xylanase + probiotic and the reference treatment provided lower weight gain (2746.40 and 2600.62 g respectively). The intestinal viscosity was influenced by the treatments, and in the cecum, the additives supplemented alone or in combination, provided lower values. Probiotic treatment provided lower cecal pH value (6,11). The ileal microbiota was influenced by the treatments, in which broilers fed the diet containing probiotic alone presented higher frequency of the genre *Lactobacillus* (94.20%). Xylanase and probiotic supplementation provided improvements in animal performance, intestinal viscosity and modulated the ileal microbiota. Combined additives in feed provided similar improvements to the isolated feed, so they had no associative effects.

Key words: Additive. Ileal microbiota. Intestinal viscosity.

1 INTRODUÇÃO

Na formulação de rações balanceadas para frangos de corte é frequente o interesse na busca por alimentos alternativos que substituem, ainda que de forma parcial, os ingredientes comumente usados na alimentação, em geral o milho e farelo de soja. Os alimentos alternativos são normamente resíduos do processamento agropecuário e devem apresentar características vantajosas em relação ao preço unitário e apresentar qualidades potenciais ao desenvolvimento da ave, sem acarretar em comprometimento ao seu desenvolvimento. Dentre esses ingredientes, está o farelo de trigo, que de acordo com Choct et al. (1997), possui uma concentração elevada de PNA's, dentre os quais há uma predominância de arabinoxilanos (5-10%), sendo um dos efeitos diretos o aumento da viscosidade intestinal.

Algumas estratégias nutricionais podem ser usadas para mitigar os efeitos citados, sendo um deles o fornecimento de enzimas exógenas como a xilanase, uma vez a suplementação com xilanase na dieta pode diminuir a capacidade antinutritiva dos PNA's. Assim, a adição de enzimas exógenas em dietas ricas em PNA's pode resultar em aumento da digestibilidade de nutrientes e melhorar o desempenho de frangos de corte. No entanto, toda ação enzimática está condicionada a disponibilidade de substratos, ou seja, para a quantificação dos efeitos benéficos da xilanase pode ser necessário o aporte do seu respectivo substrato, via alimentação.

Por outro lado, o uso de probióticos em dietas contendo ingredientes como o farelo de trigo pode potencializar os ganhos advindos do seu fornecimento deste ingrediente, já que uma gama de microorganismos intestinais podem usar os xilano-oligossacarídeos a partir de processos fermentativos no ceco da ave, favorecendo o ambiente intestinal e melhorando o desempenho.

Dessa forma, este experimento teve por objetivo estudar a inclusão de xilanase e probiótico em dietas para frangos de corte, com inclusão de farelo de trigo, avaliando o desempenho, características de carcaça, viscosidade e pH intestinal e microbiota ileal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

Todos os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amazonas com número do protocolo 021/2019.

Foram utilizados 144 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb, previamente vacinados contra Marek, Bouda Aviária e Gumboro. O período total dos experimentos foi de 01 de março a 05 de abril de 2019. Inicialmente, os frangos foram alojados no galpão experimental do setor de avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias – FCA da UFAM, sobre cama de maravalha, contendo bebedouros infantis e comedouros tipo bandeja, sendo que o galpão era do tipo convencional de madeira, piso de cimento, telado e coberto com telhas de fibrocimento.

Nos primeiros nove dias de idade os animais foram alojados em círculo de proteção de acordo com o manual da linhagem, quando receberam água e ração *ad libitum*. Aos 10 dias de idade, os animais foram pesados e alojados de maneira uniforme em gaiolas metálicas, com dimensões de 100 x 45 x 45 cm, providas de bebedouros tipo *nipple* e comedouros tipo calha, sendo alojados em cada gaiola seis animais, garantindo uma área de 750 cm²/animal (Figura 2).



Figura 2. Imagem das aves nas gaiolas.

Aos 10 dias de idade, as aves que foram selecionadas para o experimento foram desafiadas com oocistos atenuados de *Eimeria*. Para isso, seguiu-se metodologia usada por Rafael (2015), em que a fonte de inoculação foi a vacina comercial Bio-Coccivet R que é constituída de uma suspensão de: *E. acervulina*, *E. brunette*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*, sendo inoculados oralmente em uma dosagem 10 vezes acima da recomendação do fabricante.

O período experimental foi dividido em duas fases de criação: inicial (10 a 21 dias) e crescimento (22 a 34 dias) utilizando diferentes rações, formuladas com a adição de xilanase, probiótico e uma associação destes dois componentes (xilanase+probiótico). A temperatura durante o período experimental foi registrada, com média de máxima de 31°C e média de mínima de 23°C.

2.2 Tratamento e Dietas Experimentais

Todas as dietas foram suplementadas com fitase (Smizyme Phytase, Saulus), sendo esta de 500 FTU (6-fitase), adicionada na proporção de 1 kg/t de ração. A inclusão desta enzima em todos os tratamentos foi considerando seus efeitos benéficos na nutrição de frangos e a solidificação de seu uso na indústria avícola. A xilanase (Smizyme Xylanase, Saulus) também foi adicionada na proporção de 1 kg/t de ração. O probiótico (COLOSTRUM MIX®) é composto por microrganismos probióticos de Exclusão Competitiva (NAGF) e componentes probiótico obtidos a partir da microbiota intestinal de aves adultas SPF (*Specific Pathogen Free*) e foi adicionado as dietas na proporção 1 kg/t nas fases. Os aditivos foram adicionados em substituição ao inerte (Tabela 7 e 8).

Tabela 7. Dietas experimentais na fase inicial (10 a 21 dias de idade).

Ingredientes	Quantidades (%)			
	Referência	Xilanase	Probiótico	Xilanase+Probiótico
Milho Grão (7,86%) ¹	45,551	46,472	45,551	46,472
Farelo de Soja (46,50%) ¹	39,989	41,020	39,989	41,020
Óleo de Soja	6,211	4,316	6,211	4,316
Farelo de trigo	5,000	5,000	5,000	5,000
Calcário	1,460	1,458	1,460	1,458
Fosfato Bicálcio	0,521	0,520	0,521	0,520
Sal Comum	0,243	0,342	0,243	0,342
DL-Metionina	0,227	0,200	0,227	0,200
Inerte ⁴	0,220	0,191	0,220	0,191
L-Lisina HCL	0,200	0,144	0,200	0,144
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura Mineral ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina	0,082	0,082	0,082	0,082
L-Treonina	0,102	0,056	0,102	0,056
BHT	0,001	0,001	0,001	0,001
Nutriente	Composição Calculada (%) ⁵			
Ácido Linoleico	3,1859	1,6981	3,2025	1,7147
Cálcio	0,7970	0,7970	0,7970	0,7970
Cloro	0,2970	0,2970	0,2970	0,2970
Energia Metabolizável (Mcal//Kg)	3,1000	2,9500	3,1000	2,9500
Fósforo Disponível	0,3120	0,3120	0,3120	0,3120
Lisina Digestível	1,2940	1,2940	1,2940	1,2940
Metionina+Cisteína Digestível	0,9660	0,9660	0,9660	0,9660
Metionina Digestível	0,5300	0,5300	0,5300	0,5300
Potássio	0,8982	0,8982	0,8982	0,8982
Proteína Bruta	24,000	24,000	24,000	24,000
Sódio	0,2210	0,2210	0,2210	0,2210
Treonina Digestível	0,8440	0,8440	0,8440	0,8440

¹Valor de proteína bruta determinado no laboratório de bromatologia do ICSEZ/UFAM.

²Níveis de garantia por kg de produto: Vit. A: 6000000 UI; Vit D3: 2000000 UI; Vit E: 12000 mg; Vit K3 : 800 mg ; Vit B1: 1000 mg ; Vit B2 : 4500 mg ; Vit B6 : 1500 mg ; Vit B12: 12000 mg; niacina: 30000 mg; pantotenato de cálcio: 10000 mg; ác. fólico: 550 mg; biotina: 50 g; antioxidante: 5000 mg; excipiente q.s.p.: 1000 g.

³Níveis de garantia por kg de produto: ferro: 60000 mg; cobre:13000 mg; manganês: 120000; zinco: 100000 mg; iodo: 2500 mg; selênio: 500 mg e excipiente q.s.p.: 1000 g.

⁴Areia lavada

⁵Tabelas brasileiras para aves e suínos.

Tabela 8. Dietas experimentais na fase crescimento (22 a 35 dias de idade).

Ingredientes	Quantidades (%)			
	Referência	Xilanase	Probiótico	Xilanase+Probiótico
Milho Grão (7,86%) ¹	49,249	52,720	49,249	52,720
Farelo de Soja (46,50%) ¹	37,593	36,985	37,593	36,985
Óleo de Soja	6,022	4,148	6,022	4,148
Farelo de trigo	3,000	3,000	3,000	3,000
Calcário	1,025	1,031	1,025	1,031
Fosfato Bicálcio	0,577	0,573	0,577	0,573
Sal Comum	0,498	0,497	0,498	0,497
DL-Metionina	0,330	0,327	0,330	0,327
Inerte ⁴	0,200	0,200	0,200	0,200
L-Lisina HCL	0,175	0,187	0,175	0,187
Mistura vitamínica ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura Mineral ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de Colina	0,065	0,065	0,065	0,065
L-Treonina	0,063	0,062	0,063	0,062
BHT	0,001	0,001	0,001	0,001
Nutriente	Composição Calculada (%)⁵			
Ácido Linoleico	3,4590	2,7510	3,4590	2,7510
Cálcio	0,7120	0,7120	0,7120	0,7120
Cloro	0,3670	0,3772	0,3670	0,3772
Energia Metabolizável (Mcal//Kg)	3,2000	3,0500	3,2000	3,0500
Fósforo Disponível	0,2640	0,2640	0,2640	0,2640
Lisina Digestível	1,2230	1,2230	1,2230	1,2230
Metionina+Cisteína Digestível	0,9140	0,9140	0,9140	0,9140
Metionina Digestível	0,5010	0,5010	0,5010	0,5010
Potássio	0,8920	0,8920	0,8920	0,8920
Proteína Bruta	22,320	22,320	22,320	22,320
Sódio	0,2210	0,2210	0,2210	0,2210
Treonina Digestível	0,7970	0,7970	0,7970	0,7970
Triptofano Digestível	0,2200	0,2200	0,2200	0,2200
Valina Digestível	0,9360	0,9360	0,9360	0,9360

¹Valor de proteína bruta determinado no laboratório de bromatologia do ICSEZ.

²Níveis de garantia por kg de produto: Vit. A: 6000000 UI; Vit D3: 2000000 UI; Vit E: 12000 mg; Vit K3 : 800 mg ; Vit B1: 1000 mg ; Vit B2 : 4500 mg ; Vit B6 : 1500 mg ; Vit B12: 12000 mg; niacina: 30000 mg; pantotenato de cálcio: 10000 mg; ác. fólico: 550 mg; biotina: 50 g; antioxidante: 5000 mg; excipiente q.s.p.: 1000 g .

³Níveis de garantia por kg de produto: ferro: 60000 mg; cobre:13000 mg; manganês: 120000; zinco: 100000 mg; iodo: 2500 mg; selênio: 500 mg e excipiente q.s.p.: 1000 g

⁴Areia lavada

⁵Tabelas brasileiras para aves e suínos.

Foi realizada a valorização da matriz nutricional de cada enzima (de acordo com recomendação do fabricante) nas formulações das dietas, sendo que a enzima xilanase contribuiu com 150 kcal/kg de ração. A fitase contiuiu com: 0,12% de fósforo disponível; 0,11% de cálcio; 0,300% de proteína bruta; 0,012% de lisina digestível; 0,005% de metionina digestível; 0,018% de treonina digestível; 0,002 de triptofano digestível; 0,015% de valina digestível. Todas as dietas foram formuladas de acordo com a recomendação preconizada por Rostagno et al. (2017). Os tratamentos foram: Dieta referência; Dieta referência com adição de probiótico; Dieta basal com adição de xilanase e dieta basal com adição de xilanase e probiótico.

2.3 Medida de Desempenho e Carcaça

Para estas análises, os procedimentos foram semelhantes ao descrito no capítulo I. Ao final de cada fase experimental os frangos foram pesados para a obtenção do ganho de peso pela diferença do peso médio final e o peso médio inicial. O consumo de ração foi obtido pela diferença entre o consumo total da unidade experimental e o número de aves alojadas nesta unidade. A conversão alimentar foi obtida pela razão entre o consumo médio de ração e o ganho de peso das aves. Ao final do experimento, foram retiradas quatro aves (duas para análises de carcaça e duas para análises de viscosidade, pH e microbiota) por repetição com peso médio representativo da unidade experimental. Os frangos foram insensibilizados por deslocamento cervical e abatidos por sangria na veia jugular, sendo escaldados, depenados e eviscerados. As carcaças foram então pesadas e avaliadas os pesos absolutos e rendimentos de carcaça, peito, asa, coxa+sobrecoxa. O cálculo do rendimento de carcaça foi realizado com base no peso vivo após o jejum e o peso da carcaça, eviscerada, sem cabeça, sem pés e gordura abdominal.

