



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CÍCERO JORGE DE MEDEIROS

**SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA EM DIETAS COM REDUÇÃO NUTRICIONAL
PARA LEITÕES NA FASE INICIAL**

AREIA

2023

CÍCERO JORGE DE MEDEIROS

**SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA EM DIETAS COM REDUÇÃO NUTRICIONAL
PARA LEITÕES NA FASE INICIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia da
Universidade Federal da Paraíba, como
parte das exigências para obtenção do título
de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal (Orientador)
Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez (Coorientadora)
Dr. Ricardo Romão Guerra (Coorientador)

AREIA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M488s Medeiros, Cícero Jorge de.

Suplementação enzimática em dietas com redução
nutricional para leitões na fase inicial / Cícero Jorge
de Medeiros. - Areia:UFPB/CCA, 2023.
54 f. : il.

Orientação: Leonardo Augusto Fonseca Pascoal.
Coorientação: Patrícia Emília Naves Givisiez,
Ricardo Romão Guerra.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Fitase. 3. Incidência de diarreia.
4. Leitão desmamado. 5. Xilanase. I. Pascoal, Leonardo
Augusto Fonseca. II. Givisiez, Patrícia Emília Naves.
III. Guerra, Ricardo Romão. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA EM DIETAS COM REDUÇÃO NUTRICIONAL PARA LEITÕES NA FASE INICIAL”.

AUTOR: Cícero Jorge de Medeiros

J U L G A M E N T O

Examinadores	Conceito	Assinatura
Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal Presidente	<i>Aprovado</i>	
Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Moreira Filho 1º Examinador	<i>APROVADO</i>	
Prof. Dr. Rennan Herculano Rufino Moreira 2º Examinador	<i>Aprovado</i>	

Areia, 27 de julho de 2023

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Presidente

A T E S T A D O D O O R I E N T A D O R

Atesto que foram realizadas todas as correções sugeridas pela Comissão Examinadora, consideradas por mim pertinentes, responsabilizando-me integralmente pelo conteúdo desta dissertação.

Areia, ____ de _____ de ____

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Orientador

DEDICO

Aos meus pais Aparecida Maria da Silva Medeiros e Geraldo Rodrigues de Medeiros, aos meus irmãos José Aparecido de Medeiros, Maria Gerlânia da Silva Medeiros, Jerffeson Ryan Rodrigues de Medeiros e Jair Rodrigues de Medeiros. Aos meus sobrinhos Miguel Arthur Medeiros de Almeida, Maria Alice de Medeiros Almeida e Elias de Medeiros Serafim. Aos meus Avós (*in memorian*). Gratidão por toda ajuda, amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo o dom da vida e por me conceder saúde, paz e esperança nos momentos mais difíceis, e sempre ouvir as minhas orações.

Aos meus pais Aparecida Maria da Silva Medeiros e Geraldo Rodrigues de Medeiros por me ensinar muitos princípios e valores que foram, são e serão empregados no decorrer da minha vida.

A Leonardo Pereira Bezerra por todo companheirismo, paciência e carinho sempre me incentivando nos meus sonhos.

Ao meu orientador, prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, pela orientação e conhecimento transmitidos, confiança depositada, e principalmente pelo carinho, respeito, conselhos e palavras de apoio, durante todo o período em que fui seu orientando.

Aos meus colegas do Núcleo de Estudos em Suínos e Coelhos (NESC), a todos os funcionários e alunos que do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA-UFPB) campus Bananeiras, que contribuíram de forma direta ou indireta. Aos meus colegas e amigos da Pós-Graduação em Zootecnia, do campus II.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus coorientadores, prof. Dr. Ricardo Romão Guerra e Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez, por toda contribuição.

Aos professores examinadores, pela disponibilidade, atenção e contribuições dedicadas a este trabalho. A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Campus II - Areia/UFPB.

Aos meus amigos de Princesa Isabel- PB que mesmo distantes se fizeram presentes.

Por fim a todas as pessoas que, direta ou indiretamente colaboraram com a realização deste trabalho.

A TODOS VOCÊS MEUS SINCEROS E SINGELOS AGRADECIMENTOS.

RESUMO

Objetivou-se avaliar a suplementação enzimática em dietas com redução nutricional para leitões na fase inicial. Foram utilizados 40 leitões, machos e fêmeas, de linhagem comercial biriba's, desmamados aos 26 dias de idade com peso médio inicial de $7,85 \pm 1,27$ kg. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados e (DBC) para controlar diferenças no peso inicial em esquema fatorial (2X2), com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram dispostos da seguinte forma: DCP – Dieta controle positivo; DCPE -Dieta controle positivo com complexo enzimático; DCN Dieta com redução nutricional; DCNE – Dieta com redução nutricional com complexo enzimático. Não houve efeito de interação ($P > 0,05$) para as variáveis de desempenho, no entanto, houve efeito da dieta e da suplementação enzimática nos períodos II e III, a redução nutricional aumentou o consumo diário de ração e afetou negativamente a conversão alimentar, nos dois períodos. A suplementação enzimática afetou negativamente o ganho de peso e a conversão alimentar no período III. Houve menor incidência de diarreia no primeiro período em animais alimentados com a dieta DCN quando comparada com DCP. Não houve influência das dietas nos parâmetros bioquímicos séricos avaliados, aos 42 e 60 dias de idade. Houve efeito da dieta com redução nutricional (DCN) para teor fósforo no sangue aos 42 dias de idade. Verificou-se redução nos coeficientes de digestibilidade de matéria mineral e do fósforo quando os animais receberam a dieta com redução nutricional, para os coeficientes de fibra de detergente neutro e fibra de detergente ácido foram melhorados com a suplementação enzimática. Ocorreu interação dos fatores sobre o peso do fígado e pâncreas, de tal forma que a dieta DCNE proporcionou menor peso dos órgãos. Não houve influência das dietas experimentais sobre os parâmetros ósseos analisados. Nos parâmetros morfológicos do epitélio intestinal observou-se que a redução nutricional afetou negativamente a altura de vilosidades e área absorptiva. Conclui-se que a redução nutricional das dietas afetou negativamente os leitões e que a suplementação enzimática (fitase e xilanase) não foi suficiente para o desafio nutricional.

Palavras-chave: fitase; incidência de diarreia; leitão desmamado; xilanase.

ABSTRACT

The objective was to evaluate enzyme supplementation in nutritionally reduced diets for piglets in the initial phase. 40 piglets, males and females, from the commercial Biriba's line, were used, weaned at 26 days of age with an initial average weight of 7.85 ± 1.27 kg. The animals were distributed in a randomized block design and (DBC) to control differences in initial weight in a factorial scheme (2X2), with four treatments and five replications. The treatments were arranged as follows: DCP – Positive control diet; DCPE - Positive control diet with enzyme complex; DCN Diet with nutritional reduction; DCNE – Diet with nutritional reduction with enzyme complex. There was no interaction effect ($P > 0.05$) for the performance variables, however, there was an effect of diet and enzyme supplementation in periods II and III, nutritional reduction increased daily feed consumption and negatively affected feed conversion, in both periods. Enzyme supplementation negatively affected weight gain and feed conversion in period III. There was a lower incidence of diarrhea in the first period in animals fed the DCN diet when compared to DCP. There was no influence of the diets on the serum biochemical parameters evaluated at 42 and 60 days of age. There was an effect of the nutritionally reduced diet (DCN) on blood phosphorus content at 42 days of age. There was a reduction in the digestibility coefficients of mineral matter and phosphorus when the animals received the diet with nutritional reduction, while the neutral detergent fiber and acid detergent fiber coefficients were improved with enzyme supplementation. There was an interaction of factors on the weight of the liver and pancreas, such that the DCNE diet provided lower organ weight. There was no influence of the experimental diets on the analyzed bone parameters. In the morphological parameters of the intestinal epithelium, it was observed that nutritional reduction negatively affected the villi height and absorptive area. It is concluded that the nutritional reduction in diets negatively affected the piglets and that enzyme supplementation (phytase and xylanase) was not sufficient for the nutritional challenge.

Keywords: phytase; incidence of diarrhea; weaned piglet; xylanase.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Efeito da redução nutricional de dietas com adição ou não de complexo enzimático (Fitase e Xilanase) sobre a incidência de diarreia de leitões desmamados. O escore fecal indica a tendência à diarreia: 1- normal; 2- pastoso; 3- líquido. DCP- Dieta controle mais Complexo enzimático; DCN- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz da Spectrum); DCNE- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz da Spectrum) mais Complexo enzimático. ^{A,B}- Letras distintas diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 27
- Figura 2** - Efeito da redução nutricional de dietas com adição ou não de complexo enzimático (Fitase e Xilanase) sobre o glicogênio hepático. DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle mais Complexo enzimático; DCN- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz Spectrum) mais complexo enzimático 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição centesimal e nutricional das dietas de acordo com os tratamentos experimentais.....	18
Tabela 2 - Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com dietas sem e com redução nutricional e suplementação com complexo (fitase e xilanase)	25
Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos séricos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase) aos 42 dias de idade	28
Tabela 4 - Parâmetros bioquímicos séricos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase) aos 60 dias de idade	29
Tabela 5 - Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e energia das dietas sem e com redução nutricional e suplementação com complexo (fitase e xilanase)	30
Tabela 6 - Peso relativo de fígado, pâncreas e baço de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)	31
Tabela 7 - Parâmetros ósseos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)	32
Tabela 8 - Morfologia do epitélio duodenal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)....	33
Tabela 9 - Morfologia do epitélio jejunal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)	33
Tabela 10 - Morfologia do epitélio ileal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Desafio nutricional de leitões desmanados	11
2.2 Enzimas Exógenas	13
2.3 Fitase	14
2.4 Xilanase	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Animais, instalações e dietas experimentais	17
3.2 Desempenho produtivo	19
3.3 Incidência de diarreia	19
3.4 Parâmetros bioquímicos séricos	19
3.5 Digestibilidade dos nutrientes, energia e disponibilidade de minerais	20
3.6 Eutanásia dos animais	21
3.7 Parâmetros ósseos	22
3.8 Morfometria intestinal	22
3.9 Glicogênio hepático	23
3.10 Análise estatística	24
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

No ciclo produtivo de suínos, o desmame é marcado por mudanças sociais, ambientais e nutricionais. Estas alterações podem diminuir o consumo de ração, principalmente na primeira semana, afetando processos metabólicos e fisiológicos do organismo animal, com reflexos negativos sobre os parâmetros de desempenho.

A comunidade científica e as empresas de nutrição e produção de suínos regularmente sugerem estratégias que visam minimizar o impacto do desmame sobre os leitões, incluindo o desmame de animais com boa condição imunológica, adequação do ambiente onde os animais são alojados e fornecimento de dietas constituídas de alimentos com alta digestibilidade e suplementadas com aditivos (JI et al., 2021).

O uso de enzimas exógenas configura-se como alternativa para melhorar o valor nutricional de ingredientes com baixa digestibilidade e significativa fração de polissacarídeos não-amiláceos e / ou fatores antinutricionais, que não são hidrolisados por enzimas digestivas de suínos (HOGBERG e LINDBERG, 2006; ORTIZ et al., 2020). A suplementação enzimática em dietas com níveis nutricionais reduzidos pode trazer mesmo ganho de peso e conversão alimentar de dietas contendo níveis nutricionais de acordo com as exigências, as dietas com redução nutricional e suplementadas com complexo enzimático tem como vantagem de redução excreção de poluentes nas fezes e na urina (RUIZ, 2008).

Além dos aspectos mencionados, é necessário a utilização de alternativas nutricionais para reduzir os efeitos negativos causados pelas dietas no período pós-desmame acarretado nos leitões. O uso de enzimas exógenas vem sendo recomendado como alternativa com potencial para melhorar o crescimento de leitões na fase inicial. Dietas adicionada de enzimas exógenas podem auxiliar na digestão da matriz complexa de ingredientes, especialmente aqueles de origem vegetal, podendo preencher o déficit do trato gastrointestinal até que o organismo do animal consiga desenvolver a capacidade de produzir enzimas em quantidade satisfatória (TORRES-PITARCH et al., 2017).

A matriz complexa de ingredientes das dietas, especialmente aqueles de origem vegetal, caracterizam-se como um desafio para o animal desmamado. Neste sentido o uso de enzimas como a fitase e a xilanase, tem sido avaliadas em dietas para suínos, visando atenuar os efeitos deletérios e disponibilizar nutrientes e energia para atendimento nutricional e consequentemente redução na excreção desses nutrientes, que quando ocorre de forma demasiada pode causar danos ambientais (RUIZ, 2008).

Devido à importância dos possíveis efeitos da suplementação enzimática em dietas com redução nutricional, sua utilização pode se configurar como uma alternativa a fim de otimizar a digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos, além de reduzir a excreção de poluentes da suinocultura. Desta forma, objetivou-se avaliar o desempenho, a incidência de diarreia, digestibilidade das dietas, parâmetros séricos, características ósseas, peso de órgãos metabólicos e morfologia intestinal de leitões na fase inicial recebendo dietas com redução nutricional e suplementadas com complexo enzimático contendo fitase e xilanase.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desafio nutricional de leitões desmamados

Na suinocultura, o desmame precoce visa a obtenção de maior número de leitões em menor período, e consequente aumento da produtividade das fêmeas, principalmente em índices zootécnicos como número de animais desmamados/fêmea/ano. No Brasil, o desmame dos leitões é preconizado entre os 21 a 28 dias de vida, dependendo do manejo empregado em cada sistema de criação (LOPEZ et al., 2021).

A fase inicial dos leitões é um dos momentos mais críticos da produção. Durante esse período, os leitões experimentam mudanças na composição da dieta, na forma da dieta e como ela é oferecida. Após o desmame, o leitão deixa de receber o leite materno e passa a consumir dieta sólida, rica em carboidratos de origem vegetal ofertada *ad libitum* (PLUSKE, 2016), e isso pode provocar alterações que comprometem os processos digestivo e absorptivo, com consequente comprometimento do desempenho.

O estresse em leitões é muito frequente estando relacionado a fatores nutricionais e ambientais, além de estresse imunológico durante o desmame. Devido ao estresse a que são submetidos, os animais tendem a reduzir o consumo de ração que ocasiona mudanças fisiológicas na estrutura e função (atividades enzimáticas e absorção ou secreção) do intestino. (CAMPBELL, CRENSHAW, POLO, 2013).

Associado a isso, nas primeiras semanas de vida, o trato gastrointestinal (TGI) dos leitões é pouco desenvolvido, o sistema imunológico ainda imaturo e enzimas com limitada capacidade secretora (INOUE et al., 2015) prejudicando, dessa forma, a digestão de ingredientes de origem vegetal comumente utilizados em dietas iniciais, tais como o milho, soja e farelo de trigo. Alguns desses ingredientes utilizados na formulação de rações possuem fatores antinutricionais, que são compostos que contribuem na redução do valor nutricional e

interferem na digestibilidade, absorção ou utilização dos nutrientes pelos animais (ANDRADE et al., 2015).

