



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

WILSON ARAÚJO DA SILVA

**COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ASSOCIADOS OU NÃO A EXTRATO DE *Yucca*
schidigera PARA LEITÕES NA FASE INICIAL**

AREIA

2024

WILSON ARAÚJO DA SILVA

COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ASSOCIADOS OU NÃO A EXTRATO DE *Yucca schidigera* PARA LEITÕES NA FASE INICIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Linha de Pesquisa: Produção de Não-ruminantes

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Emília Naves Givisiez

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe

AREIA

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586c Silva, Wilson Araújo da.

Complexos enzimáticos associados ou não a extrato de
Yucca schidigera para leitões na fase inicial / Wilson
Araújo da Silva. - Areia:UFPB/CCA, 2024.

112 f. : il.

Orientação: Leonardo Augusto Fonseca Pascoal.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Enzimas exógenas. 3. Fitogênicos.
4. Nutrição. I. Pascoal, Leonardo Augusto Fonseca. II.
Título.

UFPB/CCA/BS

CDU 636(043.3)

WILSON ARAÚJO DA SILVA

COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ASSOCIADOS OU NÃO A EXTRATO DE *Yucca schidigera* PARA LEITÕES NA FASE INICIAL

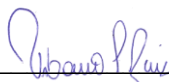
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Aprovado em: 29/02/2024

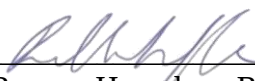
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Presidente
Universidade Federal da Paraíba - UFPB



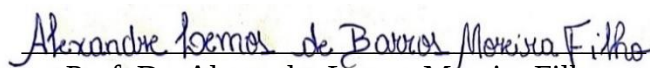
Prof. Dr. Urbano dos Santos Ruiz
Examinador
Universidade de São Paulo - USP



Prof. Dr. Rennan Herculano Rufino Moreira
Examinador
Universidade Federal Rural do Semi-Árido



Prof.ª Dr.ª Ines Andretta
Examinadora
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS



Prof. Dr. Alexandre Lemos Moreira Filho
Examinador
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

*Aos meus avós (in memoriam), **João Inácio da Silva e Luíza Nunes da Silva** pelos ensinamentos sofisticados cheios de simplicidade.*

*À minha mãe **Isabel Rosa Araújo da Silva**, por todo amor e fé.*

*Ao meu pai **Lenival Inácio da Silva**, por todos os conselhos e apoio.*

*Ao meu tio **José Tomaz de Araújo** (in memoriam) por acreditar em mim desde sempre.*

*A minha cadela, **Lara da Silva**, por toda companhia e alegria.*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, saúde e luz no caminho.

Aos meus pais, Lenival Inácio da Silva e Isabel Rosa Araújo da Silva, por todo amor, carinho, confiança e apoio durante essa jornada, vocês são meu alicerce. Também ao meu irmão Willian pelas boas energias e à minha família pela positividade.

À minha amada companheira de vida, Letícia Waléria Oliveira dos Santos, por todo amor, parceria, apoio, alegria diária, abrigo, companheirismo, palavras de incentivo e por sonhar junto a mim.

Ao meu orientador, Prof. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, por todo o aprendizado, confiança, atenção, amizade, empatia, paciência e brilhante orientação durante essa jornada, por todo o conhecimento repassado, disposição e incentivo a continuar seguindo em frente.

Ao meu Contramestre Arapuá, Rodrigo Pedrosa de Freitas, por ajudar a cuidar do meu corpo e mente através da Escola da Cultura do Movimento Sementes Brasil Capoeira.

A todos os professores da minha vida, desde as tias do jardim de infância até os professores da pós-graduação do mestrado e doutorado, responsáveis pela minha formação, aprendizado e educação.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo recurso financeiro recebido durante a realização do curso.

À empresa Alltech do Brasil, pelo apoio financeiro.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Suínos e Coelhos (NESC) pela amizade, companheirismo e dedicação, fundamentais para a condução desta pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Suinocultura; do Laboratório de Nutrição Animal e do Laboratório de Cromatografia e Espectrometria do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da UFPB e Laboratório de Histologia Animal do Centro de Ciências Agrárias de UFPB.