2.4 Viscosidade e pH Intestinal

A viscosidade foi avaliada de maneira semelhante ao descrito no capítulo anterior, entretanto, os intestinos foram separados nas porções duodeno, jejuno, íleo e ceco, cujos conteúdos foram obtidos por compressão mecânica cranio-caudalmente.

As medições de pH foram realizadas com auxílio de um pHmetro Digital Microprocessador Gehaka modelo PG 1800. A metodologia utilizada foi descrita por Reis et al. (2017), em que o conteúdo foi diluído na proporção 1:10 (m/v); após todo o conteúdo encontrado ter sido pesado, foi adicionado um volume apropriado de água destilada. A solução foi homogeneizada em recipientes e o eletrodo foi inserido na solução. Os dados foram coletados quando a leitura do medidor de pH foi estável.

2.5 Microbiota Ileal

Das aves abatidas, uma por repetição foi usada para separação do conteúdo ileal, que após coletada foi composto um *pool* para ser congelado e armazenado. Em todo o processo de coleta foram usados materiais esterilizados, em que os utensílios usados não se repetiam entre os tratamentos.

O DNA foi obtido por meio de um procedimento de esferas magnéticas com um procedimento exclusivo (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). As bactérias foram identificadas por sequenciamento de alto rendimento da região 16S rRNA V3 / V4 com um procedimento exclusivo (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). As seqüências foram analisadas usando um *pipeline* (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). As seqüências resultantes que apresentaram 100% de identidade foram agrupadas e utilizadas para identificação taxonômica, utilizando um banco de dados de seqüências 16S rRNA, da empresa especializada.

2.6 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos, com seis repetições, composta por 6 aves. Os tratamentos foram constituídos pelas diferentes dietas. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do tratamento i , $i =$ dietas experimentais, sendo $i = 1, 2, 3$ e 4 .

e_{ij} : erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$ e 6 .

A análise dos dados foi realizada com auxílio do sistema de análise estatística SISVAR (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, 2010) (FERREIRA, 2003) com o critério de 5% de probabilidade. A seguir os dados foram submetidos a análise de variância, sendo as medias comparados pelo teste de Tukey.

A análise estatística da microbiota intestinal foi realizada em duas fases: 1) análise de Cluster, utilizando um modelo estatístico multivariado com o objetivo de classificar objetos de uma amostra em grupos, com base nas variáveis consideradas, de modo que eles possuam as características mais similares possíveis entre si dentro do grupo no qual foram classificados, e que sejam o mais heterogêneo possível entre os grupos formados pela análise. Os objetos considerados serão as médias provenientes dos tipos de populações de microrganismos presentes; 2) análise descritiva, em termos de média e variância mínima e máxima. Para análise de agrupamento foi usado o software livre PAST.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desempenho

Na fase inicial (10 a 21 dias de idade) o uso dos aditivos influenciou o ganho de peso ($p=0,0023$) e conversão alimentar ($p=0,0009$), não exercendo influência ($p = 0,0952$) sobre o consumo de ração (Tabela 9). Considerando o período de 22 a 35 dias de idade houve efeito no consumo de ração ($p=0,0352$) e ganho de peso ($p=0,0230$). Já no período de 10 a 35 dias de idade, houve efeito significativo para o ganho de peso ($p=0,0034$) e consumo de ração ($p=0,0311$).

Tabela 9. Desempenho das aves alimentadas com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico.

Tratamentos	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar
Desempenho 10 a 21 dias de idade			
Referência	577,82 a	927,16	1,60 a
Xilanase	705,77 b	914,89	1,30 b
Probiótico	743,83 b	920,22	1,27 b
Xilanase+Probiotico	715,85 b	950,99	1,40 b
Probabilidade	0,0023	0,0952	0,0009
CV ¹	3,95	1,72	4,79
Desempenho 22 a 35 dias de idade			
Referência	2022,80 a	2673,04 a	1,32
Xilanase	2147,13 b	2941,58 b	1,37
Probiótico	2275,88 b	3099,45 b	1,35
Xilanase+Probiotico	2030,55 a	2720,94 a	1,34
Probabilidade	0,0023	0,0352	0,0102
CV ¹	3,95	2,30	3,65
Desempenho 10 a 35 dias de idade			
Referência	2600,62 a	3600,20 a	1,38
Xilanase	2852,00 ab	3856,47 ab	1,35
Probiótico	3019,33 b	4019,67 b	1,33
Xilanase+Probiotico	2746,40 a	3671,93 ab	1,33
Probabilidade	0,0024	0,0311	0,8249
CV ¹	2,64	3,87	3,15

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Nos resultados encontrados é possível observar que o fornecimento dos aditivos seja de forma isolada ou de forma associada proporcionaram melhorias no ganho de peso e conversão alimentar quando comparados com a dieta referência, considerando a fase inicial, em que se pode afirmar que melhoraram aproximadamente 20% no ganho de peso e 17,50% na conversão alimentar. Considerando o ciclo até os 35 dias de idade, pode-se observar um maior ganho de peso para a dieta com probiótico, possivelmente influenciado pelo maior consumo de ração.

As dietas, como mencionado no material e métodos, continham 5 ou 3% de farelo de trigo (fase inicial e de crescimento respectivamente), e sabidamente a adição deste ingrediente aumenta a viscosidade da digesta, além de ser de menor digestibilidade, o que pode explicar os menores valores de ganho de peso na dieta referência, pois de acordo com Gracia et al. (2009) o aumento do consumo de fibras em aves produz alterações no tamanho e no peso dos órgãos digestivos associados ao aumento da viscosidade intestinal, diminuindo o tempo de trânsito

intestinal. Essa diminuição na taxa de passagem pode explicar, em parte, o menor consumo de ração quando comparados às dietas com xilanase e probiótico administrados de forma isolada no período de 10 a 21 dias de idade.

O uso do probiótico pode explicar o estabelecimento precoce de microbiota benéfica e inibir patógenos, potencializando um efeito protetor e aumentando a resistência do hospedeiro à infecção, reduzindo a necessidade de uso profilático de drogas (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003), de modo que a redução de patógenos acarretada pelo uso de probiótico, pode ser excepcionalmente benéfico para as aves, pois alguns microrganismos como *Clostridium* e *Salmonella* podem exacerbar infecções por *Eimeria* e vice-versa (CHAPMAN et al., 2002).

Em relação à xilanase, pode-se inferir que sua administração melhorou a viscosidade da digesta aumentada pela inclusão do farelo de trigo. A ação enzimática pode afetar a população da microbiota no íleo das aves, reduzindo a colonização de microorganismo patógeno (CALDAS et al., 2016), o que favorece a manutenção da saúde intestinal.

As melhorias no desempenho com o uso de enzima ou probiótico estão associadas a efeitos já descritos no capítulo 1, como melhoria na viscosidade intestinal, maior aproveitamento de conteúdo energético das células, manutenção da microbiota e da funcionalidade gastrointestinal de maneira geral.

Quando administrados de forma conjunta, a enzima e o probiótico proporcionaram resultados superiores ao tratamento referência, porém, sua ação conjugada não proporcionou ganhos superiores em relação as dietas suplementadas com os aditivos isoladamente, indicando dessa forma que não houve um efeito aditivo, contrariando os resultados encontrados por Nusairat et al. (2018), que concluíram que suplementados simultaneamente, a conversão alimentar e o *score* de lesão intestinal foram melhorados, ou seja, houve efeito aditivo.

3.2 Características de Carcaça

Para os valores absolutos de carcaça somente não foi observado efeito sobre o peso de peito ($p=0,1052$), já em relação aos rendimentos somente coxa+sobrecoxa ($p=0,008$) foi influenciada significativamente pelos tratamentos, ao passo que nos pesos relativos de órgãos não foram observados efeitos significativos, com excessão de gordura abdominal ($p=0,0010$) (Tabela 10).

Os tratamentos influenciaram o peso de carcaça, em que a dieta referência não diferiu da dieta xilanase+probiótico, apresentando respectivamente 1450 g e 1448 g, sendo que os aditivos administrados na ração de maneira isolada acarretaram em maiores pesos. A dieta com xilanase e probiótico apresentaram menores valores para peso de asa e dorso, o que evidentemente influenciou para menor peso de carcaça.

Esse resultado evidencia, novamente, ausência de efeitos aditivos quando a enzima e o probiótico foram adicionados às rações de maneira conjugada, o que pode ser explicado, em parte, por um possível antagonismo oriundo da menor disponibilidade dos nutrientes disponibilizada pelas enzimas aos microrganismos presentes no intestino do frango (PRAES, 2013), em que possivelmente a maior ação das enzimas acarretou em menor substrato para metabolismo bacteriano (BAO e CHOCT, 2010).

Na observação geral, considerando os pesos absolutos e rendimentos, fica evidente que o uso de xilanase+probiótico proporcionou maior rendimento de gordura abdominal.

Tabela 10. Rendimentos de carcaça, cortes e miúdos de frangos alimentados com dietas suplementadas ou não com xilanase e probiótico abatidos aos 36 dias de idade.

Tratamentos	Pesos (g)				
	Carcaça	Peito	Coxa+Sobrecoxa	Asa	Dorso
Referência	1450 ab	528,50	420,16 a	161,83 ab	272,50 ab
Xilanase	1488 b	551,67	466,00 b	168,16 b	290,16 b
Probiótico	1491 b	522,83	469,67 b	163,67 ab	285,33 ab
Xilanase+Probiótico	1448 a	511,67	467,50 b	151,67 a	266,83 a
Probabilidade	0,0197	0,1052	0,0027	0,0127	0,0275
CV ¹	5,58	5,12	4,96	4,91	4,94

Tratamentos	Rendimentos (%)				
	Carcaça	Peito	Coxa+Sobrecoxa	Asa	Dorso
Referência	71,03	36,48	28,96 a	18,80	11,17
Xilanase	71,34	37,23	31,43 a	19,56	11,36
Probiótico	70,20	35,11	31,43 ab	19,17	10,99
Xilanase+Probiótico	69,89	38,08	34,75 b	19,83	11,25
Probabilidade	0,2827	0,3767	0,0008	0,5741	0,8755
CV ¹	2,02	8,05	6,30	6,91	7,13

Tratamentos	Pesos relativos (%)			
	Moela	Coração	Fígado	Gordura
Referência	2,44	0,50	28,96	2,34 a
Xilanase	2,43	0,49	31,43	1,82 b
Probiótico	2,47	0,46	31,43	1,68 b
Xilanase+Probiótico	2,58	0,49	34,75	2,72 a
Probabilidade	0,7331	0,3800	0,3656	0,0010
CV ¹	9,24	5,67	14,10	20,10

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

3.3 Viscosidade e pH Intestinal

Dos segmentos intestinais avaliados, apenas a viscosidade no jejuno não foi influenciada ($p=0,0701$) pelos tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Viscosidade de diferentes segmentos do intestino de frango.

Tratamentos	Viscosidade (cP)			
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco
Referência	1,42 b	1,28	1,37 b	1,36 a
Xilanase	1,34 a	1,23	1,14 a	1,29 b
Probiótico	1,40 b	1,24	1,30 b	1,28 b
Xilanase+Probiótico	1,37 b	1,33	1,33 b	1,27 b
Probabilidade	0,0189	0,0701	0,0031	0,0123
CV ¹	4,39	6,83	3,40	2,88

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Na região do duodeno e ceco, o tratamento referência acarretou maior valor de viscosidade (1,42 e 1,36 cP respectivamente) de modo que não houve diferença entre os aditivos fornecidos isolados ou combinados. Já na porção do íleo, o tratamento com xilanase apresentou menor valor de viscosidade, em que o tratamento referência não diferiu do tratamento com probiótico e xilanase+probiótico.

Quanto ao tratamento referência apresentar maiores valores de viscosidade nos segmentos duodeno e ceco, pode representar um reflexo do fornecimento de farelo de trigo que apresenta grande quantidade de arabinoxilano e dessa forma contribui para o aumento da hidrofília da fibra solúvel. Em relação aos efeitos na diminuição da viscosidade proporcionada pela adição de xilanase e probiótico, é compreensivo a redução com uso da enzima, uma vez que este efeito está amplamente documentado na literatura (AGBOOLA et al., 2014). Essa diminuição na viscosidade foi alcançada principalmente pela redução do peso molecular através da hidrólise da espinha dorsal do xilano pela xilanase em compostos menores e, portanto, redução nos efeitos viscosos da ração, porque a viscosidade da digesta é diretamente proporcional ao peso molecular de arabinoxilanos de trigo (BEDFORD e CLASSEN, 1993).

É possível observar que a adição de probiótico também proporcionou melhoria na viscosidade intestinal. Esse resultado se assemelha aos encontrados por Agboola et al. (2015) que ao estudarem o efeito do probiótico e carboidrase e sua associação em frangos de corte alimentados com dietas à base de trigo, indentificaram que a dieta controle negativo revelou maior valor de viscosidade (1072 mPa), e as dietas com adição probiótico resultaram valores de viscosidade semelhantes em relação a dieta com carboidrases (570 e 629 mPa respectivamente).

Nesse sentido, considerando os resultados encontrados em relação ao uso de probiótico, é possível inferir sobre dois pontos importantes: o complexo enzimático de bactérias e a melhoria do ambiente intestinal.