Os eventos estressantes associados ao desmame têm efeitos negativos na saúde intestinal e no desempenho geral de crescimento de leitões jovens (MCLAMB et al., 2013; KHAFIPOUR et al., 2014). Fontes de proteína de alta qualidade são comumente usadas em dietas de leitões de creche, na tentativa de compensar a menor capacidade de digerir os nutrientes da dieta durante esse período crítico (BERROCOSO et al., 2012; BERROCOSO et al., 2013). Caso contrário, pode ocorrer maior fermentação intestinal da proteína não digerida, que tem sido relacionada à diarreia pós-desmame e ao crescimento de bactérias potencialmente patogênicas (RIST et al., 2013; WU et al., 2015).

Animais não ruminantes, principalmente suínos, em seus primeiros estágios de crescimento, não conseguem secretar enzimas endógenas de forma eficaz o que compromete a digestibilidade e a utilização dos nutrientes (ADEOLA, O., e COWIESO; 2011; CAMPBELL, CRENSHAW, POLO, 2013). Enzimas exógenas suplementadas nas dietas de suínos degradam os polissacarídeos não amiláceos, agindo na quebra a parede celular que os encapsula, degradando fatores antinutricionais (KIM; 2008; LIMA et al., 2014), neste sentido podendo ser uma alternativa para minimizar alguns desafios nutricionais dos leitões desmamados.

As dietas para leitões desmamados geralmente possuem elevadas quantidades energia e proteína bruta (PB), a fim de compensar o baixo consumo de ração que ocorre durante a fase pós-desmame. Ao mesmo tempo, no entanto, sabe-se que altos níveis de PB é um importante fator de risco para diarreia pós-desmame em leitões (NYACHOTI et al., 2006; HEO et al., 2008; LYNEGAARD et al., 2021). A fermentação da proteína bruta não digerida no final do intestino delgado e no cólon pode levar à proliferação de bactérias patogênicas. Além disso, a fermentação cria produtos nocivos para o intestino que podem resultar em diarreia. Já o excesso de aminoácidos (AA) faz com que a energia seja desaminada e excretada na forma de ureia pela urina (LYNEGAARD et al., 2021)

A redução nutricional é uma estratégia já efetivamente aplicada na produção de leitões, reduzir níveis de nutrientes principalmente de proteína bruta ajuda na diminuição da diarreia pós desmame (HEO et al., 2008; KIM et al., 2011; HEO et al., 2012; LUISE et al., 2021). Um possível risco dessa prática é que o desempenho do crescimento pode ser afetado negativamente (KIM et al., 2011). O uso de enzimas exógenas na dieta de animais busca estratégias para melhorar a eficiência alimentar, que são de particular interesse para aumentar a eficácia produtiva e reduzir os impactos ambientais (AARNINK ; CLARK e TILMAN, 2017).

2.2 Enzimas Exógenas

Enzimas exógenas são proteínas globulares que são utilizadas como aditivos na nutrição animal e atuam como catalisadores biológicos para acelerar reações químicas no organismo (LORENA-REZENDE et al., 2012). Possuem a finalidade de melhorar o valor nutricional dos ingredientes presentes nas rações; fragmentar os fatores antinutricionais presentes nos alimentos; aumentar a disponibilidade de proteínas, minerais e amido e hidrolisar as ligações químicas (VIEITES et al., 2020).

A utilização de enzimas exógenas vem sendo reconhecida como alternativa, contribuindo principalmente na melhoria da digestibilidade dos nutrientes e o desempenho zootécnico de suínos por meio da hidrólise ativa de fatores antinutricionais e compostos alergênicos presentes em suas dietas (CHOCT, 2006; SLOMINSKI, 2011).

O ácido fítico e os polissacarídeos não amiláceos (PNA) encontram-se como fatores antinutricionais mais comuns (CONTE et al., 2003) na dieta de origem vegetal para suínos, e sua ação negativa pode ser minimizada pela adição de enzimas exógenas à ração, embora não possuam função nutricional direta, contribuem para o processo digestório, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (SHOULTEN et al., 2003 e CAMPESTRINI et al., 2005).

As enzimas são utilizadas em dietas convencionais, preparadas principalmente por de milho e soja, com o intuito de reduzir a viscosidade da dieta, promovendo melhoria na absorção de nutrientes; e contribuindo para melhor desempenho animal (TEIXEIRA et al., 2005). A justificativa para a inclusão desses aditivos se dá em função de sua capacidade de promover a liberação de polímeros menores e de menor peso molecular, além dos mais variáveis tipos de carboidratos presos entre as fibras da parede celular dos vegetais (LUISE et al., 2020).

O uso de enzimas exógenas pode reduzir efeitos adversos de fatores antinutricionais, conforme demonstrado pelo aumento do uso de nutrientes em dietas de aves e suínos (KIM et al., 2006, LI et al., 2010). Assim, a suplementação de complexos enzimáticos pode ser utilizados visando melhorar a absorção dos ingredientes presentes na ração e, consequentemente, obter melhora no desempenho dos suínos. Junto com as fitases e proteases, as carboidrases (xilanases, β -glucanases, manases e amilases) compreendem as enzimas mais comuns usadas na alimentação animal (KIARIE et al., 2013).

2.3 Fitase

A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfo-hidrolase) é uma enzima exógena que pode ser definida como proteína com estrutura terciária ou quaternária que atua como catalisador biológico, aumentando a velocidade das reações químicas nos organismos sem alterá-las. É uma enzima obtida a partir de bactérias, fungos e plantas (ULLAH e SETHUMADHAVAN, 2003), a enzima possui sítios de ligação específicos que permitem a mesma atuar na degradação de ligações químicas em condições favoráveis de pH, umidade e temperatura (YIN et al., 2001).

A fitase é a enzima alimentar mais comum utilizada na indústria de suínos; sua inclusão na dieta visa reduzir efeitos antinutricionais do fitato, melhorando, principalmente, a disponibilização de fósforo (P) e cálcio (Ca), mas como também de aminoácidos (AA) e a digestibilidade energética (JANG et al., 2017; SHE et al., 2017).

A fitase é uma enzima termolábil, o que indica que sua atividade ótima, é mais sensível aos efeitos quando exposta a altas temperaturas, que são frequentemente utilizadas para garantir a qualidade de alguns processos de mistura de ração (LEI e PORRES 2003; DE JONG et al., 2017). Alguns alimentos vegetais utilizados na alimentação de suínos possuem atividade intrínseca da fitase. No entanto, o milho e o farelo de soja expressam atividade desprezível (REDDY et al., 1982; ZIMMERMANN et al., 2002). Grande parte da atividade de fitase encontrada nos grãos de cereais está presente nas camadas de aleurona; entretanto, esta atividade pode ser reduzida quando há exposição a altas temperaturas durante a mistura da ração (ZIMMERMANN et al., 2002).

A digestão gástrica proporciona melhores condições para a hidrólise do ácido fítico, ao mesmo tempo que fornece melhores condições para a atividade ótima da fitase (LEI e PORRES 2003; YI e KORNEGAY, 1996). O ácido fítico é uma molécula formada por grupo ortofosfato ionizável e que pode complexar alguns cátions como Ca, Mg, Mn e Cu (NEWMANN, 1994). As enzimas podem não apresentar função nutricional direta, mas promovem o processo digestório, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (CAMPESTRINI et al., 2005).

O ácido fítico contém P, que é mal digerido pelos suínos porque eles não produzem quantidades suficientes de fitase (WOYENGO e NYACHOTI, 2011). Além disso, o ácido fítico reduz a digestibilidade de outros nutrientes, incluindo cátions e aminoácidos, ligando-os (WOYENGO e NYACHOTI, 2013). Os PNAs são poucos digeridos pelos suínos e podem reduzir a disponibilidade de nutrientes para digestão e absorção devido, em parte, ao encapsulamento e viscosidade (BEDFORD e PARTRIDGE, 2010; WOYENGO et al., 2016).

Normalmente, as fitases funcionam na faixa de pH de 3 a 5,5, semelhante ao pH do estômago de suínos (SLOMINSKI, 2011; SELLE e RAVINDRAN, 2008). O pH no intestino delgado é mais favorável para as enzimas proteolíticas, onde existe a capacidade de que a fitase possa ser inativada ou quebrada por outras proteases endógenas ativas (LEI e PORRES, 2003; YI e KORNEGAY, 1996). Além do calor, a atividade ideal da fitase pode ser influenciada por muitos outros fatores, como composição da dieta, condições de armazenamento, pH e temperatura gástrica (LEI e PORRES, 2003; ROJAS e STEIN, 2017).

Brandão Melo et al. (2020) citam que a fitase também está envolvida nos processos de mineralização óssea, pois melhora a absorção de fósforo e cálcio, solucionando problemas relacionados ao desenvolvimento ósseo de leitões devido à baixa quantidade de fósforo prontamente disponível. Rufino et al. (2017) investigaram o uso da fitase associada a ácidos orgânicos e concluíram que a adição de fitase (1.000UF/kg) contribuiu para a não ocorrência de baixas concentrações de cálcio e fósforo disponíveis nos ossos, além de não alterar a consistência destes.

Apesar de no início do processo de obtenção da enzima fitase os custos tenham sido elevados, com os avanços da tecnologia de fermentação, as indústrias vem produzindo essa enzima, que trazem reflexos positivos nos preços do produto. Este fato tem despertado grande interesse entre pesquisadores em estudar a utilização dessa enzima na alimentação animal, especialmente em razão da preocupação dominante com os custos elevados do fósforo inorgânico suplementar e com a poluição ambiental causada pelo excedente de P excretado nas fezes (LEI et al., 1993; CROMWELL, 1991; CROMWELL et al., 1993, 1995A, 1995B).

Considerando a baixa atividade de fitase endógena encontrada no sistema digestivo de aves e suínos, o fósforo ligado ao fitato é praticamente 100% indisponível para animais não ruminantes, sendo excretado em grande quantidade pelos animais (SMITH et al., 1999). Para diluir esses efeitos negativos na alimentação dos suínos, a enzima exógena fitase passou a ser suplementada em dietas para disponibilizar o fósforo armazenado na molécula de ácido fítico (FARIAS, 2021).

Yanes et al. (2011) apresenta efeito positivo da fitase na digestibilidade do P obtido em suínos alimentados com uma dieta com 43,7% contendo grãos secos de destilaria de milho com solúveis moído e não moído. Da mesma forma, Xu et al. (2006) descobriram que a suplementação com fitase aumentou a digestibilidade e reduziu a excreção de P em suínos de creche e crescimento-terminação alimentados com uma dieta com 20% de contendo grãos secos de destilaria de milho com solúveis.

2.4 Xilanase

A enzima xilanase é classificada como carboidrase que possui capacidade de hidrolisar a estrutura da xilana em rações. Têm sido relatados benefícios importantes na melhoria do desempenho de crescimento, digestibilidade de nutrientes e saúde intestinal relacionados à suplementação de xilanase em dietas de suínos (PASSOS et al., 2015; TIWARI et al., 2018; DUARTE et al., 2019; CHEN et al., 2020).

A suplementação de xilanase auxilia na despolimerização da estrutura da xilana em cadeias mais curtas quebrando a matriz da parede celular (CHOCT, 2015; PETRY e PATIENCE, 2020; BAKER et al., 2021). O resultado promove o aumento da viscosidade da digesta, o que ajuda na liberação de nutrientes aprisionados, facilitando o acesso das enzimas digestivas aos seus substratos dentro do curto tempo de trânsito alimentar para melhorar a digestibilidade dos nutrientes (DE LANGE et al., 2010; KIARIE et al., 2013; TIWARI et al., 2018).

O uso da enzima xilanase na nutrição de suínos pode trazer benefícios que vão além da diminuição de fatores antinutricionais associados à presença de xilanase e melhoraria do desempenho zootécnico e da digestibilidade dos nutrientes. Também pode desempenhar papel positivo na saúde intestinal, além de reduzir a viscosidade da digesta gerando formas de compostos liberados por PNA's mais fermentáveis, como os xilooligossacarídeos, podendo impactar de forma positiva a abundância relativa e a diversidade da microbiota intestinal (DE LANGE et al., 2010; JHA e BERROCOSO, 2015; DUARTE et al., 2020; BAKER et al., 2021). A modulação positiva da microbiota intestinal está associada à saúde intestinal, desempenho e bem-estar de suínos ao longo de sua vida produtiva (DUARTE e KIM, 2022).

Dentre as funções da suplementação exógena de carboidrases uma delas é hidrolisar os PNA's, um complexo presente na alimentação animal, uma vez que animais não ruminantes não conseguem hidrolisar esses compostos com suas enzimas digestivas endógenas (KROGDAHL et al., 2005).

Um estudo de Petry et al. (2020) descobriram que a xilanase melhorou ADG e G:F em suínos alimentados com dieta à base de milho com 30% de farelo de milho sem solúveis após 14 dias de suplementação, e essas métricas foram ainda maiores após os 27 dias.

Lan et al. (2017) verificou que a xilanase melhorou o desempenho em fases posteriores de suplementação em suínos alimentados principalmente com dietas à base de milho. Por outro lado, o trabalho de Ndou et al. (2015) não observou melhorias no desempenho entre sete fontes de xilanase suplementadas por mais de 30 dias.

Estudos mostram que as enzimas alimentares, especialmente a xilanase e a fitase, podem desempenhar excelente papel funcional na saúde intestinal de suínos, além de promover benéficos a digestibilidade dos nutrientes e o crescimento (MOITA; DUARTE; KIN, 2022; PTAK et al., 2015; KARADAS et al., 2010; DUARTE et al., 2019). A melhora na utilização de energia quando se utiliza a enzima xilanase se dá pela mudança na absorção de nutrientes que ocorre em maior quantidade no intestino delgado, diminuindo a competição pelos microrganismos, concentrando os nutrientes no órgão onde há maior possibilidade de absorção (ADEOLA e COWIESON, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi realizado no Laboratório de Suinocultura do Departamento de Ciência Animal, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus III, no município de Bananeiras-PB. O protocolo experimental nº 5476260521 foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

3.1 Animais, instalações e dietas experimentais

No experimento foram utilizados 40 leitões desmamados aos 26 dias de idade, machos e fêmeas, de mesma linhagem comercial (Biriba's), oriundos de granja comercial, localizada no município de Jucati- PE, a 298,7 km de distância até a sede experimental em Bananeiras-PB. O peso médio inicial dos leitões foi de $7,85 \pm 1,27$ kg, os animais foram alojados em gaiolas de creche suspensas, com piso plástico vazado, equipadas com bebedouros do tipo chupeta e comedouros semiautomáticos.

Durante os primeiros 20 dias do período experimental, foram utilizadas lâmpadas infravermelhas como fonte de calor. Foram colhidas informações da temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental ambiente por meio de termo-higrômetro digital. As temperaturas médias no período foram de $25,3 \pm 0,4$ °C e $29,3 \pm 0,1$ °C, respectivamente. A umidade relativa média do ar foi de $66,3 \pm 1,5\%$ e $80,4 \pm 1,1\%$. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial (2x2), para controlar diferenças no peso inicial. Os leitões foram divididos em quatro tratamentos (dietas experimentais), com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por dois animais.