Aos meus colegas e amigos da Pós-Graduação em Zootecnia, do *Campus II* (Areia) e as amigas que deixei em Alagoas e as que fiz na Paraíba, as quais levarei por toda a vida.

A todos que dedicaram palavras amigas, de força, positividade e conforto no decorrer dessa longa jornada.

Muito obrigado!

RESUMO

No capítulo 1, realizou-se uma revisão sistemática sobre complexos enzimáticos para leitões na fase inicial sobre o desempenho e digestibilidade. Realizou-se uma busca em bases eletrônicas pelo método PICO (População, Interesse e Contexto). Os artigos foram exportados para um gerenciador de referências e submetidos a critérios de seleção. 52,5% dos estudos se concentram no período de 2012 a 2022. A China tem o maior número de publicações (9), seguida pelos EUA (8) e Brasil (7). As enzimas mais utilizadas nos complexos foram xilanase (33), β -glucanase (27), protease (16) e fitase (14). Dosagens únicas e crescentes de complexos enzimáticos melhoraram o desempenho e digestibilidade. No capítulo 2, investigou-se o extrato de *Yucca schidigera* (EYS) para leitões a partir de uma revisão bibliográfica. Os efeitos benéficos relatados estão associados as saponinas e compostos polifenólicos presentes no EYS. O capítulo 3 é um experimento acerca o uso de complexos enzimáticos sobre a digestibilidade de dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial e excreção de poluentes. Utilizou-se 24 leitões machos de 35 dias de idade, distribuídos em blocos casualizados em três tratamentos: DC: Dieta controle; DCE1: DC com 200 g/ton de complexo enzimático; DCE2: DC com 400 g/ton de complexo enzimático. A DCE2 aumentou a disponibilidade de minerais, digestibilidade da FDN e FDA. A suplementação aumentou a disponibilidade e diminuiu a excreção de minerais. Complexos enzimáticos com protease (140,0 a 2800,0 HUT/Kg de dieta), fitase (60,0 SPU/Kg de dieta) e celulase (8,0 a 18,0 CMCU/Kg de dieta) melhoram a disponibilidade e diminuem a excreção de minerais. Níveis maiores de protease (2800,0 HUT/Kg de dieta) e celulase (18,0 CMCU/Kg de dieta) são necessários para melhorar a digestibilidade de fibra. No capítulo 4, avaliou-se complexos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais em dietas para leitões desmamados. Utilizou-se 48 animais de 28 dias de idade, distribuídos em blocos casualizados em seis tratamentos: DC: Dieta Controle; DCY: DC com 125 g/ton de Extrato de *Yucca schidigera* (EYS); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático; DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante; DCE+Y1: DCE + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DCE + EYS (250 g/ton). A DCE+Y1 melhorou a conversão alimentar. A DCE, DCME e DCE+Y1 melhoraram a digestibilidade da MS, MO, FDN, FDA, energia e P e reduziram a excreção de P. Maior AV/PC, espessura de mucosa e área absorviva jejuna foram verificada com as suplementações. O total de células caliciformes diminuiu quando os leitões consumiram a DCE+Y2. Enzimas exógenas com extratos vegetais diminuíram a expressão relativa de mRNA do TNF- α ; a de MUC-2 diminuiu com as suplementações; a do NaPi-IIb aumentou com a utilização da DCE, enquanto a do SGLT-1 aumentou com DCY e DCE; a do PEPT-1 aumentou com DCY, DCME, DCE+Y1 e DCE+Y2. Enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais (125 g/ton de EYS e 52 g/kg de emulsificante) em dietas para leitões otimizam a eficiência produtiva, promovem melhorias na digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos, histologia intestinal, contribuem na saúde intestinal e reduzem a excreção de P.

Palavras-chave: enzimas exógenas; fitogênicos; nutrição; saúde intestinal; suinocultura.