Sobre o primeiro aspecto, o probiótico usado nesta pesquisa é oriundo da microbiota intestinal de aves SPF (*Specific Pathogen Free*), ou seja, apresentando uma diversidade microbial não específica, sugerindo a presença de diversas cepas de microrganismos presentes no trato intestinal dos frangos. Considerando alguns gêneros comensais como *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Bifidobacterium* é possível pontuar que parte desses microrganismos são capazes de produzir enzimas que atuam na hidrólise dos PNA's.

Nesse aspecto, Latorre et al. (2015a) observaram que usando *Bacillus* DFM em dietas *in vitro* para aves (dietas à base de centeio, trigo, cevada e aveia), resultaram em uma redução significativa na viscosidade da digesta e proliferação de *Clostridium perfringens* entre dietas controle e dietas suplementadas com *Bacillus*-DFM. De maneira semelhante, Latorre et al. (2015b) avaliando *Bacillus*-DFM sobre a viscosidade da digesta, translocação bacteriana, composição da microbiota e mineralização óssea em frangos de corte alimentados com dieta à base de centeio, descreveram que a viscosidade da digesta foi consideravelmente maior em frangos alimentados à base de centeio sem *Bacillus*.

Com o objetivo de avaliar o potencial do *Lactobacillus reuteri* Pg4 transformado como probiótico multifuncional em dieta à base de cevada para frangos de corte, Yu et al. (2008) observaram que a suplementação com o microrganismo diminuiu a viscosidade intestinal, aos 21 e 37 dias de idade, em que os autores relataram que cepa usada tem ação efetiva sobre o glucano da dieta.

No segundo ponto, é necessário compreender o ambiente intestinal como um todo, e todas as interações que ocorrem no microbioma local, já que tais interações são extremamente dinâmicas e multi-dependentes. O uso do probiótico pode ter assegurado melhorias no ambiente intestinal, uma vez que este pode aumentar efetivamente a resistência das aves e proteger parcialmente contra os efeitos negativos do crescimento associados à coccidiose (LEE et al., 2007), o que leva a melhoria e menores valores de viscosidade intestinal.

Quanto ao pH intestinal os resultados podem ser observados na Tabela 12. Os tratamentos somente influenciaram pH nos segmentos duodeno, ceco e íleo, sendo que no duodeno a dieta referência apresentou maior valor (6,54). No íleo os tratamentos que continham probiótico proporcionaram valores de pH mais ácidos, enquanto que no ceco o menor valor foi observado na dieta com probiótico de maneira isolada (6,11).

A ausência de efeitos significativos entre o tratamento referência e o tratamento com xilanase (íleo) e xilanase+probiótico (ceco) pode em parte ser explicado pela ação microbiana endógena, haja vista que bactérias produtoras de ácido láctico por exemplo, são autóctones do intestino dos frangos.

Na íleo e ceco, os tratamentos que continham suplementação de probiótico, seja de forma isolada ou consorciada com a xilanase, levou a menor valor de pH, ou seja, contribuindo para uma acidez. Tal efeito esta associado a uma maior frequência de bactérias lácticas, que no proceso metabólico produzem ácidos orgânicos, como o láctico e o propiônico, conforme pode ser observado nos resultados da seção 3.4.

Tabela 12. Valores de pH em diferentes segmentos do intestino de frango.

Tratamentos	pH			
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco
Referência	6,64 b	6,48	6,38 b	6,38 b
Xilanase	6,34 a	6,78	6,31 b	6,46 b
Probiótico	6,44 a	6,54	6,17 a	6,11 a
Xilanase+Probiótico	6,28 a	6,32	6,19 a	6,49 b
Probabilidade	0,0358	0,4504	0,0008	0,0009
CV ¹	2,57	3,96	3,01	1,91

¹ Coeficiente de Variação

^{a-b} Médias seguidas por letras distintas (colunas) diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tem se levantado a hipótese de que um aumento na síntese de bactérias produtoras de ácidos orgânicos e a subsequente redução do pH intestinal é um dos principais fatores associados à exclusão de patógenos gastrointestinais (HINTON et al., 1990), além disso tem sido descrito que a redução do pH, e a produção de peróxido de hidrogênio (GONZÁLEZ et al. 2007), apesar de ter sido demonstrado que, em condições de baixo pH, alguns patógenos gastrointestinais, como *Salmonella* e *Escherichia coli*, são capazes de adaptar sua fisiologia e sobreviver ao ambiente ácido (KIM et al., 2005).

Probiótico+xilanase exerceu efeitos sobre o pH, entretanto este efeito não foi aditivo. É possível que uma digestão mais completa de nutrientes devido à ação de enzimas significa que pouco substrato permanece no final do intestino para sustentar uma grande população de microrganismos (BAO e CHOCT, 2010).

3.4 Microbiota Ilea

Para análise da diversidade microbiológica ileal, foram analisadas as frequências de ocorrência nos níveis taxonômicos. Em relação ao filo foi identificado a predominância dos *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria* (Figura 3)

Em todos os tratamentos, o filo com maior frequência foi o *Firmicutes*, e dentre os *Firmicutes* a dieta com xilanase foi a que proporcionou menor valor (81,03%), de modo que neste tratamento houve aumento no filo *Proteobacteria* (11,80%) e *Actinobacteria* (7,17%). Esses resultados concordam com os observados por Wei et al. (2013), que ao realizarem um censo bacteriano do microbioma intestinal de frangos observaram que o *Firmicutes* foi o filo mais predominante e representou quase 70% de todas as sequências bacterianas, seguidas por *Bacteroidetes* (12,3% das sequências bacterianas) e *Proteobacteria* (9,3% das sequências bacterianas).

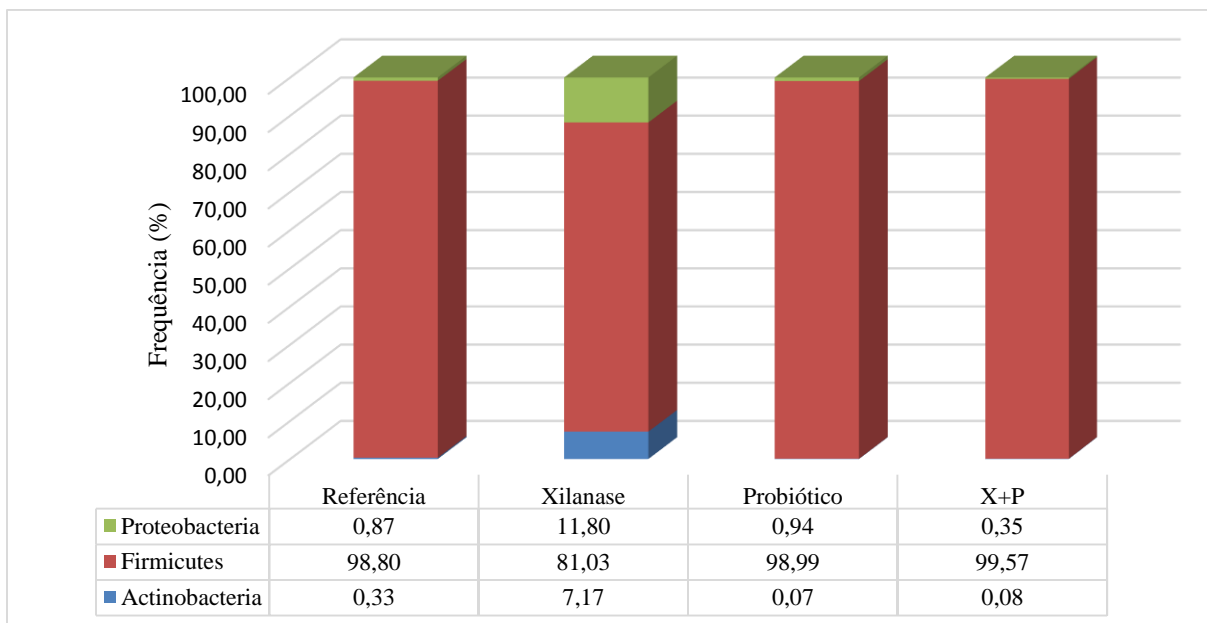


Figura 3. Frequência (%) dos filos encontrados no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

Essa predominância é sugerida em outras regiões intestinais, como por exemplo no ceco, pois de acordo com Lan et al. (2002), realizando análise filogenética da microbiota cecal em frangos, mostraram a predominância (94%) de seqüências do filo *Firmicutes*.

Apesar da grande abrangência que é o agrupamento taxonômico filo, as especialidades das bactérias somente serão diferenciadas nos táxons subsequentes. É possível fazer algumas inferências sobre a predominância dos três filos encontrados. De acordo com Allen e Stanton (2014) bactérias pertencentes aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* estão envolvidos na decomposição de polissacarídeos indigestíveis pelo sistema enzimático do hospedeiro, como amido resistente e cellulose.

Sobre isso, Jumpertz et al. (2011) demonstraram que o filo *Firmicutes* tem uma relação positiva com a capacidade de coletar energia da dieta, de modo que um aumento nos *Firmicutes* fecais foi associado a um aumento na absorção de nutrientes, enquanto que um aumento nos *Bacteroidetes* fecais foi associado a uma diminuição na absorção de nutrientes.

Esses resultados sugerem que maiores concentrações de *Firmicutes* estariam associados a uma melhor digestão de componentes da digesta que em outras vias não seria possível, e como consequência, melhor absorção de nutrientes, o que poderia refletir nos dados de desempenho animal. Entretanto, para a confirmação do argumento, deve-se observar táxons mais específicos, como gênero, uma vez que existem as particularidades e especificidades de cada microrganismo.

Em relação à classe, a mais abundante no presente estudo foi a *Bacilli* (Figura 4). O tratamento referência proporcionou menor valor para a classe *Bacilli* (71,03%) aumentando no tratamento com xilanase (77,22%) e alcançando maiores valores no tratamento com probiótico fornecido isoladamente (98,87%). Entretanto, quando houve o tratamento xilanase+probiótico, ocorreu redução nos percentuais (90,64%) em relação ao tratamento anterior.

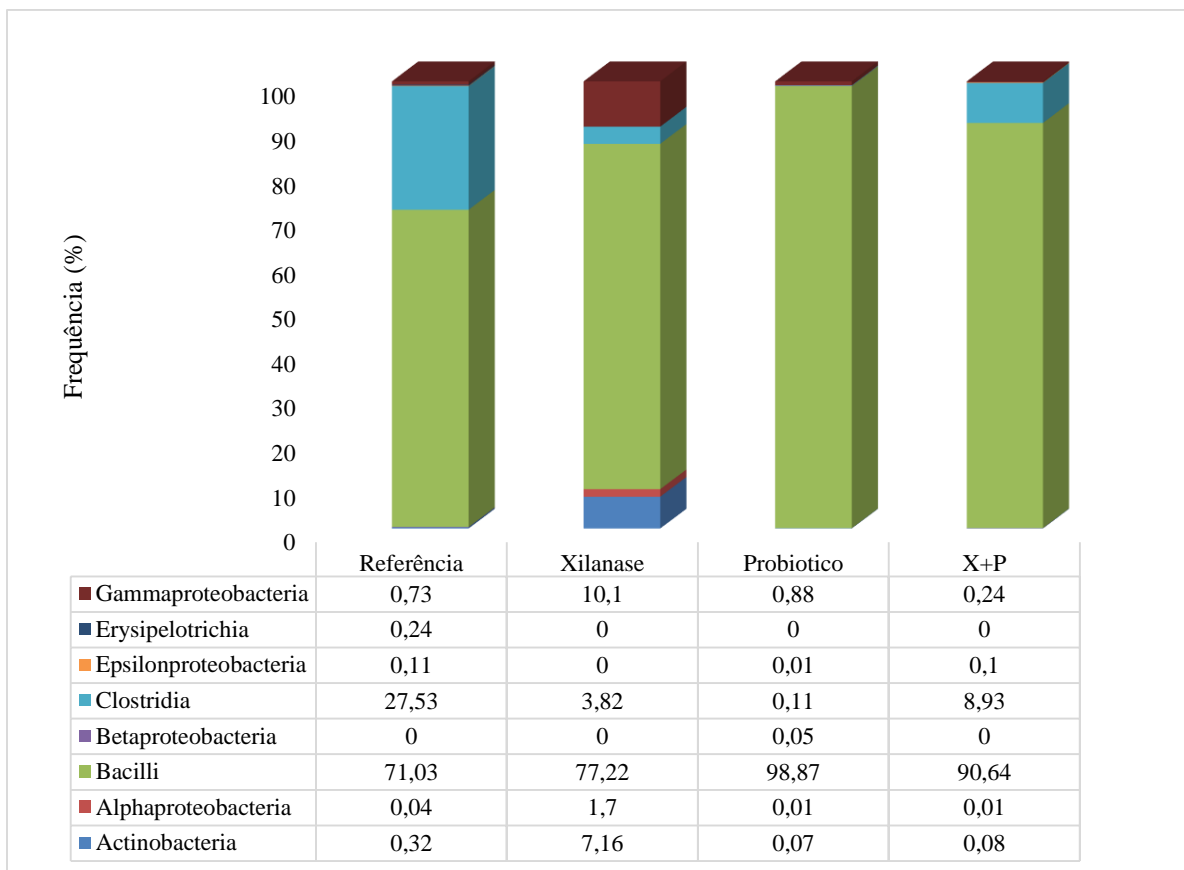


Figura 4. Frequência (%) das Classes encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

Neste cenário é possível observar que os tratamentos com aditivos influenciaram na redução de bactérias da classe *Clostridia*, uma vez que a dieta sem aditivos proporcionou maior frequência (27,53%).