As rações experimentais foram formuladas principalmente por milho, farelo de soja, soro de leite em pó, soja integral inativada, óleo de soja, suplemento vitamínico, suplemento mineral, calcário e fosfato bicálcico. Os tratamentos foram os seguintes: Dieta controle positivo (DCP), formulada com intuito de atender 100% das exigências; Dieta controle positivo com complexo enzimático (DCPE); Dieta com redução nutricional (DCN), formulada com redução nutricional de acordo com a matriz nutricional do complexo enzimático; Dieta com redução nutricional com complexo enzimático (DCNE). A matriz nutricional do complexo enzimático composto por fitase (1500 U/g) e xilanase (350 U/g) utilizou-se a redução em percentual para os seguintes nutrientes 0,15% de fósforo, 0,15% de cálcio, 0,2% de proteína bruta, 0,029% de lisina, 0,011% metionina, 0,02% metionina + cisteína, 0,004% de triptofano, 0,014% treonina, 0,022% arginina, e 88 kcal/kg de energia metabolizável.

Dietas experimentais (Tabela 1) atendendo às exigências nutricionais mínimas dos animais, de acordo com Rostagno et al. (2017), foram formuladas para as seguintes fases: I – 26 a 32 dias de idade; II - 33 a 42 dias de idade; III – 43 a 60 dias de idade.

Tabela 1: Ingredientes e composição centesimal e nutricional das dietas de acordo com os tratamentos experimentais

Ingredientes ¹	Controle Positivo			Controle Negativo		
	Fases ²			Fases ²		
	I	II	III	I	II	III
Milho grão	41,00	49,18	65,38	42,00	49,18	65,94
Farelo de soja	21,64	20,00	22,00	20,00	20,00	22,00
Soro de leite em pó	14,37	10,06	-	14,37	10,06	-
Soja integral inativada	15,54	13,11	6,532	16,98	12,65	5,929
Óleo de soja	2,000	2,000	0,715	0,930	1,647	0,200
Fosfato bicálcico	1,830	1,747	1,629	1,020	0,940	0,821
Calcário	1,039	0,953	0,772	1,172	1,082	0,903
L-lisina	0,529	0,537	0,418	0,507	0,511	0,394
Suplemento mineral e vitamínico ³	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Sal comum	0,519	0,412	0,469	0,518	0,412	0,469
L-Treonina	0,262	0,257	0,157	0,250	0,249	0,149
DL-Metionina	0,231	0,209	0,128	0,212	0,193	0,112
L-Arginina	0,206	0,202	-	0,196	0,191	-
L-Valina	0,108	0,108	0,024	0,113	0,116	0,033
Inerte ⁴	0,151	0,658	0,230	1,164	2,210	1,499
L-Triptofano	0,036	0,040	0,024	0,034	0,038	0,023
BHT	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Valor calculado						

Energia metabolizável (Mcal/kg)	3400	3375	3250	3312	3287	3162
Proteína Bruta, %	21,42	19,87	18,06	21,22	19,67	17,86
Fibra em detergente neutro, %	10,84	11,39	12,95	10,96	11,32	12,94
Fibra em detergente ácido, %	4,54	4,43	4,43	4,59	4,38	4,38
Cálcio, %	1,068	0,973	0,794	0,918	0,823	0,644
Fósforo disponível, %	0,528	0,481	0,393	0,378	0,331	0,243
Triptofano digestível, %	0,276	0,256	0,213	0,272	0,252	0,209
Lisina digestível, %	1,451	1,346	1,12	1,422	1,317	1,091
Metionina digestível, %	0,406	0,377	0,325	0,395	0,366	0,314
Met + Cistina digestível, %	0,813	0,754	0,638	0,793	0,734	0,618
Treonina digestível, %	0,972	0,902	0,728	0,958	0,888	0,714

¹Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno et al. (2017). ²I – 26 a 32 dias; II – 33 a 42 dias; III – 43 a 60 dias de idade; ³Composição do suplemento mineral e vitamínico: Iodo – 140 mg/kg; Selênio – 100 mg/kg; Manganês – 10 mg/kg; Zinco – 100 mg/kg; Cobre – 10 mg/kg; Ferro – 99 mg/kg, Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D3 – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit B2 – 3,75 mg; Vit. B12 – 20 mcg; Pantotenato de cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg. ⁴Areia lavada.

3.2 Desempenho produtivo

No início e no final de cada fase, foram pesados os animais e as sobras de ração para a obtenção do consumo diário de ração (CDR), o ganho diário de peso (GDP) e a conversão alimentar (CA). Os resultados de desempenho foram analisados nos seguintes períodos:

- 1 – Dos 26 aos 32 dias de idade;
- 2 – Dos 26 aos 42 dias de idade;
- 3 – Dos 26 aos 60 dias de idade;

3.3 Incidência de diarreia

Para verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões, entre 26 e 60 dias do período experimental. A consistência das fezes foi verificada duas vezes ao dia, às 08h00 horas da manhã e às 16h00 horas da tarde, mediante análise visual com os seguintes escores: 1 – fezes normais, 2 – fezes pastosas e 3 – fezes aquosas, sempre pelo mesmo observador. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3, diarreicas seguindo método proposto por Pascoal et al. (2012).

3.4 Parâmetros bioquímicos séricos

No final da segunda e terceira fase (44 e 60 dias de idade), foi coletado cerca de 10 ml de sangue de um animal por unidade experimental, selecionado de acordo com o peso médio da parcela. As amostras de sangue foram centrifugadas a 2.500 rpm por 10 minutos para obtenção de soro e as alíquotas foram acondicionadas em microtubos de plástico, identificadas e mantidas a -20°C até a realização das análises.

As amostras foram devidamente acondicionadas em gelo seco e encaminhadas ao Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, *Campus Recife-PE*.

Os metabólitos séricos analisados foram: ureia pelo método enzimático e creatinina pelo método colorimétrico. Analisou-se também os marcadores hepáticos séricos: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) pelo método cinético e gamaglutamil transferase (GGT) pelo método Szasz modificado. Os minerais séricos cálcio e fósforo foram analisados pelos métodos arsenazo e fotometria UV, respectivamente.

Todas as análises foram realizadas em analisador bioquímico automatizado, modelo Labmax 240 (Labtest® Diagnóstica S.A., Brasil), utilizando kits comerciais Labtest®. Os kits utilizados foram: Ureia UV Liquiform (Ref.: 104), Creatinina K (Ref.: 96), AST Liquiform (Ref.: 109), GGT Liquiform (Ref.: 105), ALP (Ref.: 76), Ca Arsenazo Liquiform (Ref.: 95) e Fósforo UV Liquiform (Ref.: 12).

3.5 Digestibilidade dos nutrientes, energia e disponibilidade de minerais

Para avaliação da digestibilidade das dietas experimentais foi utilizado o método de coleta parcial de fezes com a inclusão de 1% de cinza insolúvel em ácido (Celite 545®) à dieta no período de 43 aos 63 dias de idade como indicador de indigestibilidade da dieta. Após o início do consumo da ração com marcador, foi fornecido um período de três dias para manutenção do fluxo do indicador pelo trato digestório e, posteriormente, foi realizada a coleta de fezes por um período de quatro dias.

Foi utilizado o método de coleta parcial de fezes, sendo realizadas duas coletas de fezes ao dia (manhã e tarde), diretamente do reto dos animais. Após a coleta, as fezes foram homogeneizadas e armazenadas em sacos plásticos a -18°C para posterior análise. Amostras de ração também foram coletadas e armazenadas para análises. As amostras de fezes e rações foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal – LAANA/UFPB *Campus II* em Areia-PB. As fezes foram descongeladas em temperatura

ambiente, homogeneizadas, pré-secas a 55°C e moídas para determinação da matéria seca, matéria orgânica, cinzas, proteína bruta, energia bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (AOAC, 2005).

A energia bruta das fezes e rações foi determinada em bomba calorimétrica do tipo Parr modelo 6100. A partir dos valores de matéria seca, matéria orgânica, cinzas, proteína bruta, energia bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido determinados pelas análises, foram calculados os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia (Sakomura & Rostagno, 2016).

O teor de fósforo foi analisado por espectrofotometria em espectrofotômetro UV-VIS modelo UV-5100 (Metash Instruments, Shanghai, China) de acordo com metodologia proposta por Rangana (1979), no Laboratório de cromatografia e espectrometria-LACE, do CCHSA.

Para a determinação de Ca, as amostras foram analisadas em espectrômetro de absorção atômica, com atomizador de chama, modelo iCE 3500 (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra). Como fonte de radiação primária foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco contendo Ca (Photron, Victoria, Austrália), e a correção de fundo foi feita com uma lâmpada de deutério acoplada ao equipamento. A curva padrão foi preparada com uma solução padrão de Cálcio (Specsol, São Paulo, Brasil). Os parâmetros instrumentais foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante e os dados foram processados utilizando-se o software SOLAAR (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra).

3.6 Eutanásia dos animais

Aos 60 dias de idade, vinte animais foram selecionados pelo peso mais próximo da média dos animais de cada tratamento, em seguida foi dado jejum de seis horas. A eutanásia foi realizado no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Cárneos (PDPC) - CCHSA/UFPB, utilizando-se procedimentos de eutanásia descritos pela Resolução nº57 CONCEA. Os animais foram insensibilizados por injeção intravenosa de solução de pentobarbital sódico a 9% (90 mg / kg de peso corporal) de acordo com a Resolução no 37/2018 do CONCEA e Guia de Eutanásia para animais de ensino e Pesquisa da UNIFESP (2019). Imediatamente após o abate, o abdômen dos animais foi aberto e as vísceras retiradas. Foi realizada a pesagem separadamente do fígado, baço e pâncreas, em seguida, calculados os pesos relativos dos órgãos em relação ao peso vivo. Foram colhidos fragmentos fígado e do intestino delgado referentes ao duodeno, jejuno e íleo para avaliação de glicogênio hepático e morfologia intestinal.

3.7 Parâmetros ósseos

A pata dianteira direita de cada leitão foi cortada na articulação carpal média. Os metacarpos (Mc) III e IV da pata direita foram dissecados após o abate e armazenados em sacos plásticos lacrados a -20°C. As análises realizadas foram índice de Seedor e teores de matéria mineral, cálcio e fósforo.

Para avaliação do índice de Seedor os Mc III foram descongelados em estufa à 30°C por duas horas e em seguida retirou-se os músculos e cartilagens remanescentes. Para a determinação do Índice de Seedor (SEEDOR et al., 1991), pesou-se os Mc III em balança digital de precisão 0,0001 g e mediu-se o comprimento com o auxílio de um paquímetro eletrônico digital, e então, utilizou-se a seguinte fórmula: $IS = \text{peso do osso (mg)} / \text{comprimento do osso (mm)}$.

Para as análises dos teores de matéria mineral, cálcio e fósforo, os Mc III ficaram em estufa por 72 horas à 65°C, em seguida foram moídas em moinho de bola. Foi preparado solução mineral das amostras conforme os métodos de Silva e Queiroz (2002).

Para a determinação de Ca, as amostras foram analisadas em espectrômetro de absorção atômica, com atomizador de chama, modelo iCE 3500 (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra). Como fonte de radiação primária foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco contendo Ca (Photron, Victoria, Austrália), e a correção de fundo foi feita com uma lâmpada de deutério acoplada ao equipamento. A curva padrão foi preparada com uma solução padrão de Cálcio (Specsol, São Paulo, Brasil). Os parâmetros instrumentais foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante e os dados foram processados utilizando-se o software SOLAAR (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra).

O teor de fósforo foi analisado por espectrofotometria em espectrofotômetro UV-VIS modelo UV-5100 (Metash Instruments, Shanghai, China) de acordo com metodologia proposta por Rangana (1979).

3.8 Morfometria intestinal

Para o estudo da estrutura do intestino delgado foram colhidas amostras de aproximadamente 1 a 10cm do início do duodeno e 25 a 35cm porção média do jejuno e íleo. A fixação dos segmentos intestinais foi realizada em solução de Metacarn (contendo 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético) durante u período de doze horas, e

mantidos refrigerados. Logo após, substituiu-se o metacarn por solução de álcool à 70%. Para a realização das análises morfométricas do intestino delgado, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias (CCA) / UFPB, *Campus II*, Areia-PB.

As amostras permaneceram por 24 h em solução de álcool à 70%, em seguida foram lavadas em água corrente durante cinco minutos para depois serem desidratadas em série crescente de álcoois e passagem por bateria de xilol e, ao fim dessa etapa, incluídas em parafina. Posteriormente, foi realizada a microtomia dos blocos de parafina para a confecção das lâminas histológicas.

As lâminas de intestino delgado foram coradas utilizando a coloração de hematoxilina/eosina para a determinação dos seguintes parâmetros: altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC) e largura de vilosidade (LV). De posse dos dados foi calculada a relação vilosidade/cripta (AV/PC) e espessura de mucosa (EM), de acordo com metodologia modificada descrita por Moreira Filho et al. (2015). A área absortiva (AA) foi determinada segundo metodologia descrita por Silva (2015).

Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension.

3.9 Glicogênio hepático

Para avaliação do glicogênio hepático foram colhidas amostras de, aproximadamente, 1 cm do fígado. A fixação realizada em solução de Metacarn (contendo 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético) durante um período de doze horas, e mantidos refrigerados. Em seguida, as amostras foram embebidas em solução de álcool a 70%. As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias (CCA)/UFPB, *Campus II* na cidade de Areia-PB, para confecção das lâminas histológicas.

Para a análise do índice de estoque de glicogênio hepático foi utilizada a coloração de periodic acid Schiff (PAS) que cora glicoproteínas, dentre elas o glicogênio hepático. As fotomicrografias, 12 para cada animal, perfazendo um “n” de 60 por tratamento (12 fotomicrografias x 5 animais) foram analisadas à microscopia óptica pelo mesmo histologista, sem o prévio conhecimento deste sobre o grupo pertencente de cada leitão. As mesmas foram classificadas de acordo com o grau de depósito de glicogênio em virtude da positividade à coloração de PAS: Grau +: pouco depósito de glicogênio hepático; Grau ++: moderado depósito de glicogênio hepático; e Grau +++: alto depósito de glicogênio hepático.

Para análise do índice de depósito de glicogênio hepático, as cruzes foram transformadas em números correspondentes (+ = 1, ++ = 2, +++ = 3) para a realização da estatística conforme Escore Semi quantitativo de Ishak (ISHAK et al., 1995) modificado. Para a análise histopatológica foram utilizadas as mesmas fotomicrografias supracitadas, as quais foram analisadas quanto a ocorrência de áreas de necrose e esteatose pelo parênquima hepático.