ENZYME COMPLEXES ASSOCIATED OR NOT WITH *Yucca schidigera* EXTRACT FOR PIGLETS IN THE INITIAL PHASE

ABSTRACT

In chapter 1, a systematic review was carried out on enzyme complexes for piglets in the initial phase regarding performance and digestibility. A search was carried out in electronic databases using the PICO method (Population, Interest and Context). The articles were exported to a reference manager and subjected to selection criteria. 52.5% of studies focus on the period from 2012 to 2022. China has the highest number of publications (9), followed by the USA (8) and Brazil (7). The enzymes most used in the complexes were xylanase (33), β -glucanase (27), protease (16) and phytase (14). Single and increasing dosages of enzyme complexes improved performance and digestibility. In chapter 2, the extract of *Yucca schidigera* (YSE) for piglets was investigated based on a bibliographical review. The reported beneficial effects are associated with saponins and polyphenolic compounds present in YSE. Chapter 3 is an experiment on the use of enzyme complexes on the digestibility of all-vegetable diets for piglets in the initial phase and excretion of pollutants. Twenty-four 35-day-old male piglets were used, distributed in randomized blocks in three treatments: DC: Control diet; CDE1: CD with 200 g ton⁻¹ of enzyme complex; CDE2: DC with 400 g ton⁻¹ of enzyme complex. CDE2 increased mineral availability, NDF digestibility and ADF. Supplementation increased the availability and decreased excretion of minerals. Enzyme complexes with protease (140.0 to 2800.0 HUT/ kg⁻¹ of diet), phytase (60.0 SPU kg⁻¹ of diet) and cellulase (8.0 to 18.0 CMCU Kg⁻¹ of diet) improve availability and decrease the excretion of minerals. Higher levels of protease (2800.0 HUT Kg⁻¹ of diet) and cellulase (18.0 CMCU Kg⁻¹ of diet) are necessary to improve fiber digestibility. In chapter 4, enzyme complexes associated or not with plant extracts in diets for weaned piglets were evaluated. Forty-eight 28-day-old animals were used, distributed in randomized blocks across six treatments: CD: Control Diet; CDY: CD with 125 g ton⁻¹ of *Yucca schidigera* Extract (YSE); CDE: CD with 200 g ton⁻¹ of enzyme complex; CDME: DC with 400 g ton⁻¹ of multienzyme complex with emulsifier; CDE+Y1: CDE + EYS (125 g ton⁻¹); CDE +Y2: CDE + EYS (250 g ton⁻¹). CDE + Y1 improved feed conversion. CDE, CDME and CDE +Y1 improved the digestibility of DM, OM, NDF, ADF, energy and P and reduced the excretion of P. Greater AV/PC, mucosal thickness and jejunal absorptive area were verified with the supplementations. The total number of goblet cells decreased when piglets consumed CDE +Y2. Exogenous enzymes with plant extracts decreased the relative expression of TNF- α mRNA; MUC-2 decreased with supplementation; that of NaPi-IIb increased with the use of CDE, while that of SGLT-1 increased with CDY and CDE; that of PEPT-1 increased with CDY, CDME, CDE+Y1 and CDE+Y2. Exogenous enzymes associated or not with plant extracts (125 g ton⁻¹ of YSE and 52 g kg⁻¹ of emulsifier) in piglet diets optimize production efficiency, promote improvements in the digestibility and absorption of dietary nutrients, intestinal histology, contribute to intestinal health and reduce the excretion of P.

Keywords: exogenous enzymes; gut health; phytochemicals; nutrition; pig farming.

SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	7
2 CAPÍTULO I: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS PARA LEITÕES NA FASE INICIAL SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	8
2.1 RESUMO.....	8
2.2 ABSTRACT.....	9
2.3 INTRODUÇÃO	10
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.4.1 Estratégia de pesquisa e critérios de seleção	11
2.4.2 Critérios pré-estabelecidos para exclusão.....	11
2.4.3 Extração e análise de dados	12
2.5 RESULTADOS.....	14
2.6 DISCUSSÃO	24
2.7 CONCLUSÕES.....	26
REFERÊNCIAS	28
3 CAPÍTULO II: USO DO EXTRATO DE <i>Yucca schidigera</i> PARA LEITÕES DESMAMADOS: UMA REVISÃO	34
3.1 RESUMO.....	34
3.2 ABSTRACT	34
3.3 INTRODUÇÃO	35
3.4 REVISÃO DE LITERATURA	36
3.4.1 Distribuição e características gerais da <i>Yucca schidigera</i>	36
3.4.2 Influência do extrato de <i>Yucca schidigera</i> no desempenho produtivo de leitões	38
3.4.3 Extrato de <i>Yucca schidigera</i> sobre a saúde intestinal de leitões	39
3.4.4 Impacto do extrato de <i>Yucca schidigera</i> no trato gastrointestinal de leitões	41
3.4.5 Efeitos do extrato de <i>Yucca schidigera</i> na microbiota intestinal de leitões	42
3.4.6 Extrato de <i>Yucca schidigera</i> sobre a redução de poluentes nas excretas	43
3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44

REFERÊNCIAS	46
4 CAPÍTULO III: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS TOTALMENTE VEGETAIS PARA LEITÕES NA FASE INICIAL: DIGESTIBILIDADE E EXCREÇÃO DE NUTRIENTES.....	53
4.1 RESUMO.....	53
4.2 ABSTRACT	53
4.3 INTRODUÇÃO	54
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.4.1 Animais, instalações e dietas experimentais.....	55
4.4.2 Coleta e amostragem	57
4.4.3 Digestibilidade de nutrientes, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de minerais.....	57
4.4.4 Análise estatística	58
4.5 RESULTADOS.....	59
4.6 DISCUSSÃO	60
4.7 CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS	66
5 CAPÍTULO IV: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ASSOCIADOS OU NÃO A EXTRATOS VEGETAIS PARA LEITÕES DESMAMADOS.....	71
5.1 RESUMO.....	71
5.2 ABSTRACT.....	71
5.3 INTRODUÇÃO	73
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	74
5.4.1 Animais, instalações e dietas experimentais.....	74
5.4.2 Desempenho produtivo e incidência de diarreia.....	76
5.4.3 Digestibilidade aparente total do trato.....	77
5.4.4 Parâmetros bioquímicos séricos	78
5.4.5 Abate dos animais.....	78
5.4.6 Parâmetros ósseos.....	79
5.4.7 Histologia intestinal e células caliciformes	79

5.4.8	Glicogênio hepático.....	80
5.4.9	Expressão gênica relativa de TNF- α e transportadores de nutrientes jejunais	81
5.4.10	Análise estatística	82
5.5	RESULTADOS.....	83
5.6	DISCUSSÃO	91
5.6.1	Desempenho produtivo e incidência de diarreia.....	91
5.6.2	Digestibilidade aparente total do trato.....	93
5.6.3	Pesos relativos de órgãos e parâmetros bioquímicos séricos	95
5.6.4	Parâmetros ósseos.....	96
5.6.5	Morfometria, células caliciformes e glicogênio hepático.....	97
5.6.7	Expressão gênica relativa de TNF- α e transportadores de nutrientes jejunais	100
5.7	CONCLUSÕES.....	103
	REFERÊNCIAS	104
	CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES	112

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Na suinocultura, a fase inicial é um dos momentos mais críticos da produção. Durante esse período, os leitões experimentam mudanças na composição, forma e oferta da dieta. Após o desmame, o leitão deixa de receber o leite materno e passa a consumir uma dieta sólida, rica em nutrientes de origem vegetal, e isso provoca alterações que comprometem os processos digestivo e absorptivo, com consequente redução no desempenho.