O fato da dieta sem aditivo apresentar maior percentual para a classe *Clostridia*, não deve se configurar, a priori, como sendo reflexo de um microbioma ileal não harmônico, o que estaria diretamente relacionado à presença de bactérias patogênicas, como por exemplo *Clostridium perfringens*. De fato, todas as evidências sugerem que a grande maioria das bactérias pertencentes à classe bacteriana *Clostridia* não são patogênicas e até benéficas para os animais e para os lucros agrícolas (RINTTILÄ e APAJALAHTI, 2013).

Tão logo, para melhor abordagem dos impactos das classes encontradas, principalmente em relação ao tratamento referência, são necessárias investigações a respeito dos táxons mais específicos. Dessa forma, considerando a ordem, essa tendência também ocorreu (Figura 5).

As ordens *Clostridiales* e *Lactobacillales* foram as mais frequentes observadas independente dos tratamentos. Porém, como sinalizado anteriormente, o tratamento referência apresentou maiores valores para a ordem *Clostridiales* (27,53%), contra 3,81% no tratamento com xilanase, 0,11% no tratamento com probiótico e 8,92% com tratamento xilanase+probiótico.

A ordem *Lactobacillales* foi a mais abundante, sendo os valores percentuais influenciados pelos tratamentos, sendo que a maior frequência foi observada no tratamento com suplementação de probiótico isoladamente (98,44%), seguido de xilanase+probiótico (90,44%), xilanase (76,39%) e referência (70,80%).

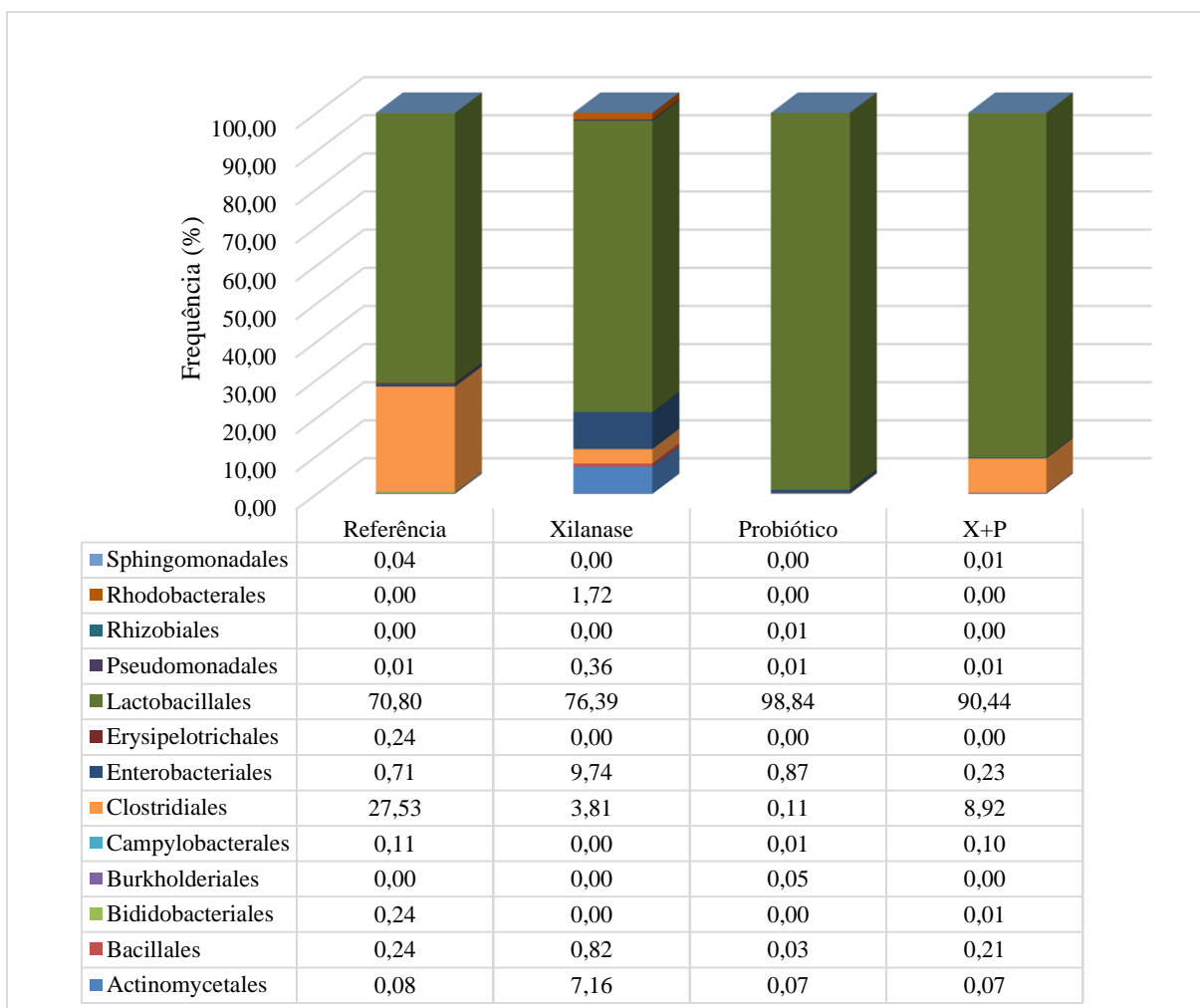


Figura 5. Frequência (%) das Ordens encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

A predominância desta ordem é importante, uma vez que uma gama de microrganismos com potencial probiótico são pertencentes a essa classificação taxônômica. Em relação aos resultados, é possível que a melhoria intestinal ocasionada pela xilanase, a partir da menor viscosidade e possivelmente pela maior liberação de oligossacarídeos no *lumen* intestinal contribuíram para o aumento dos microrganismos desta ordem. Porém, em relação ao uso combinado de xilanase+probiótico, foi possível identificar um valor percentual intermediário em relação a suplementação desses aditivos isoladamente.

Os resultados encontrados corroboram com os achados por Wang et al. (2018) que encontraram que nas amostras da mucosa ileal, *Lactobacillales* foi a ordem mais predominante, enquanto que nas amostras de digesta cecal, foi a *Clostridiales*. Esta ordem é relatada em diversos trabalhos, com diferenciações devido os segmentos intestinais, porém principalmente no ceco. É preciso ressaltar que, como relatado anteriormente, nem toda espécie de bactéria pertencente a esta ordem são patogênicas, Rinttilä e Apajalahti (2013) afirmam que o gênero *Clostridium* é apenas um dos 123 gêneros da ordem *Clostridiales*.

Considerando o próximo táxon (Figura 6), é possível observar que a família predominante foi *Lactobacillaceae* com 55,01% para o tratamento referência, 76,08% tratamento com xilanase, 94,19% para o tratamento com probiótico e 89,01% para tratamento xilanase+probiótico. Seguindo, destacaram-se as famílias *Enterococcaceae* e *Clostridiaceae*,

sendo ambas mais abundantes no tratamento referência (15,75 e 27,51% respectivamente). Esses resultados assemelham-se ao relatado por Fasina et al. (2016) que observaram que as famílias predominantes pós-desafio sanitário incluem *Lactobacillaceae*, *Clostridiaceae* e *Enterococcaceae* no filo *Firmicutes* e *Enterobacteriaceae* no filo de *Proteobacteria*. Já Lu et al. (2003) mostraram a frequência de *Lactobacillus spp.* (70%), *Clostridiaceae* (11%), *Streptococcus spp.* (6.5%), e *Enterococcus spp.* (6.5%).

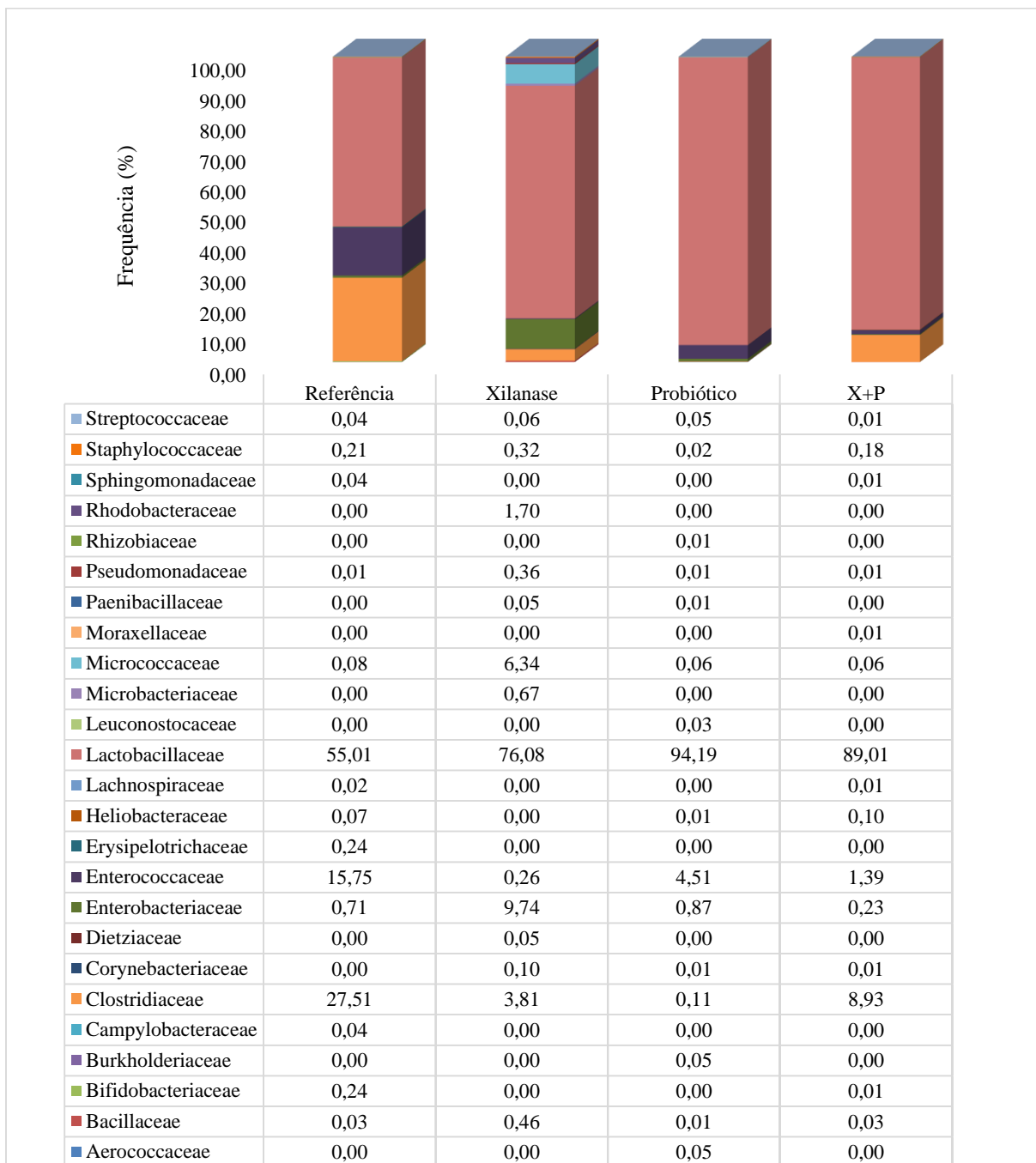


Figura 6. Frequência (%) das Famílias encontradas no fígado dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