3.10 Análise estatística

Os dados foram avaliados em esquema fatorial 2X2, sendo os fatores principais a dieta (controle ou com redução nutricional) e enzima (com ou sem). Os pressupostos de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram observados através dos testes de Cramer-von Misses e Levene, respectivamente. Os valores observados foram submetidos à análise de variância por meio do procedimento GLM (General Linear Models) no software estatístico SAS® (OnDemand for Academics). A comparação das médias e interação entre os fatores foi realizada pelo teste de Tukey. Os valores foram considerados diferentes estatisticamente quando $P \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

Os resultados de desempenho foram avaliados em três períodos distintos (Tabela 2). Não houve efeito de interação ($P > 0,05$) para as variáveis de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA). No entanto, houve efeito da redução nutricional e da suplementação enzimática nos períodos II e III.

Tabela 2: Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com dietas sem e com redução nutricional e suplementação com complexo (fitase e xilanase)

	I período (0 a 7 dias)			II período (0 a 17 dias)			III período (0 a 34 dias)		
	CDR, kg	GDP, kg	CA, kg/kg	CDR, kg	GDP, kg	CA, kg/kg	CDR, kg	GDP, kg	CA, kg/kg
Tratamentos									
DCP	0,437	0,304	1,567	0,599	0,395	1,563	0,714	0,403	1,831
DCPE	0,401	0,229	2,327	0,564	0,381	1,514	0,748	0,456	1,649
DCN	0,436	0,237	2,116	0,592	0,361	1,717	0,656	0,373	1,741
DCNE	0,479	0,296	1,726	0,624	0,380	1,679	0,767	0,409	1,902
Dieta ²									
Sem redução	0,418	0,233	2,222	0,578 B	0,371	1,615 B	0,702 B	0,414 A	1,695 B
Com redução	0,479	0,296	1,726	0,624 A	0,380	1,679 A	0,767 A	0,409 B	1,902 A
Enzima ²									
Sem Enzima	0,440	0,262	2,027	0,594	0,380	1,597 b	0,757 a	0,433 a	1,776 a
Com Enzima	0,436	0,237	2,116	0,592	0,361	1,717 a	0,656 b	0,373 b	1,741 b
ANOVA(Valor-P)									
Dieta	0,711	0,802	0,874	0,018	0,334	0,024	0,030	0,032	0,026
Enzima	0,731	0,909	0,582	0,747	0,598	0,040	0,051	0,012	0,050
Dieta*Enzima	0,605	0,393	0,310	0,603	0,864	0,467	0,807	0,702	0,246
EPM	0,034	0,036	0,139	0,029	0,025	0,052	0,044	0,027	0,048

DCP. Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN. Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE .Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

No período II dos 0 aos 17 dias experimentais houve efeito de da redução nutricional para CDR ($P=0,018$) e CA ($P=0,024$), o GDP não foi afetada pelos tratamentos ($P>0,05$). Os animais que consumiram dietas com redução nutricional apresentaram maior consumo quando comparado com os animais que consumiram dieta sem redução nutricional, para a CA verificou-se que a dieta sem redução nutricional proporcionou melhor CA quando comparada com a dieta com redução nutricional. Para o fator suplementação enzimática houve efeito para CA ($P=0,040$) sendo que a melhor conversão alimentar para a dieta sem enzima quando comparada com as dietas com enzimas.

No período III de 0 a 34 dias experimentais a redução nutricional influenciou negativamente o CDR ($P=0,030$), GDP ($P=0,032$) e CA ($P=0,026$), visto que os animais que consumiram dieta com redução nutricional obtiveram maior CDR quando comparado com os animais que consumiram dietas sem redução nutricional, consequentemente para GDP os animais que consumiram dieta sem redução nutricional obtiveram ganho superior aos animais

que consumiram dieta com redução nutricional, da mesma forma ocorreu para CA, em que a dieta sem redução proporcionou melhoria na conversão alimentar quando comparada a dieta sem redução nutricional. Para o efeito da suplementação enzimática sobre CDR ($p=0,051$), observou-se que os animais que se alimentaram da dieta sem enzima tiveram maior consumo, do que aqueles que se alimentaram de dietas com enzimas, porém houve maior ganho de peso (GDP) ($P=0,012$) nos animais que consumiram dieta sem suplementação enzimática. Para CA ($P=0,050$) os animais que receberam as dietas suplementada com enzimas apresentaram melhor conversão alimentar.

A incidência de diarreia foi avaliada nos três períodos (Figura 1), contudo, verificou-se efeito no primeiro período para os animais que receberam dietas com redução nutricional ($P=<0,002$), visto que o escore fecal dos leitões que consumiram dieta sem redução nutricional foi maior, apresentando assim maior incidência de diarreia, não havendo efeito ($P>0,05$) da suplementação enzimática para esta variável.

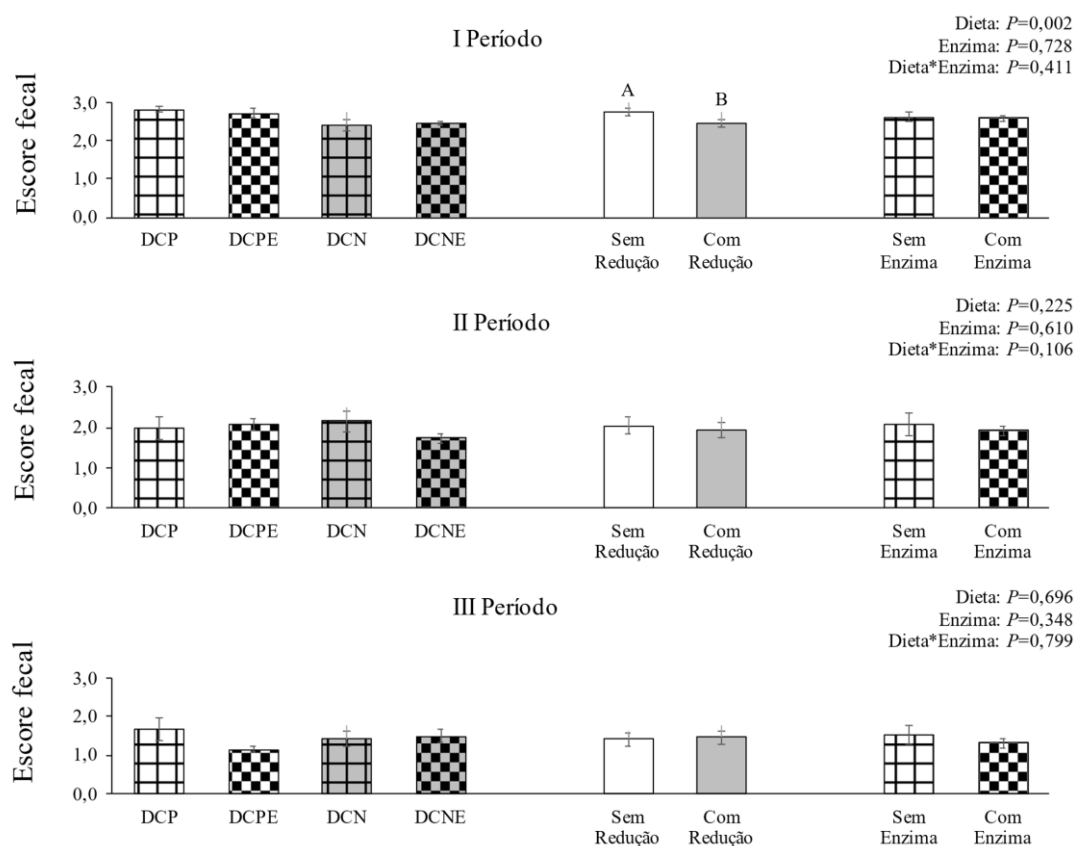


Figura 1: Efeito da redução nutricional de dietas com adição ou não de complexo enzimático (Fitase e Xilanase) sobre a incidência de diarreia de leitões desmamados. O escore fecal indica a tendência à diarreia: 1- normal; 2- pastoso; 3- líquido. DCP- Dieta controle mais Complexo enzimático; DCN- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz da Spectrum); DCNE- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz da Spectrum) mais Complexo enzimático. ^{A,B}- Letras distintas diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve influência das dietas ($P>0,05$) sobre os parâmetros bioquímicos séricos avaliados como Creatinina (CRC), Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT), Gama glutamil transferase (GGT), Fosfatase alcalina (ALP), cálcio (Ca), aos 42 e 60 dias de idade (Tabela 3 e 4). Houve efeito da redução nutricional das dietas ($P\leq 0,046$) para teor de fósforo no sangue aos 42 dias de idade, visto que os animais que consumiram dietas sem redução nutricional apresentaram valores de 1,2 de fósforo acima do que as dietas com redução nutricional.

Tabela 3: Parâmetros bioquímicos séricos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase) aos 42 dias de idade

	42 dias							
	Ureia, mg/dl	CRC, mg/dl	AST, U/L	ALT, U/L	GGT, U/L	ALP, U/L	Cálcio, mg/dl	Fósforo, mg/dl
Tratamentos								
DCP	16,43	1,07	80,39	32,30	63,00	211,80	11,15	9,43
DCPE	12,61	1,08	87,44	32,38	52,33	184,45	11,57	9,50
DCN	14,06	0,95	74,20	33,61	74,32	215,18	12,02	8,12
DCNE	18,37	0,98	68,36	34,35	84,72	224,06	11,83	8,42
Dieta ²								
Sem redução	14,52	1,07	83,92	32,34	57,67	198,12	11,36 B	9,47 A
Com redução	16,21	0,96	71,28	33,98	79,52	219,62	11,93 A	8,27 B
Enzima ²								
Sem Enzima	15,24	1,01	77,30	32,96	68,66	213,49	11,58	8,77
Com Enzima	15,49	1,03	77,90	33,37	68,53	204,26	11,70	8,96
ANOVA (Valor-P)								
Dieta	0,874	0,573	0,122	0,843	0,305	0,290	0,033	0,046
Enzima	0,827	0,940	0,937	0,862	0,995	0,797	0,625	0,755
Dieta*Enzima	0,540	0,970	0,491	0,890	0,615	0,353	0,219	0,857
EPM	2,099	0,083	3,744	1,320	8,995	10,307	0,138	0,260

CRC- Creatinina, AST- Aspartato aminotransferase, ALT- Alanina aminotransferase, GGT- Gama glutamyl transferase, ALP- Fosfatase alcalina.

DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN- Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE -Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4: Parâmetros bioquímicos séricos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase) aos 60 dias de idade

	60 dias							
	Ureia, mg/dl	CRC, mg/dl	AST, U/L	ALT, U/L	GGT, U/L	ALP, U/L	Cálcio, mg/dl	Fósforo, mg/dl
Tratamentos								
DCP	14,22	0,90	106,67	43,64	62,41	188,91	11,22	10,52
DCPE	12,53	0,89	110,72	44,11	30,64	166,34	10,98	10,91
DCN	16,69	0,99	106,12	41,81	50,23	200,38	12,08	10,44
DCNE	19,48	1,01	105,11	38,86	89,90	195,32	10,91	10,83
Dieta ²								
Sem redução	13,37	0,89	108,70	43,87	46,53	177,62	11,10	10,71
Com redução	18,08	1,00	105,61	40,33	70,07	197,85	11,50	10,64
Enzima ²								
Sem Enzima	15,45	0,95	106,40	42,72	56,32	194,64	11,65	10,48
Com Enzima	16,01	0,95	107,92	41,48	60,27	180,83	10,94	10,87
ANOVA (Valor-P)								
Dieta	0,435	0,303	0,931	0,180	0,241	0,225	0,244	0,918
Enzima	0,992	0,813	0,420	0,832	0,779	0,363	0,089	0,476
Dieta*Enzima	0,753	0,943	0,422	0,737	0,095	0,246	0,253	0,840
EPM	2,031	0,032	3,760	1,780	10,436	8,272	0,189	0,360

CRC- Creatinina, AST- Aspartato aminotransferase, ALT- Alanina aminotransferase, GGT- Gama glutamil transferase, ALP- Fosfatase alcalina.

DCP. Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN. Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE . Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se efeito das dietas experimentais sobre os coeficientes de digestibilidade de matéria mineral ($P < 0,004$), fibra de detergente neutro ($P = < 0,021$), fibra de detergente ácido ($P = < 0,014$) e fósforo ($P < 0,055$). Houve efeito isolado da redução nutricional das dietas para matéria mineral e fósforo, verificou-se que as dietas sem redução nutricional apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade da matéria mineral e do fósforo. Para o fator suplementação enzimática nas dietas observou-se maiores coeficientes de digestibilidade da fibra de detergente neutro e fibra de detergente ácido para os animais que receberam as dietas suplementadas com as enzimas (Tabela 5).

Tabela 5: Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e energia das dietas sem e com redução nutricional e suplementação com complexo (fitase e xilanase)

	Coeficientes de digestibilidade (%)								
	MS	MM	MO	FDN	FDA	Proteína	Energia	Cálcio	Fósforo
Tratamentos									
DCP	93,73	49,65	81,30	64,15	46,58	73,75	78,12	42,59	36,88
DCPE	93,29	54,82	80,29	73,79	64,59	72,62	79,35	39,89	33,56
DCN	92,28	41,12	80,68	66,66	56,89	75,14	77,05	36,24	20,05
DCNE	93,56	39,46	82,77	74,21	61,14	75,62	78,27	21,22	24,17
Dieta ²									
Sem redução	93,51	52,24 A	80,80	68,97	55,58	73,18	78,74	41,24	35,22 A
Com redução	92,92	40,29 B	81,72	70,44	59,01	75,38	77,66	28,73	22,11 B
Enzima ²									
Sem Enzima	93,00	45,39	80,99	65,41 b	51,73 b	74,44	77,59	39,41	28,47
Com Enzima	93,42	47,14	81,53	74,00 a	62,86 a	74,12	78,81	30,56	28,86
ANOVA (Valor-P)									
Dieta	0,297	0,004	0,584	0,553	0,313	0,429	0,596	0,161	0,055
Enzima	0,395	0,643	0,767	0,021	0,014	0,829	0,532	0,288	0,997
Dieta*Enzima	0,109	0,316	0,349	0,906	0,174	0,809	0,996	0,453	0,608
EPM	0,284	2,072	0,874	2,234	2,692	1,211	1,004	3,914	3,218

MS- Matéria seca, MM- Matéria mineral, MO- Matéria orgânica, FDN- Fibra em detergente neutro e FDA-Fibra em detergente ácido.

DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN- Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE - Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Houve interação entre os fatores para peso relativo do fígado ($P=0,027$) e pâncreas ($P=0,053$) (Tabela 6). Visto que os animais que receberam dieta com redução nutricional e suplementada com as enzimas apresentaram menor peso relativo de fígado e do pâncreas. O peso do baço reduziu quando os animais receberam dieta com suplementação enzimática, independente da dieta se houve ou não redução nutricional. Não houve influência ($P>0,05$) das dietas experimentais sobre os parâmetros ósseos analisados (Tabela 7).