Dessa maneira, é necessário a utilização de alternativas para minimizar os efeitos negativos que o período pós-desmame provoca nos leitões. O uso de complexos enzimáticos tem sido objeto de estudo como alternativa para melhorar o crescimento no período de creche, auxiliando na digestão da matriz complexa de ingredientes, especialmente aqueles de origem vegetal com significativa fração de polissacarídeos não-amiláceos e fatores antinutricionais.

Logo, dietas suplementadas com enzimas podem preencher o déficit do trato gastrointestinal dos leitões até que o organismo consiga desenvolver a capacidade de produzir enzimas em quantidade satisfatória. Entretanto, a capacidade dos complexos enzimáticos em melhorar o desempenho produtivo, digestibilidade das dietas, parâmetros relacionados a saúde do trato gastrointestinal de leitões desmamados ainda é inconsistente, bem como uma possível redução do impacto ambiental, considerando menor excreção de poluentes nos dejetos.

Tendo em vista a proibição dos antimicrobianos melhoradores de desempenho, as necessidades fisiológicas dos animais e a preocupação com o teor de poluentes com potencial impacto ambiental contidos nas excretas, pesquisas são desenvolvidas com o propósito de investigar os efeitos de extratos vegetais na nutrição de leitões.

A espécie *Yucca schidigera* é característica de regiões desérticas e, desde a época dos nativos americanos, é utilizada na medicina popular devido as suas propriedades anti-inflamatórias. Seu extrato é um suplemento alimentar utilizado em dietas de diferentes espécies, principalmente como adsorvente de odor. Contudo, aspectos acerca da eficácia e aplicação do extrato de *Yucca schidigera* para leitões desmamados ainda são inconclusivos.

Nesse contexto, objetivou-se compilar o conhecimento atual sobre a adição de complexos enzimáticos em dietas para leitões desmamados sobre o desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes por meio de uma revisão sistemática; desenvolver uma revisão bibliográfica para estudar os efeitos do extrato de *Yucca schidigera* para leitões desmamados; avaliar a utilização de complexos enzimáticos sobre a digestibilidade de dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial e a excreção de poluentes; avaliar a suplementação de complexos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais em dietas para leitões desmama

2 CAPÍTULO I: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS PARA LEITÕES NA FASE INICIAL SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

2.1 RESUMO

Complexos enzimáticos em dietas para leitões têm sido utilizados como alternativa para controlar a síndrome pós-desmame, compensando a capacidade secretora de enzimas endógenas, aumentando a digestibilidade dos nutrientes, melhorando o desempenho produtivo, reduzindo os custos de produção e o impacto ambiental com menores excreções de N e P. O efeito das enzimas na ração na melhoria do desempenho de leitões e digestibilidade de nutrientes nem sempre é consistente. Assim, objetivou-se com esta revisão sistemática resumir o conhecimento atual sobre a adição de complexos enzimáticos em dietas para leitões na fase inicial e seus efeitos sobre o desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes a partir de um banco de dados composto por 76 dietas individuais, resultantes de 40 estudos. Foi realizada a busca em bases eletrônicas, usando uma combinação de palavras pelo método PICO (População, Interesse e Contexto) com termos relacionados a leitões, complexos enzimáticos, desempenho produtivo e digestibilidade. A busca foi realizada nas bases Scopus, Web of Science e PubMed através do acervo do Portal de Periódicos da CAPES. Os artigos resultantes foram exportados para um programa de gerenciamento de referências e submetido a vários critérios de seleção, que partiu de um total de 5233 para 40 artigos. Os estudos foram classificados por ano de publicação, sendo 52,5% dos estudos encontradas no período de 2012 a 2022. A China foi o país com maior número de publicações (9 estudos), seguida pelos EUA (8 estudos) e Brasil (7 estudos). As enzimas mais utilizadas na composição dos complexos enzimáticos foram xilanase (33 dietas), β -glucanase (27 dietas), protease (16 dietas) e fitase (14 dietas). A maioria dos estudos relatam que dosagens únicas e/ou crescentes de complexos enzimáticos resultaram em melhorias no desempenho produtivo dos leitões (80%) e digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia de dietas com ou sem redução nutricional. Contudo, uma melhoria nesses parâmetros nem sempre é observada, necessitando de mais pesquisas voltadas à composição das dietas, quantidade e número de enzimas adicionadas.