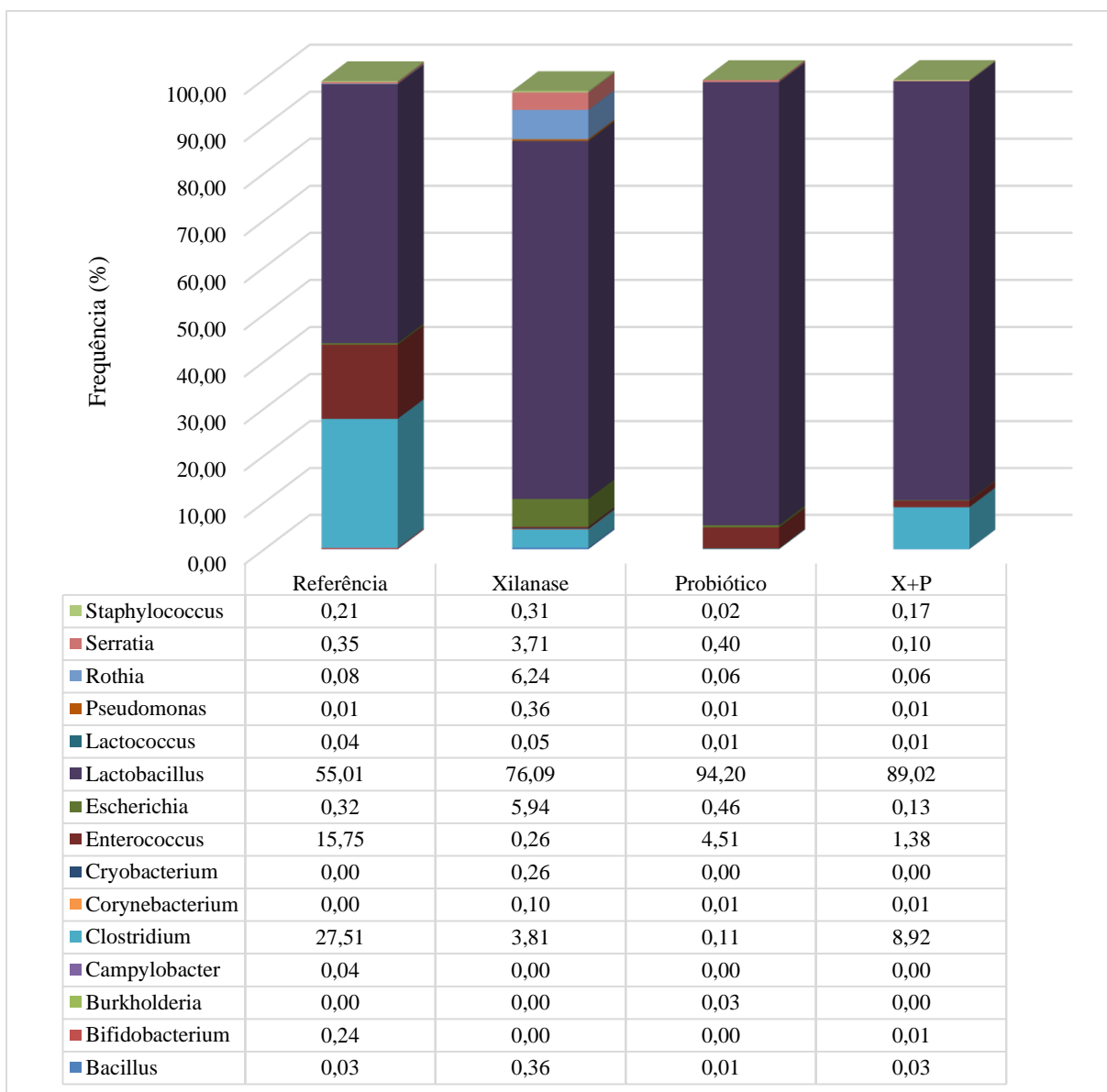


Figura 7. Frequência (%) dos Gêneros encontradas no íleo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

Os gêneros e as espécies mais abundantes estão presentes nas Figuras 7 e 8 respectivamente, os quais foram expostos no gráfico em decorrência deles agruparem mais de 98% dos microrganismos encontrados. Entretanto, para efeito de citação, além dos gêneros mostrados acima, foram observados ainda *Streptococcus*, *Turicibacter*, *Weissella*, *Acinetobacter*, *Blautia*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Dietzia*, *Enterobacter*, *Faecalitalea*, *Globicatella*, *Heliobacter*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Leifsonia*, *Leucobacter*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus*, *Paracoccus*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Shigella*, *Sphingomonas*. Em relação às espécies, foram identificadas um total de 87, sendo que as que não estão descritas na Figura 8 representaram menos de 0,5%.

Analisando o resultado das espécies em conjunto com os táxons mencionados anteriormnete, fica evidente que a espécie *Clostridium ruminantium*, foi a responsável pela maior frequência da ordem *Clostridiales*, cuja presença foi muito superior no tratamento referência.

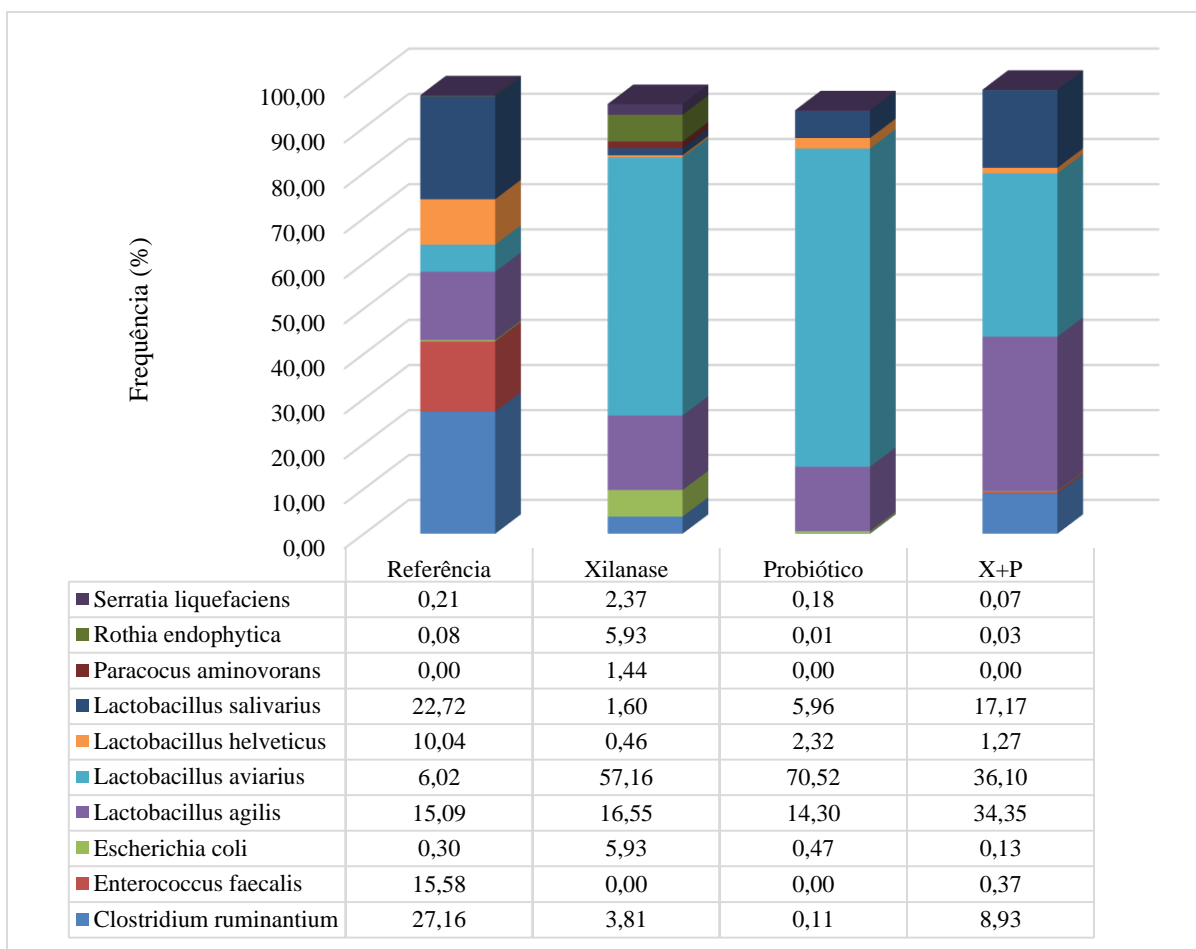


Figura 8. Frequência (%) das espécies encontradas no fêo dos frangos alimentados com xilanase ou probiótico

Esta espécie não é produtora de gás e está muito associada à deteriorização de carnes (BRODA et al., 2000), dessa forma, sua expressiva menção na literatura está ligada a qualidade de produtos de origem animal e não a aspectos nutricionais e suas relações com o ambiente intestinal, o que dificulta uma discussão e possíveis inferências sobre.

Quando houve adição dos aditivos, seja de forma isolada ou combinada, a espécie que mais prevaleceu foi *Lactobacillus aviarius*, com 57,16%, 70,52%, e 36,10% para os tratamentos xilanase, probiótico e xilanase+probiótico respectivamente. Em seguida, foi encontrada a espécie *Lactobacillus agilis* com 16,55%, 14,30% e 34,35% para os tratamentos xilanase, probiótico e xilanase+probiótico respectivamente, em que ambas espécies chegaram a representar 84,82% do valor total para o tratamento com probiótico isolado.

De acordo com Fujisawa et al. (1984) a espécie *L. aviarius* é classificada como bastonetes estritamente anaeróbicos, gram-positiva, não-móvel e sem esporos (coccobacilli), sendo homofermentativa, formam ácido DL-lático, em que estirpes de *L. aviarius* subsp. *aviarius* fermentam rafinose, enquanto cepas de *L. aviarius* subsp. *araffinosus* não consegue fazê-lo.

Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Lan et al. (2004) que estudando os efeitos de duas linhagens probióticas de *Lactobacillus* na microbiota jejunal e cecal de frangos de corte sob condição de estresse térmico agudo, observaram que as cepas probióticas enriqueceram a diversidade de *Lactobacillus* aumentando a abundância e a prevalência no jejuno.

A prevalência de espécies do gênero *Lactobacillus* representa um resultado positivo, mesmo a dieta referência que proporcionou maiores abundâncias de espécies diferentes a esta, apresentou maiores valores de *Lactobacillus salivarius*, em que elas possuem atividade probiótica, acarretando em benefícios ao hospedeiro,

De acordo com Dec et al. (2016) a atividade antimicrobiana das linhagens de *Lactobacillus* estão correlacionada com suas espécies, onde os autores relatam que a atividade antimicrobiana contra todas as cepas patogênicas estudada foi exibida por 92% (34) das cepas de *L. salivarius* e 100% (5) das cepas de *L. plantarum* e as cepas das espécies *L. ingluviei*, *L. johnsonii*, *L. kitasatonis*, *L. mucosae*, *L. oris* e *L. agilis* exibiram fracas propriedades antagonicas, cujo os diâmetros médios das zonas de inibição foram inferiores a 10,6 mm.

Muitas ações estão associadas à atividade antimicrobiana de bactérias, sob diversos mecanismos, sendo que um deles é a sua atividade fermentativa, pois de acordo com Turnbaugh et al. (2006) a fermentação dos PNA's leva à produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) que são metabolizados pelo hospedeiro, contribuindo para a nutrição animal e para a inibição de patógenos sensíveis a ácidos, além da produção de peróxidos de hidrogênio (H₂O₂), que influenciarão na sobrevivência dos microrganismos patogênicos.

Nesse sentido, Heravi et al. (2011) verificaram que o H₂O₂ foi produzido por todas as linhagens de *Lactobacillus* (exceto uma linhagem de *L. reuteri*) isoladas do trato digestivo de frangos de corte, e uma forte produção de H₂O₂ foi observada principalmente nas linhagens de *L. johnsonii*, *L. ingluviei* e *L. agilis*.

Tão logo, é possível inferir, que nos tratamentos com o uso de aditivos, especialmente o tratamento com probiótico isolado, a maior prevalência de bactérias do gênero *Lactobacillus* pode ter acarretada em maiores atividades fermentativas e consequentemente maior geração de ácidos e peróxidos, inibindo crescimento de outros microrganismos.

Em relação à análise de agrupamento de *Cluster*, foi possível observar formação de grupos (Figura 9).

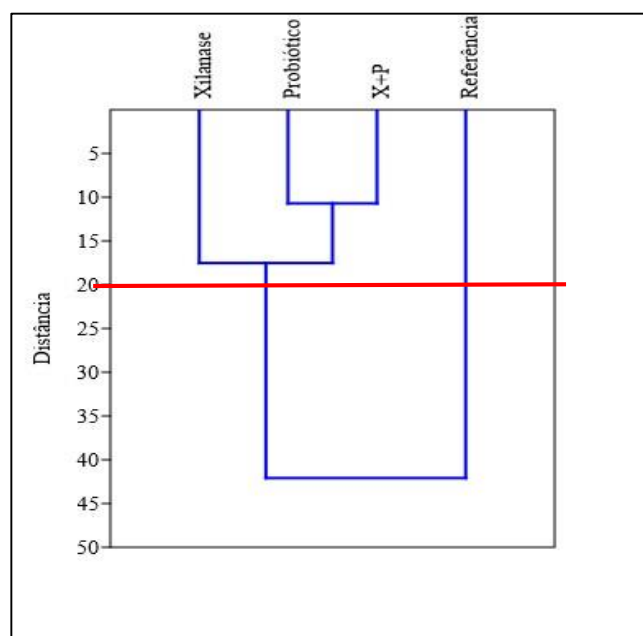


Figura 9. Dendrograma de *Cluster* para microrganismos presentes no íleo de frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

É possível observar que foram formados dois grupos, sendo um compreendido pelo

tratamento referência e o outro pelos demais tratamentos, os quais apresentam similaridades que acarretaram em seus agrupamentos. De maneira geral, observando a modulação da microbiota, é possível caracterizar que o grupo formado pelos tratamentos com o uso dos aditivos foram mais homogêneos ao gênero *Lactobacillus*, sendo possivelmente, uma das razões do agrupamento. Desse modo, percebe-se que os aditivos suplementados isoladamente ou combinadamente apresentaram uma modulação microbiana similar, demonstrando a importância do fornecimento destes em dietas para frangos.