Tabela 6: Peso relativo de fígado, pâncreas e baço de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)

	Peso relativo dos órgãos (%)		
	Fígado	Pâncreas	Baço
Tratamentos			
DCP	4,910 Aa	0,439 Aa	0,286
DCPE	5,022 Aa	0,443 Aa	0,290
DCN	5,123 Aa	0,421 Aa	0,351
DCNE	4,100 Ab	0,283 Bb	0,237
Dieta ²			
Sem redução	4,966	0,441	0,288
Com redução	4,612	0,352	0,294
Enzima ²			
Sem Enzima	5,017	0,430	0,321 a
Com Enzima	4,561	0,363	0,262 b
ANOVA (Valor-P)			
Dieta	0,138	<0,0001	0,813
Enzima	0,064	<0,0001	0,042
Dieta*Enzima	0,027	<0,0001	0,053
EPM	0,229	0,024	0,027

DCP. Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN. Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE . Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7: Parâmetros ósseos de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)

	Parâmetros ósseos			
	Índice Seedor, mg/mm	Cinza, %	Cálcio, %	Fósforo, %
Tratamentos				
DCP	151,45	35,89	34,28	6,106
DCPE	145,80	35,43	39,89	6,530
DCN	134,64	33,07	34,24	5,825
DCNE	142,13	34,68	34,88	6,515
Dieta ²				
Sem redução	148,62	35,66	37,09	6,318
Com redução	138,38	33,88	34,56	6,170
Enzima ²				
Com Enzima	143,04	34,48	34,26	5,966
Sem Enzima	143,96	35,06	37,39	6,522
ANOVA (Valor-P)				
Dieta	0,124	0,067	0,719	0,932
Enzima	0,982	0,377	0,135	0,119
Dieta*Enzima	0,437	0,164	0,729	0,546
EPM	3,298	0,470	1,820	0,210

DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN- Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE .Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na morfologia do epitélio duodenal houve efeito da redução nutricional sobre a altura das vilosidades ($P=0,036$) e área absorptiva ($P=0,051$), em que as os animais que consumiram dietas sem redução nutricional obtiveram maiores alturas das vilosidades e maior área absorptiva quando comparados com animais que consumiram dieta com redução nutricional (Tabela 8).

Tabela 8: Morfologia do epitélio duodenal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)

	Duodeno				
	LV, μm	AV, μm	PC, μm	AV/PC	AA, μm^2
Tratamentos					
DCP	115,44	335,62	187,81	1,889	39813,30
DCPE	103,27	354,88	172,97	2,228	37656,46
DCN	98,30	296,25	172,83	1,906	29730,80
DCNE	99,87	311,37	148,68	2,268	32062,74
Dieta ²					
Sem redução	109,35	345,25 A	180,39	2,059	38734,88 A
Com redução	99,08	303,81 B	160,75	2,087	30896,77 B
Enzima ²					
Sem Enzima	106,87	315,93	180,32	1,897	34772,05
Com Enzima	101,57	333,12	160,82	2,248	34859,60
ANOVA (Valor-P)					
Dieta	0,153	0,036	0,130	0,822	0,051
Enzima	0,447	0,336	0,133	0,058	0,960
Dieta*Enzima	0,322	0,914	0,679	0,900	0,522
EPM	3,317	10,706	6,446	0,079	2005,840

LV- Largura de vilosidade, AV- Altura de vilosidade, PC- Profundidade de cripta, AA, Área absorptiva.

DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN- Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE . Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para a morfologia do epitélio jejunal, observou-se efeito de da redução nutricional sobre a altura das vilosidades ($P=0,002$) e profundidade de criptas ($P=0,037$), no qual os animais apresentaram menor altura de vilosidades e profundidade de cripta quando alimentados com dietas com redução nutricional. Para a suplementação enzimática observou-se que efeito sobre a profundidade de criptas ($P=<0,018$) e relação vilo cripta ($P=<0,005$), sendo que os animais que consumiram dietas com enzimas obtiveram maior PC e para a relação AV/PC houve aumento para os animais que consumiram dietas sem enzimas quando comparados com os animais que consumiram dietas com enzimas. A interação foi observada ($P=0,054$) para AA nos animais que consumiram dietas sem redução nutricional e dietas com adição de enzimas os quais obtiveram maior área de absorção quando comparado com os animais que consumiram dieta com a redução nutricional (Tabela 9).

Tabela 9: Morfologia do epitélio jejunal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)

Jejuno

	LV, μm	AV, μm	PC, μm	AV/PC	AA, μm^2
Tratamentos					
DCP	107,44	294,04	185,36	1,690	31517,77 Aa
DCPE	101,68	274,37	198,38	1,462	28227,49 Aa
DCN	87,62	236,27	155,73	1,661	20864,99 Ba
DCNE	99,85	247,13	186,91	1,429	25279,32 Aa
Dieta ²					
Sem redução	104,56	284,20 A	191,87 A	1,576	29872,63
Com redução	93,73	241,70 B	171,32 B	1,545	23072,16
Enzima ²					
Sem Enzima	97,53	265,15	170,55 b	1,675 a	26191,38
Com Enzima	100,76	260,75	192,64 a	1,445 b	26753,41
ANOVA (Valor-P)					
Dieta	0,121	0,002	0,037	0,648	0,010
Enzima	0,458	0,809	0,018	0,005	0,608
Dieta*Enzima	0,104	0,099	0,254	0,987	0,054
EPM	3,178	7,137	5,823	0,045	1316,900

LV- Largura de vilosidade, AV- Altura de vilosidade, PC- Profundidade de cripta, AA, Área absortiva.

DCP. Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN. Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE . Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para os parâmetros morfológicos do epitélio ileal observou-se interação ($P < 0,009$) para profundidade de criptas, no qual os animais que consumiram dieta sem redução nutricional maior PC, porém quando suplementada com as enzimas apresentou redução deste parâmetro. A redução nutricional reduziu a área absortiva ($P < 0,043$) dos animais no íleo (Tabela 10). Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas experimentais e sobre o glicogênio hepático (Figura 2).

Tabela 10: Morfologia do epitélio ileal de leitões desmamados alimentados com dietas com redução nutricional e com adição ou não de complexo enzimático (fitase e xilanase)

	Íleo				
	LV, μm	AV, μm	PC, μm	AV/PC	AA, μm^2
Tratamentos					
DCP	117,44	355,46	248,95 Aa	1,548	42081,84
DCPE	108,16	309,44	182,61 Ab	1,781	33883,48
DCN	102,69	312,55	178,97 Ba	1,793	32060,12
DCNE	111,16	277,68	177,43 Aa	1,620	30475,77
Dieta ²					
Sem redução	112,80	332,45	215,78	1,665	37982,66 A
Com redução	106,92	295,11	178,20	1,707	31267,94 B
Enzima ²					
Sem Enzima	110,07	334,00	213,96	1,670	37070,98
Com Enzima	109,66	293,56	180,02	1,701	32179,62
ANOVA (Valor-P)					
Dieta	0,255	0,167	0,005	0,534	0,043
Enzima	0,835	0,133	0,009	0,611	0,128
Dieta*Enzima	0,172	0,647	0,009	0,086	0,235
EPM	2,694	12,931	9,333	0,049	1774,870

LV- Largura de vilosidade, AV- Altura de vilosidade, PC- Profundidade de cripta, AA, Área absorviva.

DCP. Dieta controle; DCPE- Dieta controle com enzima; DCN. Dieta com redução energética de acordo com os valores da matriz do produto); DCNE .Dieta com redução energética e Complexo enzimático.

² Letras maiúsculas comparam Dietas (DCP vs DCN e DCPE vs DCNE), letras minúsculas comparam fator Enzima (DCP vs DCPE e DCN vs DCNE). Dentro de cada fator principal, médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

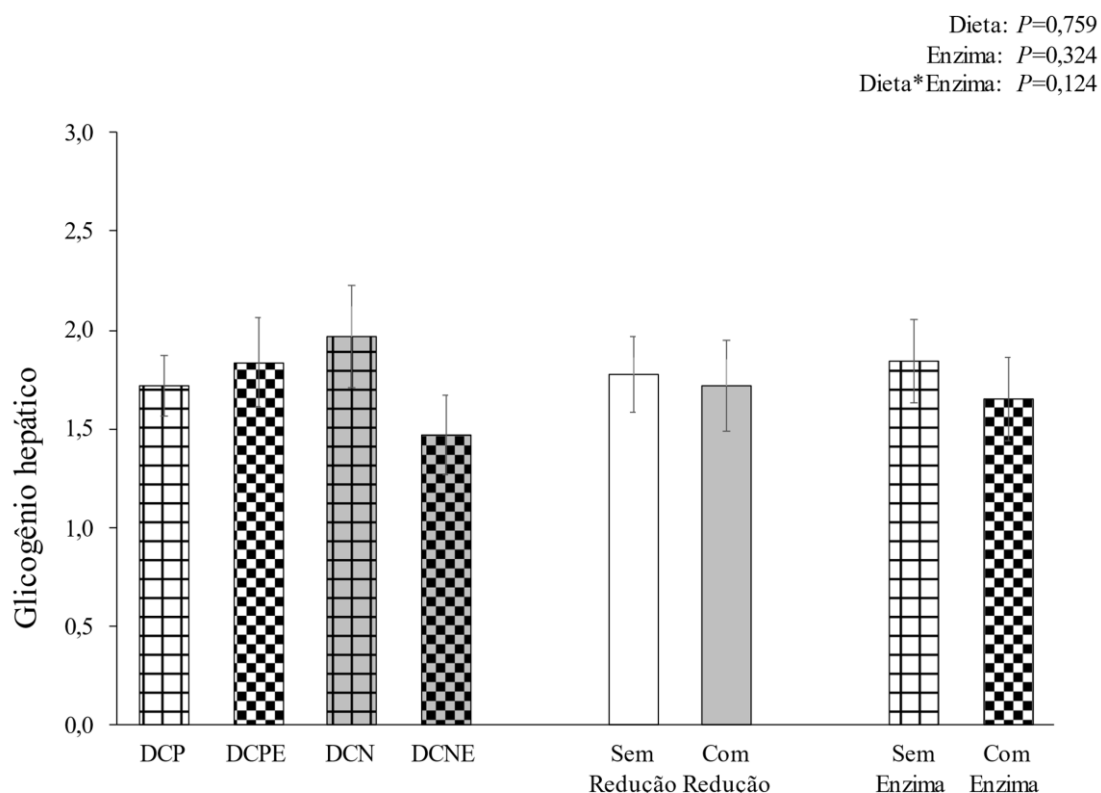


Figura 2: Efeito da redução nutricional de dietas com adição ou não de complexo enzimático (Fitase e Xilanase) sobre o glicogênio hepático. DCP- Dieta controle; DCPE- Dieta controle mais Complexo enzimático; DCN- Dieta controle negativo (redução energética de acordo com os valores da matriz Spectrum) mais complexo enzimático

5 DISCUSSÃO

Dietas com redução nutricional associadas a inclusão de enzimas exógenas foram propostas com objetivo de promover melhor aproveitamento dos ingredientes através da eficiência digestiva e aproveitamento dos nutrientes, promovendo assim melhor custo-benefício e consequentemente reduzir problemas entéricos e ambientais relacionadas à eliminação demasiada de nutrientes através das fezes. O fornecimento de dietas que atendem a exigência nutricional quando comparadas a dietas com menor densidade nutricional, principalmente no tocante a energia, exigem maior consumo de ração visando suprir as necessidades do animal (GONÇALVES et al., 2015).

No segundo e terceiro período de avaliação do presente estudo, como esperado, os animais que consumiram dietas com redução nutricional aumentaram o consumo diário de ração e consequentemente obtiveram piora na conversão alimentar, isso pode estar relacionado pelo fato da dieta apresentar menor quantidade de nutrientes havendo a necessidade de maior

ingestão de ração por parte dos animais para atendimento de suas exigências nutricionais. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores em que suínos alimentados com dietas deficientes em nutrientes, como energia, aminoácidos, P e Ca, tiveram resultados de desempenho inferiores (OLUKOSI; SANDS; ADEOLA, 2007; WOYENGO et al., 2008; LU, H. et al., 2016; LEE et al., 2019).

Conforme relatado por Paulo (2018), quando utilizou dietas sem e com redução nutricional e dietas suplementadas com complexo enzimático em diferentes fases de produção de suínos, foram observadas respostas para aumento no ganho de peso diário e melhoria na conversão alimentar para os animais que consumiram dieta suplementada com o complexo enzimático contendo protease, carboidrases e fitase melhorando o desempenho de suínos no período de crescimento e terminação. Esses resultados são semelhantes ao presente estudo, em relação à conversão alimentar no terceiro período quando utilizou complexo enzimático nas dietas, no entanto a melhora na conversão alimentar foi acompanhada de redução no consumo de ração e ganho diário de peso dos animais.

No presente estudo verificou-se que no primeiro período os animais que consumiram dietas sem redução nutricional, apresentaram maiores escores fecais com notas próximas à 3, indicando maior frequência de diarreia, visto que o escore fecal reflete a saúde digestiva dos leitões. Uma pontuação alta indica alta incidência de diarreia, a baixa ingestão de alimentos afetada pelo período pós desmame em leitões faz com que esses animais experimentem mudanças fisiológicas na estrutura e função (atividades enzimáticas e absorção ou secreção) do intestino. De acordo com Pluske et al. (1997), essas mudanças fisiológicas afetam a capacidade de absorção do intestino delgado, o que provavelmente pode influenciar a eficiência alimentar aumento os substratos nutricionais para crescimento de bactérias patogênicas como *E. coli*, além aumentado a taxa osmolaridade no trato digestório afetando a capacidade abortiva e com isso aumentado a incidência de diarreia.

A diarreia pós-desmame pode reduzir o desempenho do crescimento e afetar o desenvolvimento dos sistemas gastrointestinal e imunológico dos leitões (LALLES et al., 2007; CAMPBELL; CRENSHAW; e POLO, 2013). Por ser considerada um fator limitante no período de crescimento em leitões, uma vez que reduz seu desempenho, causando lesões nas microvilosidades e a profundidade das criptas, comprometendo a capacidade absorptiva dos nutrientes, e consequentemente a saúde intestinal dos animais (DUARTE e KIM, 2021; JANG et al., 2021).

Nas dietas com redução nutricional os animais tiveram redução de 0,2 % de PB. Dietas redução de PB nas dietas influencia na diminuição de substratos presentes no TGI evitando

crescimento de bactérias patogênicas e consequentemente redução do escore fecal (PLUSKE et al. 1997). Yue e Qiao (2008) reduziram o nível de PB da dieta de 23,1% para 18,9% da suplementação com suplementadas com quatro aminoácidos e relataram menor incidência de diarreia pós desmame e uma melhora simultânea na consistência fecal.