Palavras-chave: desmame; enzimas exógenas; excreção; polissacarídeos não-amiláceos; trato digestivo

2.2 ABSTRACT

Enzymatic complexes in piglet diets have been used as an alternative to control the post-weaning syndrome, compensating the secretory capacity of endogenous enzymes, increasing nutrient digestibility, improving productive performance, reducing production costs and environmental impact with lower excretions of N and P. The effect of enzymes in the feed on improving piglet performance and nutrient digestibility is not always consistent. The objective of this systematic review was to summarize the current knowledge about the addition of enzymatic complexes in diets for piglets in the initial phase and their effects on the productive performance and digestibility of nutrients from a database composed of 76 individual diets, resulting from 40 studies. A search was carried out in electronic databases, using a combination of words by the PICO method (Population, Interest and Context) with terms related to piglets, enzymatic complexes, productive performance, and digestibility. The search was carried out in the Scopus, Web of Science and PubMed databases through the collection of the CAPES Periodicals Portal. The resulting articles were exported to a reference management program and subjected to various selection criteria, which ranged from a total of 5233 to 40 articles. Studies were classified by year of publication, with 52.5% of searches found in the period from 2012 to 2022. China was the country with the highest number of publications (9 studies), followed by the USA (8 studies) and Brazil (7 studies). The enzymes most used in the composition of enzyme complexes were xylanase (33 diets), β -glucanase (27 diets), protease (16 diets) and phytase (14 diets). Most studies report that single and increasing doses of enzymatic complexes resulted in improvement in the productive performance of piglets and digestibility of nutrients, Ca, P and energy of diets with or without nutritional reduction. However, an improvement in these parameters is not always observed, requiring more research focused on the composition of diets, quantity and number of enzymes added.

Keywords: excretion; exogenous enzymes; non-starch polysaccharides; digestive tract; weaning

2.3 INTRODUÇÃO

Após o desmame, são impostas mudanças severas na composição, forma e oferta da dieta aos leitões (Pluske, 2016; Recharla *et al.*, 2019). Devido a isso, o consumo de ração é normalmente reduzido nas primeiras 48-72 horas após o desmame, levando a uma perda na integridade intestinal (Pluske, 2016). Muitas vezes segue-se um período de superalimentação, levando à proliferação de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal associada a respostas imunológicas, levando a um crescimento limitado dos animais (Lecce *et al.*, 1979; Fairbrother *et al.*, 2005).

O uso de aditivos como prebióticos (O'Sullivan *et al.*, 2010), probióticos (Valeriano *et al.*, 2017), ácidos orgânicos (Suiryanrayna e Ramana, 2015) e óleos essenciais (Zeng *et al.*, 2015), bem como enzimas exógenas, têm sido sugeridas como tendo potencial para melhorar o consumo de ração e o desenvolvimento dos leitões (Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

A alimentação com enzimas exógenas pode ajudar na digestão da matriz complexa de ingredientes de origem vegetal presentes na dieta até que a capacidade de secreção enzimática endógena do leitão tenha tempo para se desenvolver (Torres-Pitarch *et al.*, 2017). Algumas enzimas exógenas incluídas em dietas para leitões são as fitases, carboidrases, proteases e lipases (Ravindran, 2013).