Entretanto, em relação ao grupo com os aditivos, é possível observar que em menores distâncias há formação de dois grupos, compreendido um pelo tratamento com xilanase e outro com probiótico e xilanase+probiótico. Essa configuração pode ser melhor visualizada na Figura 10, em que é possível observar que maiores valores ao componente 2 foram associados ao tratamento referência, ao passo que maiores valores do componente 1 estão associados ao tratamento probiótico.

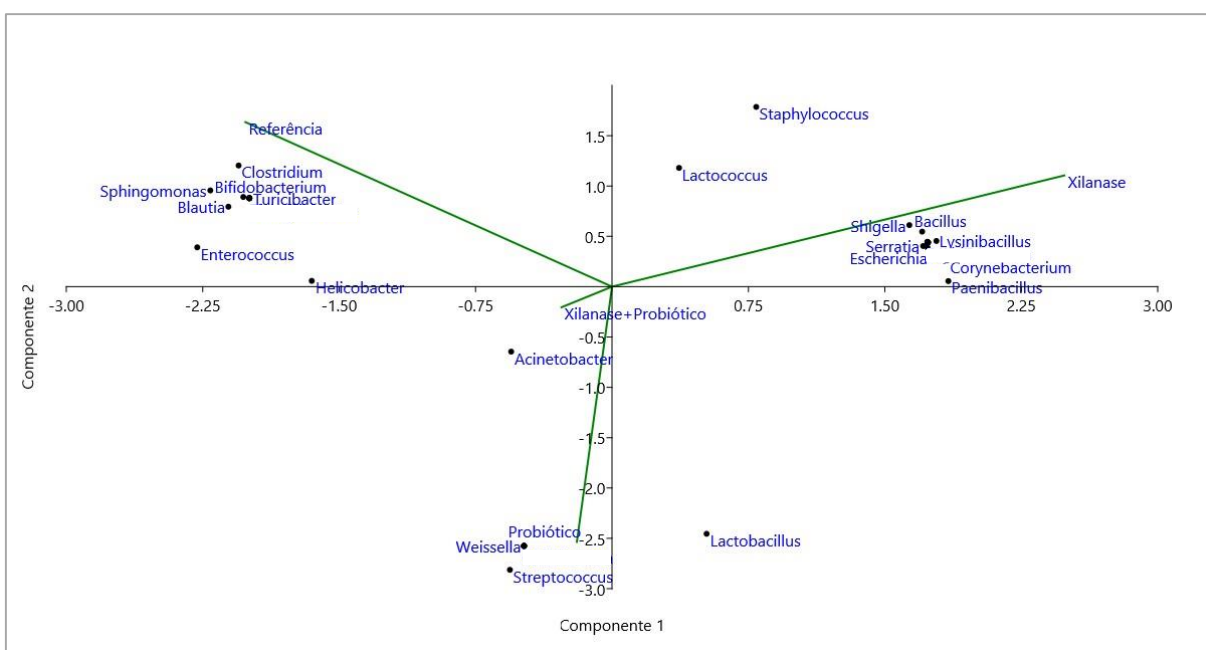


Figura 10. Análise dos componentes principais dos gêneros presentes o íleo de frangos alimentados com xilanase ou probiótico.

Nesta análise é possível verificar uma proximidade entre os tratamentos probiótico e xilanase+probiótico, muito influenciada pela concentração de bactérias *Lactobacillus*, *Weissella* e *Streptococcus*, enquanto que o tratamento com xilanase isoladamente, apresentou proximidade com *Staphylococcus*, *Shigella* e *Lactococcus* dentre outros gêneros. Maiores valores de *Clostridium*, *Sphingomonas* e *Bifidobacterium* estiveram próximos ao tratamento referência.

Toda essa modulação que ocorreu na microbiota ileal em resposta aos tratamentos é fundamental para melhor compreensão do ambiente intestinal e seus reflexos no desempenho, pois estudos mostraram que a composição microbiana no íleo de frangos de corte afeta a função intestinal, a digestão e a absorção de nutrientes (HÜBENER et al., 2002).

4 CONCLUSÕES

Frangos de corte consumindo dietas com os aditivos xilanase e probiótico apresentaram melhores resultados de desempenho. Estes aditivos, isolados ou combinados, afetaram positivamente a viscosidade e o pH intestinal. A xilanase e o probiótico modularam a microbiota intestinal, com diferenças nas frequências bacterianas. As dietas suplementadas com os aditivos resultaram, pela análise de agrupamento, em grupos similares de microbiota.

3 CONCLUSÕES GERAIS

Os aditivos xilanase e probiótico incluídos nas dietas resultaram no aumento do consumo de ração e maior ganho de peso dos frangos. Estes aditivos, isolados ou combinados, afetaram positivamente a viscosidade e o pH intestinal. A xilanase e o probiótico modularam a microbiota intestinal, com diferenças nas frequências bacterianas. As dietas suplementadas com os aditivos resultaram, pela análise de agrupamento, em grupos similares de microbiota. Os resultados positivos do fornecimento de xilanase e probiótico isoladamente foram semelhantes aos obtidos com o fornecimento conjunto destes dois aditivos, não tendo sido comprovado um possível efeito associativo.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-HAFEEZ, H. M.; SALEH, E. S.E.; TAWFEEK, S.S. et al. Effects of probiotic, prebiotic, and synbiotic with and without feed restriction on performance, hematological indices and carcass characteristics of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 5, p. 672-682, 2017.
- ALLEN, H.K.; STANTON, T.B. Altered egos: antibiotic effects on food animal microbiomes. **Annual Review of Microbiology**, v. 68, p. 297– 315, 2014.
- ANAL, A.K.; SINGH, K. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.240-251, 2007.
- APAJALAHTI, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.444-453, 2005.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 2, p. 223–32, 2004.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R.; LIMA, C. B. Uso de Aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- ARCZEWSKA-WLOSEK, A.; SWIATKIEWICZ, S.; BEDERSKA-LOJEWSKA, D. et al. The Efficiency of Xylanase in Broiler Chickens Fed with Increasing Dietary Levels of Rye. **Animals**, n.9, v. 2, p. 46, 2019.
- ARISTIDES, L.G.A.; PAIAO, F.G.; MURATE, L.S.; OBA, A; The effects of biotic additives on growth performance and meat qualities in broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.11, n.9, p.599-604, 2012.
- AWAD, W. A.; GHAREEB, K.; ABDEL-RAHEEM, S.; BÖHM, J. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 88, p. 49–55, 2009.
- BAO, Y. M.; CHOCT, M. Dietary NSP nutrition and intestinal immune system for broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, v.66, n. 3. p. 511-518, 2010.
- BARBARA, P. S.; BRINK, G. R. V.; ROBERTS, D. J. Development and differentiation of the intestinal epithelium. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 60, n. 7, p. 1322–1332, 2003.
- BARBOSA, N. A. A.; BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K. et al. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. **Comunicata Scientiae**, v 5, n. 4 p. 361-369, 2014.
- BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; BONATO, N. A.; HAUSCHILD, L.; OVIEDO-RONDON, E. Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1497-1502, 2012.

BASTAWDE, K. B. Xylan structure, microbial xylanases, and their mode of action. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 8, n. 4, p. 353-368, 1992.

BEDFORD, M.R.; CLASSEN, H. L. An in-vitro assay for prediction of broiler intestinal viscosity and growth when fed rye based diets in the presence of exogenous enzymes. **Poultry Science**, v. 72, p. 137-143, 1993.

BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition: their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, n. 1, p. 01-13, 2000.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H. Exogenous enzymes for pigs and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v. 11, p. 91–114, 1998.

BIELY, P. Microbial xylanolytic systems. **Trends in Biotechnology**, v. 3, n. 11, p. 286-290, 1985.

BJERRUM, L.; PEDERSEN, K.; ENGBERG, R. M. The influence of whole wheat feeding on Salmonella infection and gut flora composition in broilers. **Avian Diseases**, v. 49, n.1, p. 9 – 15, 2005.

BOGUHN, J.; RODEHUTSCORD, M. Effects of non-starch polysaccharide-hydrolyzing enzymes on performance and amino acid digestibility in turkeys. **Poultry Science**, v. 89, n. 3, p. 505-513, 2010.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 13, de 30 de novembro de 2004. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos para Produtos Destinados à Alimentação Animal**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de-2004.pdf/view>> Acesso em: 15/04/2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2015. **Altera os anexos I, II e III da Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-44-de-15-12-2015.pdf/view>> Acesso em 17/04/2017.

BRASIL, R. J. M.; LIMA, C. A. R.; MACHADO, N. J. B.; QUARESMA, D. V.; VIEITES, F. M.; SOUZA, F. D. R. Digestible Lysine Requirements the Performance, Carcass Traits and Breast Meat Quality of Slow-Growing Broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 20, n. 3, p. 555 – 564, 2018.

BRODA, D.M.; SAUL, D.J.; LAWSON, P.A.; BELL, R.G.; MUSGRAVE, D.R. Clostridium gasigenes sp. nov., a psychrophile causing spoilage of vacuum-packed meat. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 1, p. 107–118, 2000.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; CHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 467- 483, 2011.

CAFÉ, M. B.; BORGES, C. A.; FRITTS, C.A.; WALDROUP, P.W. Avizyme improves performance of broilers fed corn-soybean meal-based diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, n. 1, p. 29-33, 2002.

CALDAS, J.V.; SABIR, M. A.; PUTSAKUM, M. ENGLAND, J.A.; COON, C. N. Effect of an Exogenous Protease in Association with Carbohydrases in Broilers Infected with Coccidia. **International Journal of Poultry Science**, v. 15, n. 12, p. 475-486, 2016.

CAO, G.T.; ZENG, X. F.; CHEN, A. G. et al. Effects of a probiotic, *Enterococcus faecium*, on growth performance, intestinal morphology, immune response, and caecal microflora in broiler 12 chickens challenged with *Escherichia coli* K88. **Poultry Science**, v. 92, n. 11, p. 2949- 2955, 2013.

CAPELA, P.; HAY, T. K. C.; SHAH, N. P. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. **Food Research International**, v. 39, n. 2, p. 203-211, 2006.

CASTEELE, S. V.; VANHEUVERZWIN. T.; RUYSSSEN, T. et al. Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 12, p. 1470-1476, 2006.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica Ilustrada**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 533 p.

CHAPMAN, H. D.; CHERRY, T. E.; DANFORTH, H. D.; RICHARDS, G.; SHIRLEY, M. W.; WILLIAMS, R. B. Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 617–629, 2002.

CHEN, C.; HAN, K.; XIAO, F.; ZHANG, W.J. Effects of compound xylanase and celluloses on the growth and slaughter performance of 43~65 days Guangxi partridge chicken. **Feed Industry**, v. 4, p. 38–41, 2018.

CHEN, M.J.; CHEN, K. N. **Applications of probiotic encapsulation in dairy foods**. In: Lakkis JM, editor. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*,. p. 83-107, 2007.

CHENG, G.; HAO, H.; XIE, S. et al. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 1-15, 2014.

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

CLAVIJO, V.; FLÓREZ, M. J. V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p. 1006–1021, 2018.

COCKBURN, D.; W.; KOROPATKIN, N. M. Polysaccharide Degradation by the Intestinal Microbiota and Its Influence on Human Health and Disease. **Jornual of Molecular Biology**, v. 428, n. 16, p. 3230-3252, 2016.

COUDEYRAS, C.; FORESTIER, C. Microbiota and probiotics: effects on human health. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 8, p. 611-650, 2010.

DEC, M.; PUCHALSKI, A.; NOWACZEK, A.; WERNICK, A. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* strains of chicken origin against bacterial pathogens. **International Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 57-67, 2016.

DEL PIANO, M.; CARMAGNOLA, S.; ADORNO, S. et al. Evaluation of the intestinal colonization by microencapsulated probiotic bacteria in comparison with the same uncoated strains. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 44, p. S42-S46, 2010.

DESSIMONI, G.V. ; SAKOMURA, N. K.; DONATO, D.C.Z.; SOARES, L.; SARCINELLI, M.F.; MALHEIROS, E. B.; DALÓLIO, F.S. Growth performance and carcass yield of broiler chickens in response to carbohydrases and its association with phytase. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.3, p.983-989, 2019.

DEY, P.; ROY, A. Molecular structure and catalytic mechanism of fungal family G acidophilic xylanases. **3 Biotech**, v. 8, n. 2, p. 78, 2018.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. The Digestive System: Challenges and Opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13,n. 1, p.86–93, 2004.

DING, W.K.; SHAH, N.P. An improved method of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, M53-61, 2009.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Long-term divergent selection for eight-week body weight in White Plymouth Rock chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 10, p. 1168 – 1179, 1996.

FALAKI, M.; SHARGH, M. S.; DASTAR, B.; ZREHDARAN, S. Effects of different levels of probiotic and prebiotic on performance and carcass characteristics of broiler chickens. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 18, p. 2390 – 2395, 2010.

FERREIRA. D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, F.A.B.; KUSSAKAWA, K.C.K. Probióticos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 16, p. 40-43, 2002.