A suplementação enzimática tem sido vista como alternativa para prevenção de diarreia em leitões desmamados, em nosso estudo não foi verificado este papel da suplementação enzimática. A inclusão da fitase e carboidrases em dietas para leitões desmamados pode ser considerada como alternativa frente à incidência de diarreia, pois apresenta capacidade de restringir a ocorrência dessa enfermidade (BRANDÃO MELO et al., 2020). A ação das enzimas no aumento da disponibilidade de nutrientes pode contribuir na redução da incidência de diarreia causada por ração não digerida, frequentemente observada em leitões na fase de pós-desmame. Para melhorar a disponibilidade de nutrientes, as enzimas exógenas provavelmente ajudam na redução da porcentagem residual de ração não digerida. (NORTEY et al., 2007). Em estudo recente Zhao et al. (2022) mostraram que a suplementação de fitase e hidroxivitamina D3 em dieta com redução nutricional diminuiu a taxa de diarreia de leitões desmamados durante todo o período. Conforme relatado por Boontiam et al. (2022) diferentes níveis de xilanase em dieta para leitões reduziram a incidência de diarreia, quando comparado com a dieta controle, conforme aumentava-se os níveis de xilanase ocorria redução na porcentagem de fezes diarreicas.

Os parâmetros bioquímicos séricos são importantes marcadores para avaliar função hepática, renal e biodisponibilidade dos nutrientes. As concentrações de CRC dentro do padrão considerado normal para suínos que é de 1,0 a 2,7 U/dL (KANEKO et al., 2008), concentrações muito altas de CRC no sangue indicam deficiência na funcionalidade renal, no entanto, no presente estudos os valores de CRC não foram superiores à 2 U/dL, indicando que as dietas não trouxeram prejuízos quanto a esse metabólito.

Existem metabólitos séricos que indicam possível lesão em outros tecidos, como é o caso de AST e ALT, que são enzimas intracelulares e estão presentes em quantidades elevadas no citoplasma dos hepatócitos. Quando ocorre lesões ou destruição das células hepáticas, há liberação dessas enzimas para a circulação (SYLVIO, 2009). A enzima GGT sérica também pode ser parâmetro para lesão hepática, embora esteja em maior quantidade no tecido renal, a sua relevância está relacionada a enfermidades do fígado e das vias biliares. Essa enzima está presente nos hepatócitos e nas células epiteliais biliares, sendo considerada uma marcadora de lesão hepatobiliar (ARAÚJO et al. 2005). Enzimas como A ALP está amplamente distribuída nos tecidos, pode estar predominante no soro e origina-se, principalmente, do fígado e tecido

ósseo, apesar de sua função metabólica não está totalmente definida, parece estar associada com o transporte lipídico no intestino e com processo de calcificação óssea (MOTTA, 2003). No presente estudo, os parâmetros séricos citados não foram alterados pela redução nutricional ou pela suplementação enzimática, indicando que esses fatores não interferiam na funcionalidade hepática e renal.

As concentrações séricas de cálcio e fósforo podem ser um indicativo do destino metabólico dos nutrientes no pós prandial, ou mesmo da necessidade de mobilização óssea para atender as necessidades metabólicas, mediadas pelo paratormônio e calcitonina (CUNNINGHAM, 2011). No presente estudo, as concentrações séricas de cálcio foram alteradas, animais alimentados com dietas com redução nutricional tiveram maiores concentrações de cálcio. Por ser um macro mineral exigido em muitos processos metabólicos, mediando várias reações principalmente como cofator (NELSON e COX, 2022), quando fornecido dieta deficiente nesse mineral, pode ter ocorrido deficiência e portanto, necessidade de mobilização óssea, mediada por calcitonina, e assim elevado o cálcio circulante.

Curiosamente, quando avaliado as concentrações séricas de fósforo, ocorreu comportamento inverso, a dieta com redução nutricional provocou também redução no fósforo circulante, indicando correlação direta entre o fósforo fornecido via dieta e a concentração sérica (DELLAERT et al. 1990; EECKHOUT et al. 1995). Além disso, a suplementação de dietas com fitase resulta em aumento de fósforo inorgânico plasmático (ADEOLA 1995; 2004; GENTILE et al. 2003; BEAULIEU et al. 2007), no entanto, no presente estudo a suplementação de fitase não foi suficiente para observar esse comportamento.

A concentração de matéria mineral bem como a densidade óssea são parâmetros importantes para avaliar a sanidade do tecido esquelético, esses fatores são afetados pela disponibilidade de minerais fornecidos na dieta dos animais, como o fósforo, essas concentrações dietéticas são importantes, pois estão relacionadas com uma deposição constante de fósforo no tecido ósseo (PETERSEN et al., 2011). O fornecimento eficiente de fósforo durante a fase inicial da produção de suínos é crucial para atingir a máxima mineralização óssea durante as fases posteriores da vida do animal (VARLEY et al., 2011abc).

Como verificado nos resultados, não foi observado efeito sobre nos parâmetros ósseos, nossos resultados são semelhantes aos verificados por Ferreira (2015), que não observou alterações dessas variáveis no metacarpo de suínos em crescimento, que receberam dietas com redução nutricional (fósforo e energia metabolizável) com inclusão de complexo enzimático contendo fitase e xilanase quando comparado com dieta sem redução nutricional e sem adição de enzimas.

A suplementação com enzimas exógenas pode ser capaz de melhorar a digestibilidade dos nutrientes estando diretamente relacionada aos processos metabólicos e consequentemente resultados de desempenho de leitões (HUANG et al., 2021; MOITA; DUARTE; KIN, 2022), a alteração na digestibilidade de ácido fítico ou componentes fibrosos da dieta como os PNAs podem liberar nutrientes complexados à moléculas que anteriormente estariam indisponíveis para absorção no epitélio intestinal, além disso os PNAs podem aumentar a viscosidade da digesta (SELLE e RAVINDRAN, 2008; LEI et al., 2013; PASSOS et al., 2015; LEE et al., 2019), que reduzem a digestibilidade dos nutrientes em animais não ruminantes.

No presente estudo foi possível observar que principalmente os resultados de coeficiente de digestibilidade de FDN e FDA foram maiores em dietas com suplementação enzimática, indicando o efeito do complexo enzimático evidenciando a atividade da xilanase, como degradadora de PNAs e fitase, que pode hidrolisar PNAs e fitato, assim, liberar mais nutrientes para o trato digestivo e aumentar a digestibilidade de nutrientes em suínos (LU et al., 2016; LEI et al., 2013). Os resultados encontrados no presente estudo corroboram os encontrados por Paulo (2018), em que avaliando a suplementação de complexo enzimático contendo protease, carboidrase e fitase observou maior digestibilidade de FDN, FDA.

No presente estudo, quando avaliado a digestibilidade dos nutrientes em função da redução nutricional percebe-se que o coeficiente de digestibilidade da matéria mineral foi menor em dietas com redução nutricional, bem como a digestibilidade do fósforo, que também foi menor em dietas com redução nutricional, evidenciando uma relação entre digestibilidade de fósforo e matéria mineral. Esses resultados corroboram os encontrados por Huang et al. (2021) que utilizando dietas com redução nutricional apresentaram menor digestibilidade de MM e P. Em contrapartida Lu et al., (2016) chegaram a resultados distintos, em que utilizando dietas com redução de nutrientes porém com adição de complexo enzimático contendo (fitase, xilanase e β -glucanase), observaram aumento médio de 14% na digestibilidade de fósforo.

Foi observado neste estudo que a suplementação enzimática pode afetar o peso de órgãos, principalmente quanto há redução nutricional. Diante destes aspectos, Rao e McCracken (1992) afirmam que a variação nos pesos dos órgãos está inteiramente relacionada a quantidade de energia e/ou proteína consumida na dieta; quando rações são fornecidas com nutrientes e quantidades iguais, os pesos tendem a ser semelhantes. Dessa forma pode-se constatar que variações de peso de órgãos estão mais atribuídas aos níveis nutricionais da dieta.

No presente estudo foi possível observar diferentes valores em percentuais no peso dos órgãos de animais que consumiram dietas que continham nutrientes que atendiam as exigências nutricionais (DCP) e dietas com redução na matriz nutricional com adição complexo enzimático

(DCNE), foi verificado uma diferença de 16,5 % no peso relativo do fígado, 35,53 % no pâncreas e 17,13 % no baço.

Jorge Neto (1992) relata que maior peso do pâncreas pode ser resultado da presença dos inibidores de tripsina na proteína da soja, cujo fator está relacionado a inativação desta enzima pancreática no trato gastrointestinal, estimulando o aumento dos órgãos para corrigir esta deficiência. No presente estudo, não foi diferente. Animais alimentados com dieta com redução nutricional com suplementação de complexo enzimático tiveram fígado, pâncreas e baço com peso menor, talvez isso se explique pela ação das enzimas em atingir a quantidade de substratos suficientes para que não ocorra o aumento do tamanho dos órgãos.

Suínos alimentados com dietas contendo farelo de soja e farelo de canola tiveram baços mais pesados do que os suínos alimentados com dietas contendo farelo de canola descascado e farelo grosso de canola; além disso, a adição de xilanase às dietas fornecidas aos suínos também resultou no aumento do tamanho relativo dos baços, o que pode estar relacionado a uma atividade excessiva da função do baço de destruir glóbulos vermelhos velhos; além disso, sugere uma relação entre a suplementação de xilanase e o aumento do desenvolvimento do baço, que é um órgão relacionado ao sistema imunológico que produz anticorpos (JIA E PAMER, 2009) impactando positivamente a capacidade imunológica dos suínos.

As características morfológicas intestinais são avaliadas de acordo com parâmetros como altura das vilosidades e profundidade das criptas, que indicam capacidade de absorção da mucosa intestinal, pois quanto maior a vilosidade, maior é a área de contato dos enterócitos, aumentando a área de absorção de nutrientes. (CATALAN et al., 2016).

A estrutura do epitélio intestinal indica eficiência na capacidade absorptiva dos nutrientes, menor altura de criptas indicam um intestino delgado saudável, necessitando de menor turnover celular, fazendo com que os nutrientes sejam destinados para ganho produtivo e não para a renovação celular do próprio epitélio do intestino (LEMOS et al., 2013). A relação vilo/cripta é um indicador de capacidade digestiva do intestino, quando observa-se maior altura de vilosidade e menor profundidade de cripta. Dessa forma, o aumento desta relação corresponde à melhor digestão e absorção de nutrientes (MONTAGN, PLUSKE, HAMPSON 2003).

No nosso estudo foi possível observar que a dieta com redução nutricional promoveu os piores resultados quanto a estrutura do epitélio intestinal. No duodeno a dieta controle negativo promoveu menor AV e AA quando comparada com a dieta controle positivo. De forma semelhante, no jejuno a dieta controle negativo promoveu menor AV porém acompanhada de

menor PC. Já no íleo a dieta controle negativo promoveu menor AA em detrimento da dieta controle positivo. A estrutura do epitélio intestinal está relacionada com os resultados de desempenho, visto que na terceira fase experimental, próximo ao período do abate e coletas histológicas os leitões tiveram maior CDR, porém menor GDP e CA em dietas com redução nutricional, indicado que os nutrientes provenientes do maior CDR podem ter sido utilizado para turnover celular em detrimento de deposição muscular como sugerem (Pluske et al, 1997). Os resultados encontrados no nosso estudo corroboram os resultados encontrados por Zuo et al., (2015) verificou que a dieta sem redução nutricional em detrimento de uma dieta com redução nutricional contribuiu para maior AV e relação AV/PC.

Quando observado a ação da suplementação com fitase e xilanase nas dietas, foi possível observar que no epitélio jejunal, as dietas com suplementação enzimática aumentaram a PC e consequentemente reduziu a relação AV/PC, no entanto no íleo, especificamente em dietas sem redução nutricional a suplementação com fitase e xilanase promoveu menor PC. De forma diferente, Liu et al (2023) em estudo que utilizou fitase, β -mananase, β -glucanase e xilanase, apresentaram efeitos positivos na morfologia duodenal, aumentando AV e AV/PC e diminuindo PC, resultado semelhante aos encontrados por Luise (2020) avaliando a suplementação com complexo enzimático. Moita et al. (2021) observaram que a suplementação dietética de fitase aumentou a AV e a LV dos frangos de corte. Moita, Duarte e Kim (2022) relataram que ao utilizar níveis crescentes (0, 220, 440, 880 e 1.760 unidades) de xilanase, foi crescente o aumento na AV quando comparada com a dieta sem suplementação de xilanase.

O fígado é um órgão metabólico chave que regula o metabolismo de todo o corpo em animais e humanos (LIU et al., 2021). Quando o fornecimento energético é inadequado, hormônios estimulam a degradação de glicogênio hepático e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia (DIAZ e SILVA 2008). Nesse sentido, a observação de escore de glicogênio hepático pode ser um indicativo de deficiência energética provocada por dieta que não atende a exigência nutricional do animal, ou mesmo baixo consumo, exigindo mobilização de glicogênio no fígado. No presente estudo, não ocorreu alteração no escore de glicogênio hepático, isso pode ter ocorrido por uma regulação da glicemia por modificação no consumo, visto que em dietas com redução nutricional ocorreu também aumento no CDR como efeito compensatório.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a redução nutricional das dietas afetou negativamente os leitões e que a suplementação enzimática (fitase e xilanase) não foi suficiente para o desafio nutricional.

REFERÊNCIAS

- AARNINK, A. J. A.; VERSTEGEN, M. W. A. Nutrition, key factor to reduce environmental load from pig production. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p. 194-203, 2007.
- ADEOLA, O. Digestive utilization of minerals by weanling pigs fed copper-and phytase-supplemented diets. **Canadian Journal of Animal Science**, 75(4), 603-610, 1995.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of animal science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- AGYEKUM, A. K.; SLOMINSKI, B. A.; NYACHOTI, C. M. Organ weight, intestinal morphology, and fasting whole-body oxygen consumption in growing pigs fed diets containing distillers dried grains with solubles alone or in combination with a multienzyme supplement. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 9, p. 3032-3040, 2012.
- AMAEFULE, R. A.; ONUNKWO, D. N.; ILOUNO, O. C.; IWUJI, T. C.; OGBUEWU, I. P.; ETUK, I. F. Live and internal organ weights of male growing pigs fed low protein and low energy diets supplemented with multi-enzyme. **Nigerian Journal of Animal Production**, v. 47, n. 6, p. 99-107, 2020.
- ANDRADE, T. V.; SANTOS, R. N. V.; SANTOS, C. B.; ARAÚJO, D. J.; BRAULINO, D. S.; MOURA, M. V. T. P. Tanino em resíduos e subprodutos alimentares para a alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, 12:4230-4236, 2015.
- ARAUJO B.M.L.; LIMA S.D.; DALTRO C. Associação da gama-glutamil transferase e a síndrome metabólica em mulheres obesas. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol.49 nº 4 São Paulo, 2005.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official methods of analysis**, volume 2, 18th edition. AOAC, Maryland, USA. 2005.
- BAKER, J. T.; DUARTE, M. E.; HOLANDA, D. M.; KIM, S. W. Friend or foe? Impacts of dietary xylans, xylooligosaccharides, and xylanases on intestinal health and growth performance of monogastric animals. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 609, 2021.
- BEAULIEU, A. D.; BEDFORD, M. R.; PATIENCE, J. F. Supplementing corn or corn-barley diets with an E. coli derived phytase decreases total and soluble P output by weanling and growing pigs. **Canadian journal of animal science**, 87(3), 353-364, 2007.
- BEDFORD e GG PARTRIDG. Enzimas na nutrição de animais de produção. 2ª ed..Wallingford (ReinoUnido):Editora CABI; pág. 304–312. 2010.
- BEDFORD, M. A.; SCHULZE, H. Exogenous enzymes for pigs and poultry. **Nutrition research reviews**, 11(1), 91-114. 1998.
- BERROCOSO, J. D.; SALDAÑA, B., SERRANO, M. P.; CÁMARA, L.; IBÁÑEZ, M. A.; MATEOS, G. G. Influence of crude protein content, ingredient complexity, feed form, and duration of feeding of the phase I diets on productive performance and nutrient digestibility of Iberian pigs. **Journal of Animal Science**, 91(3), 1237-1246. 2013.
- BERROCOSO, J. D.; SERRANO, M. P., CÁMARA, L.; REBOLLAR, P. G.; MATEOS, G. G. Influence of diet complexity on productive performance and nutrient digestibility of weanling pigs. **Animal feed science and technology**, 171(2-4), 214-222. 2012.