FASINA, Y. O.; NEWMAN, M. M.; STOUGHT, J. M.; LILES, M. R. Effect of *Clostridium perfringens* infection and antibiotic administration on microbiota in the small intestine of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 95, n. 2, p. 247–260, 2016.

FETISSOV, S. O. Role of the gut microbiota in host appetite control: bacterial growth to animal

feeding behavior. **Nature Reviews | Endocrinology**, v. 13, n. 1, p. 11-25, 2016.

FOOKS, L. J.; GIBSON, G.R. In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. **FEMS Microbiology Ecology**, v.39, p. 67–75, 2002.

FREEMAN, B. M., VINCE, R. L. **Development of the Avian Embryo**. Chapman and Hall, London, 1974.

FUJISAWA, T.; SHIRASAKA, S.; WATABE, J.; MITSUOKA, T. *Lactobacillus aviarius* sp. nov.: A new species isolated from the intestine of chickens. **Systematic and Applied Microbiology** v. 5, n. 3, p. 414-420, 1984.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 66, p. 365-378, 1989.

GADDE, U. D.; O, S. T.; LEE, Y.S. et al. The Effects of Direct-fed Microbial Supplementation, as an Alternative to Antibiotics, on Growth Performance, Intestinal Immune Status, and Epithelial Barrier Gene Expression in Broiler Chickens. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 9, n. 4, p. 397-405, 2017.

GALDEANO, C.M.; PERDIGÓN, G. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. **Journal of Applied Microbiology**, 97, 673–681, 2004.

GBASSI, G. K.; VANDAMME, T. Probiotic encapsulation technology: from microencapsulation to release into the gut. **Pharmaceutics**, v. 4, n. 1, p. 149-63, 2012.

GERARD, P.; BREZILLON, C.; QUERE, F.; SALMON, A.; RABOT, S. Characterization of cecal microbiota and response to an orally administered *Lactobacillus* probiotic strain in the broiler chicken. **Molecular Microbiology**, v. 14, n. 1-3, p. 115–122, 2008.

GEWEHR, C. E.; ROSNIECEK, M.; FOLLMANN, D. D. et al. Complexo multienzimático e probióticos na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.4, p.907-916, 2014.

GIBSON, G. R. *In vitro* investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. **FEMS Microbiology Ecology**, v.39, p. 67–75, 2002.

GOHL, B.; GOHL, I. The effect of viscous substances on the transit time of barley digesta in rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 28, p. 911–915, 1977.

GONZÁLEZ, L.; SANDOVAL,H.; SACRISTÁN, N.; CASTRO, J. M.; FRESNO, J. M.; TORNADIJO, M. E. Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. **Food Control**, v. 18, p. 716–722, 2007.

GRACIA, M. T.; LÁZARO, R. LATORRE, M. A.; MEDEL, P.; ARANÍBAR, M. J.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; MATEOS, G. G. Influence of enzyme supplementation of diets and cooking–flaking of maize on digestive traits and growth performance of broilers from 1 to 21

days of age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, p. 303–315, 2009.

GROBOILLOT, A.F.; CHAMPAGNE, C. P.; DARLING, G. D. Membrane formation by interfacial cross-linking of chitosan for microencapsulation of *Lactococcus lactis*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 42, n. 10, p. 1157-1163, 1993.

GRZEŚKOWIAK, Ł.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, S. et al. Gueimonde Manufacturing process influences properties of probiotic bacteria. **British Journal of Nutrition**, 2010, pp. 1-8, 2010.

HALTRICH, D.; NIDETZKY, B.; KULBE, K.D; STEINER, W.; ZUPANIC, S. Production of fungal xylanases. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 137-161, 1996.

HAN, W.; ZHANG, X. L.; WANG, D. W. Effects of microencapsulated *Enterococcus faecalis* CG1.0007 on growth performance, antioxidation activity, and intestinal microbiota in broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 9, p. 4374-7382, 2013.

HASSAN, H. M. A.; SAMY, A.; AMANI, W. Youssef and M.A. Mohamed. Using Different Feed Additives as Alternative to Antibiotic Growth Promoter to Improve Growth Performance and Carcass Traits of Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 6, p. 255-261, 2018.

HECK, J. X.; SOARES, L. H. B.; HERTZ, P. F.; AYUB, M. A Z. Purification and properties of a xylanase produced by *Bacillus circulans* BL53 on solid-state cultivation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 32, n. 3, p. 179-184, 2006.

HERAVI, R. M.; KERMANSHAHI, H.; SANKIAN, M.; NASSIRI, M. R.; MOUSSAVI, A. H.; NASIRAI, L. R.; VARASTEHE, A. R.. Screening of lactobacilli bacteria isolated from gastrointestinal tract of broiler chickens for their use as probiotic. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, p. 1858-1868, 2011.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G. et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

HINTON JR, A.; CORRIER, D. E.; SPATES, G. E.; NORMAN, J. O.; ZIPRIN, R. L.; BEIER, R. C.; DELOACH, J. R. Biological control of *Salmonella typhimurium* in young chickens. **Avian Diseases**, v.34, p.626–633, 1990.

HIRAMATSU, H.; YASUGI, S. Molecular analysis of the determination of developmental fate in the small intestinal epithelium in the chicken embryo. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 48, n. 10, p. 1141 - 1148, 2004.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 365-373, 2001.

HUANG, L.; LUO, L.; ZHANG, Y. et al. Effects of the Dietary Probiotic, *Enterococcus faecium* NCIMB11181, on the Intestinal Barrier and System Immune Status in *Escherichia coli*

O78-Challenged Broiler Chickens. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 11, n. 3, p. 946-956, 2018.

HUBALEK, Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. **Cryobiology**, v. 46, p. 205–229, 2003.

HÜBENER, K.; VAHJEN, W.; SIMON, O. Bacterial responses to different dietary cereal types and xylanase supplementation in the intestine of broiler chicken. **Archives of Animal Nutrition**, v. 56, p.167–187, 2002.

INATOMI, T.; OTOMARU, K. Effect of dietary probiotics on the semen traits and antioxidative activity of male broiler breeders. **Scientific Reports**, v. 8, n. 5874, 2017.

ITO, N. M. K.; MIYAJI C.I.; LIMA E.A. et al. 2004. **Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais**. In: Mendes A. A. Nääs I. A. Macari M. Produção de Frangos de Corte (Campinas: FACTA). p. 205-260, 2004.

JASEK, A, LATHAM, R, E.; MAÑÓN, A.; LLAMAS-MOYA, S.; ADHIKARI, R.; POURESLAMI, R.; LEE, J. T. Impact of a multicarbohydase containing α -galactosidase and xylanase on ileal digestible energy, crude protein digestibility, and ileal amino acid digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 9, p. 3149–3155, 2018.

JIN, L. Z.; HO, Y. W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, n. 4, p. 351-368, 1997.

JUMPERTZ, R.; LE, D. S.; TURNBAUGH, P. J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 58-65, 2011.

KALAVATHY, R.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S.; HO, Y. W. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 44, p. 139–144, 2003.

KERS, J.; VELKERS, F. C.; FISCHER, E. A. J.; HERMES, G. D. A.; STEGEMAN, J. A.; SMIDT, H. Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 235, 2018.

KIM, B.H.; KIM, S.; KIM, H. G.; LEE, J.; LEE, I. S.; PARK, Y. K. The formation of cyclopropane fatty acids in Salmonella enterica serovar Typhimurium. **Microbiology**, v. 151: 209–218, 2005.

KING, A. H. **Encapsulation of food ingredients: a review of available technology, focusing on hydrocolloids**. S.J. Risch, G.A. Reineccius (Eds.), Encapsulation and controlled release of food ingredients, American Chemical Society, Washington DC pp. 213-220, 1995.

KOSIN, B.; RAKSHIT, K. Microbial and Processing Criteria for Production of Probiotics: A Review. **Food Technology Biotechnology**, v. 44, n.3, p. 371–379, 2006.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 1, p. 3-13, 2003.

LAN, P. T. N.; HAYASHI, H.; SAKAMOTO, M.; BENNO, Y. Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16S rDNA clone libraries. **Microbiology and Immunology**, v. 46, p. 371–382, 2002.

LAN, P. T. N.; SAKAMOTO, M.; BENNO, Y. Effects of Two Probiotic Lactobacillus Strains on Jejunal and Cecal Microbiota of Broiler Chicken under Acute Heat Stress Condition as Revealed by Molecular Analysis of 16S rRNA Genes. **Microbiology and Immunology**, v. 48, n. 12, p. 917–929, 2004.

LAN, R.; LI, T.; KIM, L. Effects of xylanase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters, fecal microbiota, fecal score and fecal noxious gas emission of weaning pigs fed corn-soybean meal-based diet. **Animal Science Journal**, v. 88, n. 9, p. 1398–1405, 2017.

LATORRE, J.D.; HERNANDEZ-VELAZCO, X.; KUTTAPPAN, V. A.; WOLFENDEN, R.; VICENTE, J. L.; WOLFENDEN, A.; BIELKE, L.; PRANDO, O.; MORALES, E.; HARGIS, B.M. & TELLEZ, G. Selection of Bacillus spp. for Cellulase and Xylanase Production as Direct-Fed Microbials to Reduce Digesta Viscosity and Clostridium perfringens Proliferation Using an in vitro Digestive Model in Different Poultry Diets. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 2, p. 1-8, 2015a.

LATORRE, J.D.; HERNANDEZ-VELAZCO.; BIELKE, J. L. et al. Evaluation of a Bacillus direct-fed microbial candidate on digesta viscosity, bacterial translocation, microbiota composition and bone mineralisation in broiler chickens fed on a ryebased diet. **British Poultry Science**, v. 56, n. 6, p.723 – 732, 2015b.

LAURENTI, E. **Materiais encapsulantes naturais na obtenção de esfera de S, cerevisiae para incorporação em ração extrusada de frangos de corte**. 2011. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

LEE, S. A.; APAJALAHTI, J.; VIENOLA, K. et al. Age and dietary xylanase supplementation affects ileal sugar residues and short chain fatty acid concentration in the ileum and caecum of broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 234, p. 29-42, 2017.

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H. S.; DALLOUL, R. A.; PARK, D. W.; HONG, Y. H.; LIN, J. J. Influence of Pediococcus-Based Probiotic on Coccidiosis in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 86, n. 1, p. 63–66, 2007.

LEEDLE, J. Probiotics and DFMs - mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2000. p. 25-40.

LEI, K.; LI, Y. L.; YU, D. Y. et al. Influence of dietary inclusion of Bacillus licheniformis on laying performance, egg quality, antioxidant enzyme activities, and intestinal barrier function of laying hens. **Poultry Science**, v. 92, p. 2389–2395, 2013.

LI, K.; AZADI, P.; COLLINS, R.; TOLAN, J.; KIM, J.S.; ERIKSSON K.E.L. Relationships between activities of xylanases and xylan structures. **Enzyme Microbiol Technology**, v. 27, n. 1-2, p. 89-94, 2000.

LODDI, M.M.; MARAES, V.M.B.; NAKAGHI, I.S.O. et al. **Mannan oligosaccharide and organic acids on performance and intestinal morphometric characteristics of broiler chickens**. In: Proceedings of the 20th Annual Symposium on Computational Geometry; June 2004; Brooklyn, NY, USA. p. 45.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.; J.; LEE, M. D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.6816–6824, 2003.

LUEGAS, J. A. P.; ALBINO, J. T.; TABERNARI, F. et al. Efeito da adição de probióticos na dieta sobre digestibilidade ileal da matéria seca e da proteína de frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 1-5, 2015.

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. **Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Campinas: FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, p. 113-124, 2002.

MAJIDI-MOSLEH, A. SADEGHI, A. A.; MOUSAVI, S. N. et al. Ileal MUC2 gene expression and microbial population, but not growth performance and immune response, are influenced by in ovo injection of probiotics in broiler chickens. **Journal British Poultry Science**, v. 58, n. 1, p. 40-45, 2017.

MANAFI, M.; HAEDAYATI, M.; MIRZAIIE, S. Probiotic *Bacillus* species and *Saccharomyces boulardii* improve performance, gut histology and immunity in broiler chickens. **South African Journal of Animal Science**, v. 48, n. 2, 2018.

MANNION, P. F., Enzyme supplementation of barley based diets for broiler chickens. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, v.21, n. 110, p. 296-302, 1981.

MANSOUB, N. H. Effect of probiotic bacteria utilization on serum cholesterol and triglycerides contents and performance of broiler chickens. **Global Veterinary**, v. 5, p. 184-186, 2010.

MARCON, M. E. **Desenvolvimento de um meio de cultivo econômico para a produção de probióticos como aditivos zootécnicos**. Mestrado. 124p. (Mestre em Microbiologia). Universidade estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, São Paulo, 2010.

MATIAS, C. F. Q.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A. et al. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.2, p.492-498, 2015.

MOFTAKHARZADEH, S. A.; MORAVEJ, H.; SHIVAZAD, M. Effect of using the Matrix Values for NSP-degrading enzymes on performance, water intake, litter moisture and jejunal

digesta viscosity of broilers fed barley-based diet. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 39, n. 1, p. 65-72, 2017.