BOONTIAM, W.; PHAENGHAIREE, P.; VAN HOECK, V.; VASANTHAKUMARI, B. L.; SOMERS, I.; WEALLEANS, A. Xylanase impact beyond performance: Effects on gut structure, faecal volatile fatty acid content and ammonia emissions in weaned piglets fed diets containing fibrous ingredients. **Animals**, v. 12, n. 21, p. 3043, 2022.

BRANDÃO MELO, A.D.; OLIVEIRA, A.C.F.; SILVA, P.; SANTOS, J.B.; MORAIS, R.; OLIVEIRA, G.R.; WERNICK, B.; CARVALHO, P.L.O.; ARTONI, S.M.B.; COSTA, L.B. 6-phytase and/or endo- β -xylanase and -glucanase reduce weaner piglet's diarrhea and improve bone parameters. **Livestock Science**, v.238, n.8, p1-8, 2020.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2013.

CAMPESTRINI E.; SILVA V.T.M.; APPELT M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime** 2:254-267. 2005.

CHEN, H.; ZHANG, S.; KIM, S. W. Effects of supplemental xylanase on health of the small intestine in nursery pigs fed diets with corn distillers' dried grains with solubles. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 6, p. skaa185, 2020.

CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 1, p. 5-16, 2006.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: classification and function. **Animal Production Science**, v. 55, n. 12, p. 1360-1366, 2015.

CLARK, Michael; TILMAN, David. Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 6, p. 064016, 2017.

CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T.; SHOULTEN, N. A.; BERTECHINI, A. G. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p. 1147-1156, set/out, 2003.

CROMWELL, G.L. Phytase appears to reduce phosphorus in feed, manure. **Feedstuffs**, v.63, p.41, 1991.

CROMWELL, G.L.; COFFEY, R.D.; MONEGUE, H.J.; RANDOLPF, J.H. Efficacy of low-activity, microbial phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.73, p.449- 456, 1995a.

CROMWELL, G.L.; COFFEY, R.D.; PARKER, G.R.; MONEGUE, H.J.; RANDOLPF, J.H. Efficacy of a recombinant-derived phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2000-2008, 1995b.

CROMWELL, G.L.; STAHLY, T.S.; COFFEY, R.D. MONEQUE, H.J.; RANDOLPF, J.H. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1831-1840, 1993.

CUNNINGHAM, J. **Tratado de fisiologia veterinária**. Elsevier Health Sciences, 2011.

DE ARAUJO, J. A.; DA SILVA, J. H. V.; DE LIMA AMÂNCIO, A. L.; DE LIMA, M. R.; LIMA, C. B. (2007). Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasília**, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.

- DE JONG, J. A.; WOODWORTH, J. C.; DEROUCHÉY, J. M.; GOODBAND, R. D.; TOKACH, M. D.; DRITZ, S. S.; JONES, C. K. Stability of four commercial phytase products under increasing thermal conditioning temperatures. **Translational Animal Science**, v. 1, n. 3, p. 255-260, 2017.
- DE LANGE, C. F. M.; PLUSKE, J.; GONG, J.; NYACHOTI, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, n. 1-3, p. 124-134, 2010.
- DE SOUZA, J. P. P.; LOPES, I. M. G. Enzimas exógenas na dieta de leitões desmamados. **Ciência Animal**, v. 32, n. 2, p. 68-84, 2022.
- DELLAERT B.M.; VAN DER PEET G. F. V.; JONGBLOED A.W.; BEERS S. Uma comparação de diferentes técnicas para avaliar a disponibilidade biológica de fosfatos alimentares na alimentação de suínos. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, 38 (3B), 555-566, 1990.
- DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; CHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **J. Sci. Food Agric**, v. 95, p. 878-96, 2015.
- DIAZ GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. (Patologia clínica veterinária: texto introdutório. *Porto Alegre*: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008).
- DONG, G. Z.; PLUSKE, J. R. The low feed intake in newly weaned pigs: problems and possible solutions. *Asian-Aust. Journal Animal Science*, v.20, n.3, p.440-452, 2007.
- DUARTE, M. E.; e KIM, S. W. Intestinal microbiota and its interaction to intestinal health in nursery pigs. **Animal Nutrition**, v. 8, p. 169-184, 2022.
- DUARTE, M. E.; TYUS, J.; KIM, S. W. Synbiotic effects of enzyme and probiotics on intestinal health and growth of newly weaned pigs challenged with enterotoxigenic F18+ *Escherichia coli*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 573, 2020.
- DUARTE, M. E.; ZHOU, F. X.; DUTRA JR, W. M.; KIM, S. W. Dietary supplementation of xylanase and protease on growth performance, digesta viscosity, nutrient digestibility, immune and oxidative stress status, and gut health of newly weaned pigs. **Animal Nutrition**, 5(4), 351-358, 2019.
- ECKHOUT, W.; DE PAEPE, M.; WARNANTS, N.; BEKAERT, H. An estimation of the minimal P requirements for growing-finishing pigs, as influenced by the Ca level of the diet. **Animal Feed Science and Technology**, 52(1-2), 29-40, 1995.
- FARIAS, T. V. A. Xilanase, fitase e protease isoladas e associadas em dietas com ajustes nutricionais para suínos machos castrados dos 30 aos 100 kg. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2021.
- FERREIRA R. C. Efeito das enzimas fitase e xilanase sobre a disponibilidade de fósforo em dietas para suínos dos 63 aos 103 dias de idade. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 2015.
- GANESAN, M.; NATESAN, S.; RANGANATHAN, V. Método espectrofotométrico para determinação de paraquat. **Analista**, v. 104, n. 1236, pág. 258-261, 1979.

GENTILE, J. M.; RONEKER, K. R.; CROWE, S. E.; POND, W. G.; LEI, X. G. Effectiveness of an experimental consensus phytase in improving dietary phytate-phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of animal science**, 81(11), 2751-2757, 2003.

GONÇALVES L. M. P.; KIEFER C., SOUZA, K. M. R.; MARÇAL D. A.; ABREU R. C.; SILVA, A. M. P. S.; ALENCAR, S. A. S. Níveis de energia líquida para suínos machos castrados em terminação. **Ciência Rural**, v. 45, p. 464-469, 2015.

GONZÁLEZ-ORTIZ, G.; CALLEGARI, M. A.; WILCOCK, P.; MELO-DURAN, D.; BEDFORD, M. R.; OLIVEIRA, H. R.; DA SILVA, C. Dietary xylanase and live yeast supplementation influence intestinal bacterial populations and growth performance of piglets fed a sorghum-based diet. **Animal Nutrition**, 6(4), 457-466. 2020.

HEO, J.M.; OPAPEJU, F.O.; PLUSKE, J.R.; KIM, J.C; HAMPSO, D.J.; NYACHOT, C.M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 97, n. 2, p. 207-237, 2013.

HEO, J. M.; KIM, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLAN, B. P., HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. **Archives of Animal Nutrition**, 62(5), 343-358, 2008.

HEO, J.M.; KIM, J.C.; HANSEN, C.F.; MULLAN, B.P.; HAMPSON, D.J.; PLUSKE, J.R. HEO, Jung-Min et al. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhoea and performance after weaning. **Archives of Animal Nutrition**, v. 62, n. 5, p. 343-358, 2008.

HOGBERG, A.; AND J. E. LINDBERG. The effect of level and type of cereal non-starch polysaccharides on the performance, nutrient utilization and gut environment of pigs around weaning. **Anim. Feed Sci. Technol.** 127: 200-219, 2006.

HUANG, Y. K.; ZHAO, L.; SUN, H.; XU, X. M.; MAAMER, J.; PREYNAT, A.; QI, D. S. A Multicarbohydase and Phytase Complex Is Able to Compensate a Nutrient-Deficiency in Growing-Finishing Pigs. **Animals**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1129, 2021.

INOUE, R.; T. TSUKAHARA, M.; NAKATANI, M.; OKUTANI, R.; NISHIBAYASHI, S.; OGAWA, T.; HARAYAMA, T.; NAGINO, H.; HATANAKA, K.; FUKUTA, G. A.; ROMERO-PÉREZ, K.; USHIDA, KELLY. Weaning markedly affects transcriptome profiles and peyer's patch development in piglet ileum. **Front. Immunol.** 2015.

ISHAK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; DE GROOTE, J.; GUDAT, F.; THALER, H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of hepatology**, 22(6), 696-699, 1995.

JANG, Y. D.; WILCOCK, P.; BOYD, R. D.; LINDEMANN, M. D. Effect of combined xylanase and phytase on growth performance, apparent total tract digestibility, and carcass characteristics in growing pigs fed corn-based diets containing high-fiber coproducts. **Journal of Animal Science**, 95(9), 4005-4017. 2017.

JHA, R.; BERROCOSO, J. D. Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine. **Animal**, v. 9, n. 9, p. 1441-1452, 2015.

- JI, W., LI, X.; ZHANG, X.; LIU, R.; SHU, Y.; CHENG, Z.; BAO, J. Effects of two different early socialization models on social behavior and physiology of suckling piglets. **Applied Animal Behaviour Science**, 243, 105436.2021.
- JIA, T.; PAMER, E. G. Dispensable but not irrelevant. *Science*, 325(5940), 549-550, 2009.
- JORGE NETO, G. Soja integral na alimentação de aves e suínos. **Avicultura Industrial**, v. 82, n. 988, p. 4-15, 1992.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). Clinical biochemistry of domestic animals. Academic press, 2008.
- KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; PAPPAS, A. C.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R.. Effects of different dietary phytase activities on the concentration of antioxidants in the liver of growing broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 94, n. 4, p. 519-526, 2010.
- KHAFIPOUR, E.; MUNYAKA, P. M.; NYACHOTI, C. M.; KRAUSE, D. O.; RODRIGUEZ-LECOMPTE, J. C. Effect of crowding stress and Escherichia coli K88+ challenge in nursery pigs supplemented with anti-Escherichia coli K88+ probiotics. **Journal of Animal Science**, 92(5), 2017-2029. 2014.
- KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition research reviews**, v. 26, n. 1, p. 71-88, 2013.
- KIM, J. C.; SANDS, J. S.; MULLAN, B. P.; PLUSKE, J. R. Performance and total-tract digestibility responses to exogenous xylanase and phytase in diets for growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 142, n. 1-2, p. 163-172, 2008.
- KIM, J.C.; HEO, J.M.; MULLAN, B.P.; PLUSKE, J.R. Efficacy of a reduced protein diet on clinical expression of post-weaning diarrhoea and life-time performance after experimental challenge with an enterotoxigenic strain of Escherichia coli. **Animal Feed Science and Technology**, v. 170, n. 3-4, p. 222-230, 2011.
- LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 2, p. 260-268, 2007.
- LAN, R.; LI, T.; KIM, 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.
- LEE, J.W; PATTERSON, R.; ROGIEWICZ, A.; WOYENGO, T.A. Digestibilidade de nutrientes de dietas de baixa energia e AA suplementadas com multienzimas para suínos em engorda. **J. Anim. ciência**, 97, 2979–2988, 2019.
- LEI, X. G.; PORRES, J. M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology letters**, v. 25, n. 21, p. 1787-1794, 2003.
- LEI, X. G.; WEAVER, J. D.; MULLANEY, E.; ULLAH, A. H.; AZAIN, M. J. Phytase, a new life for an “old” enzyme. **Annu. Rev. Anim. Biosci.**, 1(1), 283-309, 2013.

- LEI, X.G.; KU, P.K.; MILLER, E.R. ; YOKOYAMA, M.T. Supplementing cornsoybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytase phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3359-3367, 1993.
- LEI, X.G; PORRES, J. M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology letters**, v. 25, p. 1787-1794, 2003.
- LEMOS, M. J.; CALIXTO, L. F. L.; NASCIMENTO, A. A.; SALES, A.; SANTOS, M. A. J.; AROUCHA, R. J. N. Morphology of the intestinal epithelium of Japanese quail fed with cell wall *Saccharomyces cerevisiae*, **Ciência Rural**, v,43, n,12, p,2221-2227, 2013.
- LIMA, M. R; SILVA, J. H. V.; ARAUJO, J. A.; LIMA, C. B.; OLIVEIRA, E. R. A. (Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, 1(4), 99-110, 2007.
- LIU, F.; LI, J.; NI, H.; AZAD, M. A. K.; MO, K.; YIN, Y. The Effects of Phytase and Non-Starch Polysaccharide-Hydrolyzing Enzymes on Trace Element Deposition, Intestinal Morphology, and Cecal Microbiota of Growing–Finishing Pigs. **Animals**, 13(4), 549, 2023.
- LIU, Y.; TANG, J.; HE, Y.; JIA, G.; LIU, G.; TIAN, G.; ZHAO, H. Selenogenome and AMPK signal insight into the protective effect of dietary selenium on chronic heat stress-induced hepatic metabolic disorder in growing pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 12(1), 1-14, 2021.
- LOPEZ GÁLVEZ, G.; ALONSO, M.L.; PECHOVA, A.; MAYO, B.; DIERICK, N.; GROPP, J. Alternatives to antibiotics and trace elements (copper and zinc) to improve gut health and zootechnical parameters in piglets: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.271, n.1, p.1-89, 2021.
- LORENA-REZENDE, I. M. B. D.; DUTRA JUNIOR, W. M.; REZENDE, F. M. D.; PALHARES, L. O.; LUDKE, M. D. C. M. M.; RABELLO, C. B. V. Digestibility of the cottonseed meal with or without addition of protease and phytase enzymes in swine diet. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 34, 259-265, 2012.
- LU, H.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P. A.; ADEOLA, O.; AJUWON, K. M. Effects of dietary supplementation of exogenous multi-enzyme mixture containing carbohydrases and phytase on growth performance, energy and nutrient digestibility, and selected mucosal gene expression in the small intestine of weanling pigs fed nutrient deficient diets. **Canadian Journal of Animal Science**, 96(2), 243-251, 2016.
- LUISE D.; CHALVON-DEMERSAY, T.; LAMBERT, W.; BOSI, P.; TREVISI, P. Meta-analysis to evaluate the impact of the reduction of dietary crude protein on the gut health of post-weaning pigs. **Italian Journal of Animal Science**, v. 20, n. 1, p. 1386-1397, 2021.
- LUISE, D.; MOTTA, V.; BOUDRY, C.; SALVARANI, C.; CORREA, F.; MAZZONI, M.; TREVISI, P. The supplementation of a corn/barley-based diet with bacterial xylanase did not prevent diarrhoea of ETEC susceptible piglets, but favoured the persistence of *Lactobacillus reuteri* in the gut. **Livestock Science**, v.240, n.11, p.1-10, 2020.
- LYNEGAARD, J. C., KJELDSSEN, N. J., BACHE, J. K., WEBER, N. R., HANSEN, C. F., NIELSEN, J. P., AMDI, C. Low protein diets without medicinal zinc oxide for weaned pigs reduced diarrhea treatments and average daily gain. **Animal**, 15(1), 100075, 2021.
- MASEY O'NEILL, H. V.; SMITH, J. A.; BEDFORD, M. R. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 27, n. 2, p. 290-301, 2014.

- MCLAMB, B. L.; GIBSON, A. J.; OVERMAN, E. L., STAHL, C.; MOESER, A. J. Early weaning stress in pigs impairs innate mucosal immune responses to enterotoxigenic *E. coli* challenge and exacerbates intestinal injury and clinical disease. **PloS one**, 8(4), e59838. 2013.
- MOESER, A. J.; POHL, C. S.; RAJPUT, M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. **Animal Nutrition**. v. 3, n. 4, p. 313-321, 2017.
- MOITA, V. H. C.; DUARTE, M. E.; KIM, S. W. Functional roles of xylanase enhancing intestinal health and growth performance of nursery pigs by reducing the digesta viscosity and modulating the mucosa-associated microbiota in the jejunum. **Journal of Animal Science**, v. 100, n. 5, p. skac116, 2022.
- MOITA, V. H. C.; DUARTE, M. E.; KIM, S. W. Supplemental effects of phytase on modulation of mucosa-associated microbiota in the jejunum and the impacts on nutrient digestibility, intestinal morphology, and bone parameters in broiler chickens. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3351, 2021.
- MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young nonruminant animals. **Animal feed science and technology**, amsterdam, v.108, p95-117, 2003.
- MOTTA V. T. Princípios e Interpretações de Bioquímica Clínica. Ed. EDUCS.
- NDOU, S. P.; KIARIE, E.; AGYEKUM, A. K.; HEO, J. M.; ROMERO, L. F.; ARENT, S.; NYACHOTI, C. M. Comparative efficacy of xylanases on growth performance and digestibility in growing pigs fed wheat and wheat bran-or corn and corn DDGS-based diets supplemented with phytase. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 230-239, 2015.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2022.
- NEWMANN, C. W. The US marker for feed enzymes: what opportunities exist. In: **Alltech's Annual Symposium**. p. 99-116.1994, 2003.
- NYACHOTI, C. M., ARNTFIELD, S. D., GUENTER, W., CENKOWSKI, S., & OPAPEJU, F. O. Effect of micronized pea and enzyme supplementation on nutrient utilization and manure output in growing pigs. **Journal of animal science**, 84(8), 2150-2156, 2006.
- OJEDIRAN, T. K.; AZEEZ, R. A.; ADEJORO, F. A.; AREO, O. E.; EMIOLA, I. A. Effects of enzyme in palm kernel meal-based diet on blood, carcass, and organ weights in weaners pigs. **J. Anim. Health Prod**, v. 9, n. 2, p. 185-192, 2021.
- OLUKOSI, O.; AREIAS, J.; ADEOLA, O. Suplementação de carboidratos ou fitase individualmente ou em combinação com dietas para suínos desmamados e em crescimento e terminação. **J. Anim. ciência**, 85, 1702–1711, 2007.
- PASCOAL, L. A. F.; THOMAZ, M. C.; WATANABE, P. H.; RUIZ, U. D. S.; EZEQUIEL, J. M. B.; AMORIM, A. B.; MASSON, G. C. I. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41, 636-642, 2012.
- PASSOS, A. A.; PARK, I.; FERKET, P.; VON HEIMENDAHL, E.; KIM, S. W. Effect of dietary supplementation of xylanase on apparent ileal digestibility of nutrients, viscosity of

digesta, and intestinal morphology of growing pigs fed corn and soybean meal based diet. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 19-23, 2015.

PAULO, A. A. D. Suplementação dietética de complexo enzimático sobre a digestibilidade de nutrientes e o desempenho de suínos. **Dissertação Mestrado**, Universidade Federal de Viçosa, 2018.

PEREIRA, L.K. Efeito de um complexo multienzimático sobre desempenho zootécnico e parâmetros sanguíneos de leitões na fase inicial. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

PETERSEN, G. I.; PEDERSEN, C.; LINDEMANN, M. D.; STEIN, H. H. Relative bioavailability of phosphorus in inorganic phosphorus sources fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, 89(2), 460-466, 2011.

PETRY, A. L.; HUNTLEY, N. F.; BEDFORD, M. R.; PATIENCE, J. F. Xylanase increased the energetic contribution of fiber and improved the oxidative status, gut barrier integrity, and growth performance of growing pigs fed insoluble corn-based fiber. **Journal of animal science**, v. 98, n. 7, p. skaa233, 2020.

PETRY, A. L.; PATIENCE, J. F. Xylanase supplementation in corn-based swine diets: a review with emphasis on potential mechanisms of action. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 11, p. skaa318, 2020

PLUSKE, J. R. Invited review: Aspects of gastrointestinal tract growth and maturation in the pre- and postweaning period of pigs. **J. Anim. Sci.** 94: 399-411, 2016.

lalles

PTAK, A.; BEDFORD, M. R.; ŚWIĄTKIEWICZ, S.; ŻYŁA, K.; JOZEFIAK, D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0119770, 2015.

RAO, D. S.; MCCracken, K. J. Energy: protein interactions in growing boars of high genetic potential for lean growth: I effect on growth, carcass characteristics and organ weights. **Animal Production**, Edinburgh, v. 54, n. 1, p. 75-82, 1992.

REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Advances in Food Research. **Academic, New York**, v. 28, p. 1-92, 1982

RIST, V. T. S.; WEISS, E.; EKLUND, M.; MOSENTHIN, R. Impact of dietary protein on microbiota composition and activity in the gastrointestinal tract of piglets in relation to gut health: a review. **Animal**, 7(7), 1067-1078. 2013.

ROJAS, O. J.; STEIN, H. H. Processing of ingredients and diets and effects on nutritional value for pigs. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2017.

RUFINO, L. M.; NUNES, R. D. C.; STRINGHINI, J. H.; MASCARENHAS, A. G.; ARNHOLD, E.; COELHO, K. O.; KIEFER, C. Redução do fósforo disponível na dieta de leitões desmamados utilizando fitase associada aos ácidos butírico e benzoico. **Semina Ciências Agrárias**, 38(3), 1439-1450. 2017.

RUIZ, U. S.; THOMAZ, M. C.; HANNAS, M. I.; FRAGA, A. L.; WATANABE, P. H.; SILVA, S. Z. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 458-468, 2008.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Viçosa - Mg: Funep, 262 p, 2016.

SEEDOR J.G.; QUARTUCCIO H. A.; THOMPSON D.D. O bisfosfonato alendronato (MK-217) inibe a perda óssea devido à ovariectomia em ratos. **J Bone Miner Res.**6: 339-346,1991.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.135, n. 1-2, p. 1-41, 2007.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, 113(2-3), 99-122, 2008.

SHE, Y.; LIU, Y.; STEIN, H. H. Effects of graded levels of microbial phytase on apparent total tract digestibility of calcium and phosphorus and standardized total tract digestibility of phosphorus in four sources of canola meal and in soybean meal fed to growing pigs. **Journal of animal science**, 95(5), 2061-2070. 2017.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p, 2002.

SITANAKA, N. Y.; BUDIÑO, F. E. L.; OLIVEIRA, S. R. D.; BOAS, A. D. C. V.; MORAES, J. E. D. Enzyme complex supplementation on the performance of swine in growth and finishing phases. **Revista Caatinga**, v. 31, p. 748-758, 2018.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, n. 9, p. 2013-2023, 2011.

STEIN, H.H.; KIL, D.Y. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2. **Animal biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 217-231, 2006.

SYLVIO, M. Análises das comparações bioquímicas no soro e exsudato peritoneal de camundongos BALB/c inoculados com cepa cistogênica e não cistogênica de *Toxoplasma gondii*. Universidade federal de goiás. **Dissertação de mestrado**, 2009.

TEIXEIRA, A. O; LOPES, D. C; FERREIRA, V. P. A; PENA, S. M; NOGUEIRA, E. T; MOREIRA, J. A; BUZEN, S.; NERY, L. R Utilização de enzimas de dieta com diferentes fontes e níveis de proteínas para leitões em uma fase de creche. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 900- 906, 2005.

TIWARI, U. P.; CHEN, H.; KIM, S. W.; JHA, R. Supplemental effect of xylanase and mannanase on nutrient digestibility and gut health of nursery pigs studied using both in vivo and in vitro models. **Animal Feed Science and Technology**, v. 245, p. 77-90, 2018.

TORRES-PITARCH, A.; HERMANS, D.; MANZANILLA, E. G.; BINDELLE, J.; EVERAERT, N.; BECKERS, Y.; LAWLOR, P. G. Effect of feed enzymes on digestibility and growth in weaned pigs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, 233, 145–159, 2017.

ULLAH, A. H.; SETHUMADHAVAN, K. PhyA gene product of *Aspergillus ficuum* and *Peniophora lycii* produces dissimilar phytases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, n. 2, p. 463-468, 2003.

VARLEY, P. F.; CALLAN, J. J.; O'DOHERTY, J. V. Effect of dietary phosphorus and calcium level and phytase addition on performance, bone parameters, apparent nutrient

digestibility, mineral and nitrogen utilization of weaner pigs and the subsequent effect on finisher pig bone parameters. **Animal Feed Science and Technology**, 165(3-4), 201-209, 2011.

VARLEY, P. F.; FLYNN, B.; CALLAN, J. J.; O'DOHERTY, J. V. Effect of phytase level in a low phosphorus diet on performance and bone development in weaner pigs and the subsequent effect on finisher pig bone development. **Livestock Science**, 138(1-3), 152-158, 2011.

VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S.; CASTRO, A.C.S.; DE MELO JÚNIOR, A.M.; FERREIRA, M.H.; FERREIRA, S.E.; OLIVEIRA, G.P. Aditivos zootécnicos na alimentação de suínos—Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.7, p.45880-45895, 2020.

WELLOCK, I. J.; HOUDIJK, J. G. M.; MILLER, A. C.; GILL, B. P.; KYRIAZAKIS, I. The effect of weaner diet protein content and diet quality on the long-term performance of pigs to slaughter. **Journal of animal science**, v. 87, n. 4, p. 1261-1269, 2009.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, n. 1-2, p. 21-33, 2001.

WOYENGO, T. A.; IGE, D. V., AKINREMI, O. O.; NYACHOTI, C. M. Performance and nutrient digestibility in growing pigs fed wheat dried distillers' grain with solubles-containing diets supplemented with phytase and multi-carbohydrase. **Animal Science Journal**, 87(4), 570-577. 2016.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry—current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, n. 1, p. 9-21, 2013.

WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, 91(2), 177-192. 2011.

WOYENGO, T. A.; SANDS, J. S.; GUENTER, W.; NYACHOTI, C. M. Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase-and xylanase-supplemented wheat-based diets. **Journal of animal science**, v. 86, n. 4, p. 848-857, 2008.

WU, Y., JIANG, Z., ZHENG, C., WANG, L. I., ZHU, C., YANG, X., ... & MA, X. Effects of protein sources and levels in antibiotic-free diets on diarrhea, intestinal morphology, and expression of tight junctions in weaned piglets. **Animal Nutrition**, 1(3), 170-176. 2015.

XU, G., M. H. WHITNEY, G.C. SHURSON. "Effects of feeding diets containing corn distillers dried grains with solubles (DDGS), with or without phytase, on nutrient digestibility and excretion in grow-finish pigs." **Journal of Animal Science**. Vol. 84. 1111, 2006.

YÁÑEZ, J. L.; BELTRANENA, E.; CERVANTES, M.; ZIJLSTRA, R. T. Effect of phytase and xylanase supplementation or particle size on nutrient digestibility of diets containing distillers dried grains with solubles cofermented from wheat and corn in ileal-cannulated grower pigs. *Journal of animal science*, 89(1), 113-123, 2011.

YI, Z., e KORNEGAY, E. T. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 61, n. 1-4, p. 361-368, 1996.

YIN, Y. L.; MCEVOY, J. D. G.; SCHULZE, H.; MCCracken, K. J. Effects of xylanase and antibiotic addition on ileal and faecal apparent digestibilities of dietary nutrients and

evaluating HCl-insoluble ash as a dietary marker in growing pigs. **Animal Science**, 72:95-103. 2001.

YUE, L.; QIAO, S. Efeitos de dietas de baixa proteína suplementadas com aminoácidos cristalinos no desempenho e desenvolvimento intestinal em leitões nas primeiras 2 semanas após o desmame. **Ciência Pecuária**, v. 115, n. 2-3, pág. 144-152, 2008.

ZAMORA, V.; FIGUEROA, J. L.; REYNA, L.; CORDERO, J. L.; SÁNCHEZ-TORRES, M. T.; MARTÍNEZ, M. Growth performance, carcass characteristics and plasma urea nitrogen concentration of nursery pigs fed low-protein diets supplemented with glucomannans or protease. **Journal of Applied Animal Research**, v. 39, n. 1, p. 53-56, 2011.

ZHAO, Y.; WEN, X.; XIAO, H.; HOU, L.; WANG, X.; HUANG, Y.; JIANG, Z. Effects of phytase and 25-hydroxyvitamin D3 supplementation on growth performance and bone development in weaned piglets in Ca-and P-deficient dietary. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 3, p. 940-948, 2022.

ZIMMERMANN, B.; LANTZSCH, H. J.; LANGBEIN, U.; DROCHNER, W. Determination of phytase activity in cereal grains by direct incubation. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 86, n. 9-10, p. 347-352, 2002.

ZUO, J., LING, B., LONG, L., LI, T., LAHAYE, L., YANG, C., & FENG, D. Effect of dietary supplementation with protease on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. **Animal Nutrition**, 1(4), 276-282, 2015.