MORETTI, A. GAMBA, R. R.; PUPPO, J. et al. Incorporation of *Lactobacillus plantarum* and zeolites in poultry feed can reduce aflatoxin B1 levels. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n.1, p. 431-436, 2018.

MORGADO, H. S. **Produção e caracterização de amilase do fungo aspergillus awamori e sua utilização em dietas para frangos de corte**. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás. 2013.

MORISHITA, Y.; MITSUOKA, T.; KANEUCHI, C.; YAMAMOTO, S.; OGATA, M. Specific establishment of lactobacilli in the digestive tract of germ-free chickens. **Japanese Journal of Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 531 – 538, 1971.

MUDROŇOVÁ, D.; NEMCOVÁ, R.; LAUKOVÁ, A. et al. Effect of *Lactobacillus fermentum* alone, and in combination with zinc (II) propionate on *Salmonella enterica* serovar Düsselndorf in Japanese quails. **Biologia**, v. 61, n. 6, p.797–801, 2006.

MUJNISA, A.; GUSTINA, L.; NATSIR, A.; HASAN, S. Dosage Effects of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 2 as a Probiotic on the Percentage of Carcass, Abdominal Fat Content and Cholesterol Level in Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 17 n. 2, p. 100-105, 2018.

NAHASHON, S.N.; NAKAUE, H. S; MIROSH, L.W. Effect of direct-fed microbials on nutrient retention and production parameters of Single Comb White Leghorn pullets. **Poultry Science**, v.72 (Suppl. 2): 87, 1993.

NAYEBPOR, M. Effects of different levels of direct fed microbial (Primalac) on growth performance and humoral immune response in broiler chickens. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, p. 1308–1313, 2007.

NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 23, n. 2, p. 182-186, 2012.

NIVOLIEZ, A.; CAMARAES, O.; PAQUET-GACHIMAT, M. et al. Influence of manufacturing processes on in vitro properties of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35®. **Journal of Biotechnology**, v. 160, n. 3-4, p. 236-241, 2012.

NUSAIRAT, B.; MCNAUGHTON, J.; TYUS, JAMES.; WANG, JENG-JIE. Combination of Xylanase and *Bacillus* Direct-fed Microbials, as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters, Improves Live Performance and Gut Health in Subclinical Challenged Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 8, p. 362-366, 2018.

O'SHEA, C. J.; MC ALPINE, P. O.; SOLAN, P. et al. The effect of protease and xylanase enzymes on growth performance, nutrient digestibility, and manure odour in grower–finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 189, 88-97, 2014.

OAKLEY, B. B.; LILLEHOJ, H. S.; KOGUT, M. H.; KIM, W. K.; MAURER, J. J.; PEDROSO, A.; LEE, M. D.; COLLETT, S. R.; JOHNSON, T. J.; COX, N. A. The chicken

gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, v. 360, n. 2. p. 100–112, 2014.

OH, J. K.; PAJARILLO, E. A. B.; CHAE, J. P. et al. Effects of *Bacillus subtilis* CSL2 on the composition and functional diversity of the faecal microbiota of broiler chickens challenged with *Salmonella Gallinarum*. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n.1, 2017.

OHIMAIN, E. I.; OFONGO, R. T. S. The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: A review. **International Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 4, p. 135-143, 2012.

OLIVEIRA, E. E.; SILVA, E. E.; JUNIOR, T. N., GOMES, M. C.; AGUIAR, L. M.; MARCELINO, H. R.; ARAÚJO, I. B.; BAYER, M. P.; RICARDO, N. M.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14. p. 5402–5406, 2010.

PACK, M.; BEDFORD, MM.; WYATT, C. Feed enzymes may improve corn sorghum diets. **Feedstuffs**, v. 2, p. 18-19, 1998.

PÄES, G.; BERRIN, J.; BEAUGRAND, J. GH11 xylanases: Structure/function/properties relationships and applications. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 564 – 592, 2012.

PELICANO, E. G. L., SOUZA, P.A.; SOUZA, H. A. A. et al. Morfometria e Ultra-Estrutura da Mucosa Intestinal de Frangos de Corte alimentados com Dietas contendo diferentes Probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências veterinárias**, v. 98, n. 547, p. 122-134, 2003.

PONCELET, D.; DREFFIER, C. **Les méthodes de microencapsulation de A à Z** (ou presque) T. Vandamme, D. Poncelet, P. Subra-Paternault (Eds.), Microencapsulation: des Sciences aux Technologies, Ed. Tec & doc, Paris, pp. 23-33, 2007.

PRADO-REBOLLEDO, O.F.; DELGADO-MACHUCA, J. J.; MACEDO-BARRAGAN. et al. Evaluation of a selected lactic acid bacteriabased probiotic on *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization and intestinal permeability in broiler chickens. **Journal Avian Pathology**, v. 46, n. 1, 2017.

PRAES, M. F. F. M.; LUCAS JUNIOR, J.; ORRICO, A. C. A. et al. Biogas production: litter from broilers receiving direct-fed microbials and an enzyme blend. **Scientia Agricola**, v. 73, n. 5, 2016.

PRAES, M. F. F. M. **Probiótico e enzimas em dietas de frangos de corte: desempenho, características da cama e excretas e produção de biogás**. 2013. 168 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

PRAES, M. F. F. M.; LUCAS JUNIOR, J.; DUARTE, K. F. et al. Reduced Nutrient Excretion and Environmental Microbial Load with the Addition of a Combination of Enzymes and Direct-Fed Microbials to the Diet of Broiler Chickens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18, n.1, 2016.

QU, A.; BRULC, J. M.; WILSON, M. K.; LAW, B. F.; THEORET, J. R.; JOENS, L. A.; KONKEL, M. E.; ANGLY, F.; DINSDALE, E. A.; EDWARDS, R. A.; Comparative metagenomics reveals host specific metavirolomes and horizontal gene transfer elements in the

chicken cecum microbiome. **PLoS One**, 3: e2945, 2008.

RAFAEL, J. M. **Efeitos de níveis de treonina e aditivo fitogênico na ração sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos desafiados com *Eimeria* spp.** Dissertação. 68p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. S. et al. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.8, p.1738-1744, 2011.

RAVN, J. L.; GLITSØ, V.; PETERSSON D. et al. Combined endo- β -1,4-xylanase and α -l-arabinofuranosidase increases butyrate concentration during broiler cecal fermentation of maize glucurono-arabinoxylan. **Animal Feed Science and Technology**, v. 236, p. 159-169, 2018.

REIS, M. P.; FASSANI, E. J.; JUNIOR GARCIA, A. A. P.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G.; BARRET, N.; PERSIA, M. E.; SCHIMIDT C. J. Effect of *Bacillus subtilis* (DSM 17299) on performance, digestibility, intestine morphology, and pH in broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 26, n. 4, p.573–583, 2017

RENNIE, E. A.; SCHELLER, H. V. Xylan biosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 100–107, 2014.

RIDLON, J.M. KANG, D. J.; HYLEMON, P. B. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. **The Journal of Lipid Research**, v. 47, n. 2, p. 241-259, 2006.

RINTTILÄ, T.; APAJALAHTI, J. Intestinal microbiota and metabolites—Implications for broiler chicken health and performance. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n. 3, p. 647–658, 2013.

RODKLONGTAN, A.; LA-ONGKHAM, O.; NITISINPRASERT, S.; CHITPRASERT, P. Enhancement of *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 survival in broiler gastrointestinal tract by microencapsulation with alginate-chitosan semi-interpenetrating polymer networks. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 1, p. 227-38, 2014.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Organic acids as feed additives for Young pigs: nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal and Feed Science**, n.8, p. 25-33, 1998.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** 4a Ed, 2017.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB yoghurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 50, p. 51-57, 1995.

SALIH, M. E.; CLASSEN, H. L.; CAMPBELL, G. L. Response of chickens fed on hull-less barley to dietary β -glucanase at different ages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 33, p. 139–149, 1991.

- SAMUEL, B.S.; SHAITO, A.; MOTOIKE, T. et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 16767-16772, 2008.
- SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSIER, A. M. et al. Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 3, 2012.
- SANTOSO, U.; TANAKA, K.; OHTANIA, S. Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. **British Journal of Nutrition**, v. 74, p. 523–529, 1995.
- SELMER-OLSEN, E; SØRHAUG, T.; BIRKELAND, S.E.; PEHRSON, R. Survival of *Lactobacillus helveticus* entrapped in Ca-alginate in relation to water content, storage and rehydration. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 23, p. 79-85, 1999.
- SHAH, M.; ZANEB, H.; MASOOD, S. et al. Effect of Dietary Supplementation of Zinc and Multi-Microbe Probiotic on Growth Traits and Alteration of Intestinal Architecture in Broiler. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 11, n. 3, p. 931-937, 2019.
- SHEU, T.Y.; MARSHALL, R.T. Improving culture viability in frozen dairy desserts by microencapsulation. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 107, 1991.
- SIEO, C. C.; ABDULLAH, N.; TAN, W. A.; HO, Y.W. Influence of β -Glucanase-Producing *Lactobacillus* Strains on Intestinal Characteristics and Feed Passage Rate of Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 84, p. 734–741, 2005.
- SKLAN, D.; NOY, Y. Catabolism and deposition of amino acids in growing chicks: effect of dietary supply. **Poultry Science**, v. 83, n. 6, p. 952 – 961, 2004.
- SOUZA, L. F. A.; ARAÚJO, D. N.; STEFANI, L. M. et al. Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v. 50, p. 35-41, 2018.
- STEF, L.; CEAN, A.; JULEAN, C.; ELIZA, S. Influence of Additional Level of Probiotics on Intestinal Microbiota in Broiler Chickens. **Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies**, v. 50, n.2, p. 34-40, 2017.
- SUN, Y.; RAJUPT, I. R.; ARAIN, M. A. et al. Oral administration of *Saccharomyces boulardii* alters duodenal morphology, enzymatic activity and cytokine production response in broiler chickens. **Animal Science Journal**, v. 88, n. 8, p. 1204-1211, 2016.
- TOROK, V. A.; HUGHES, R. J.; OPHEL-KELLER, K.; ALI, M.; MACALPINE, R. Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 88, n. 12, p. 2474–81, 2009.
- TURNBAUGH, P.J.; LEY, R.E.; MAHOWALD, M.A.; MAGRINI, V.; MARDIS, E.R.; GORDON, J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, p. 1027– 1031, 2006.

- UNI, Z.; TAKO, E.; GAL-GARBER, O.; SKLAN, D. Morphological, molecular and functional changes in the chicken small intestine of the late term embryo. **Poultry Science**, v. 82, n. 11. p. 1747 - 1754, 2003.
- VALADARES, C. G.; SANTOS, J. S.; LÜDKE, M.CM.M. et al. Determinação da energia metabolizável do farelo residual do milho com e sem enzima em dietas para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 3, p. 748-754, 2016.
- VANDEPLAS, S. et al. Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances, microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella Typhimurium*. **Poultry Science**, v. 88, n.8, p. 1586–1593, 2009.
- VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.; BAILO, N. Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurths during refrigerated storage. **Food Research International**, v. 33, p. 97-102, 2000.
- WAKABAYASHI, K. Changes in Cell Wall Polysaccharides During Fruit Ripening. **Journal of Plant Research**, v. 113, n. 3, p. 231-237, 2000.
- WANG, H.; NI, X.; QING, X. et al. Probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 Improves Blood Parameters Related to Immunity in Broilers Experimentally Infected with Subclinical Necrotic Enteritis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 49, 2018a.
- WANG, Y.; DONG, Z.; SONG, D. et al. Effects of microencapsulated probiotics and prebiotics on growth performance, antioxidative abilities, immune functions, and caecal microflora in broiler chickens. **Food and Agricultural Immunology**, p. 1-13, 2018b.
- WEI, S.; MORRISON, M.; YU, Z. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. **Poultry Science**, v.92, n. 3, p. 671 – 683, 2013.
- WEN-CHAO, L.; I KIM, IN-HO. Effects of dietary xylanase supplementation on performance and functional digestive parameters in broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v. 96, n. 3, 1, p. 566–573, 2017.
- WISHART, D.S. Metabolomics:a complementary tool in renal transplantation. **Contributions to Nephrology**, v. 160, p. 76-87, 2008.
- YEOMAN, C.J.; CHIA, N.; JERALDO, P.; SIPOS, M.; GOLDENFELD, N. D.; WHITE, B. A. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. **Animal Health Research Reviews**, v. 13, n. 1, p. 89 – 99, 2012.
- YNTEMA, C.; HAMMOND, W. S. The origin of intrinsic ganglia of trunk viscera from vagal neural crest in the chick embryo. **Journal of Comparative Neurology**, v. 101, n. 12, p. 515–541, 1954.
- YU, B.; LIU, J.R.; HSIAO, F. S.; CHIOU, P. W. S. Evaluation of *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain expressing heterologous α -glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, p. 82–91, 2008.

ZHANG, L.; L. ZHANG, X.; Zeng, L.; Zhou, G.; C.; YANG, C. Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 26, n. 7, p. 3. 2016.

ZHOU, M.; ZENG, D.; NI, X. et al. Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth performance and expression of lipid metabolism-related genes in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. **Lipids Health Disease**, v.8, p. 15-48, 2016.