As fitases podem ser adicionadas à dieta para aumentar a digestibilidade do P fítico, naturalmente presente nos vegetais com consequente redução no uso de P inorgânico e excreção de P para o ambiente (Humer *et al.*, 2015; Clark e Tilman, 2017). As carboidrases (Xilanase, β -glucanase, β -mananase e α -galactosidase) podem aumentar a digestibilidade dos polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) da dieta (Masey O'Neill *et al.*, 2014). Entretanto, a capacidade das enzimas exógenas em melhorar a digestibilidade de nutrientes e desempenho produtivo de leitões desmamados ainda é inconsistente (Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

Diante do exposto, objetivou-se com esta revisão sistemática apresentar resultados atuais sobre a suplementação de complexos enzimáticos em dietas para leitões na fase inicial e seus efeitos sobre o desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se uma busca em bases eletrônicas de acesso a artigos científicos, com o intuito de recuperar estudos que avaliaram a ação de complexos enzimáticos para leitões na fase inicial sobre o desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes e energia. A revisão sistemática foi guiada por padrões dos itens de relatório de Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises (PRISMA) (MOHER, 2009).

2.4.1 Estratégia de pesquisa e critérios de seleção

Uma pesquisa bibliográfica sem restrição de tempo foi realizada em novembro de 2022 por meio de busca eletrônica utilizando as seguintes bases de dados: Scopus, Web of Science e PubMed. A busca foi realizada sem restrição de idioma e o acesso foi realizado através do acervo do Portal de Periódicos da CAPES. A questão de pesquisa foi formulada usando a metodologia PICO (População, Interesse e Contexto). Sendo palavras relacionadas com suínos a população (P), enzimas exógenas ao interesse (I), desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes ao contexto (Co). Utilizou-se operadores booleanos para a construção da chave de busca, a saber:

População: pig* OR piglet* OR swine

Interesse: pectynase OR protease OR phytase OR β -glucanase OR beta-glucanase OR “beta glucanase” OR xylanase OR cellulase OR amylase OR “feed additives” OR “feed supplement”

Contexto: performance OR ADFI OR ADG OR BW OR FCR OR “body weight” OR “average daily feed intake” OR “feed intake” OR “feed consumption” OR “average daily gain” OR “feed conversion” OR “feed to gain” OR “feed:gain” OR “feed efficiency” OR “gain to feed” OR “gain:feed” OR “gain of weight” OR digestibility OR “intestinal health” OR “gut health”

O resultado da busca foi revisado, exportado e todas as referências transferidas para o programa de gerenciamento EndNote X9®, em seguida os dados dos estudos incluídos foram transferidos e compilados em planilha do Microsoft Excel®.

2.4.2 Critérios pré-estabelecidos para exclusão

- População: estudos que não utilizaram animais de produção (ex.: *little pig*); outras espécies (ex.: *Guinea-pig*) ou que utilizaram material biológico *in vitro*; outras fases de produção (crescimento, terminação, lactação e reprodução);

- Interesse: estudos sem enzimas exógenas ou com apenas uma ou em combinação com outros aditivos (prebióticos, probióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, óleos essenciais etc.);
- Contexto: estudos sem desempenho produtivo e/ou digestibilidade de nutrientes e energia;
- Desenho do estudo: revisões sistemáticas (com ou sem meta-análise), resumos publicados e capítulos de livro.

2.4.3 Extração e análise de dados

A busca realizada na base PubMed encontrou 627 artigos, na Web of Science 2974 e na base Scopus 2979, totalizando 6580 artigos (Figura 1). Um total de 1347 foram removidos por serem duplicados, ou seja, estavam presentes em duas ou nas três bases. 5233 artigos foram revisados por título e resumo. Destes, 40 foram selecionados e considerados elegíveis para serem revisados detalhadamente.

Somente os estudos relatando a composição química, dosagem de enzima na dieta, desempenho produtivo e digestibilidade de nutrientes e energia foram incluídos. Os experimentos foram tratados individualmente mesmo quando publicados em artigo único.

Foi realizada análise estatística descritiva da distribuição temporal e geográfica das pesquisas, caracterização dos animais (Nº, peso corporal inicial e duração do período experimental), das enzimas e dosagem na dieta, tratamentos (controle positivo e/ou com redução nutricional vs enzimas combinadas) e respostas (ganho de peso médio diário, consumo médio diário de ração, conversão alimentar, digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia), para determinar o efeito dos complexos enzimáticos sobre essas variáveis.

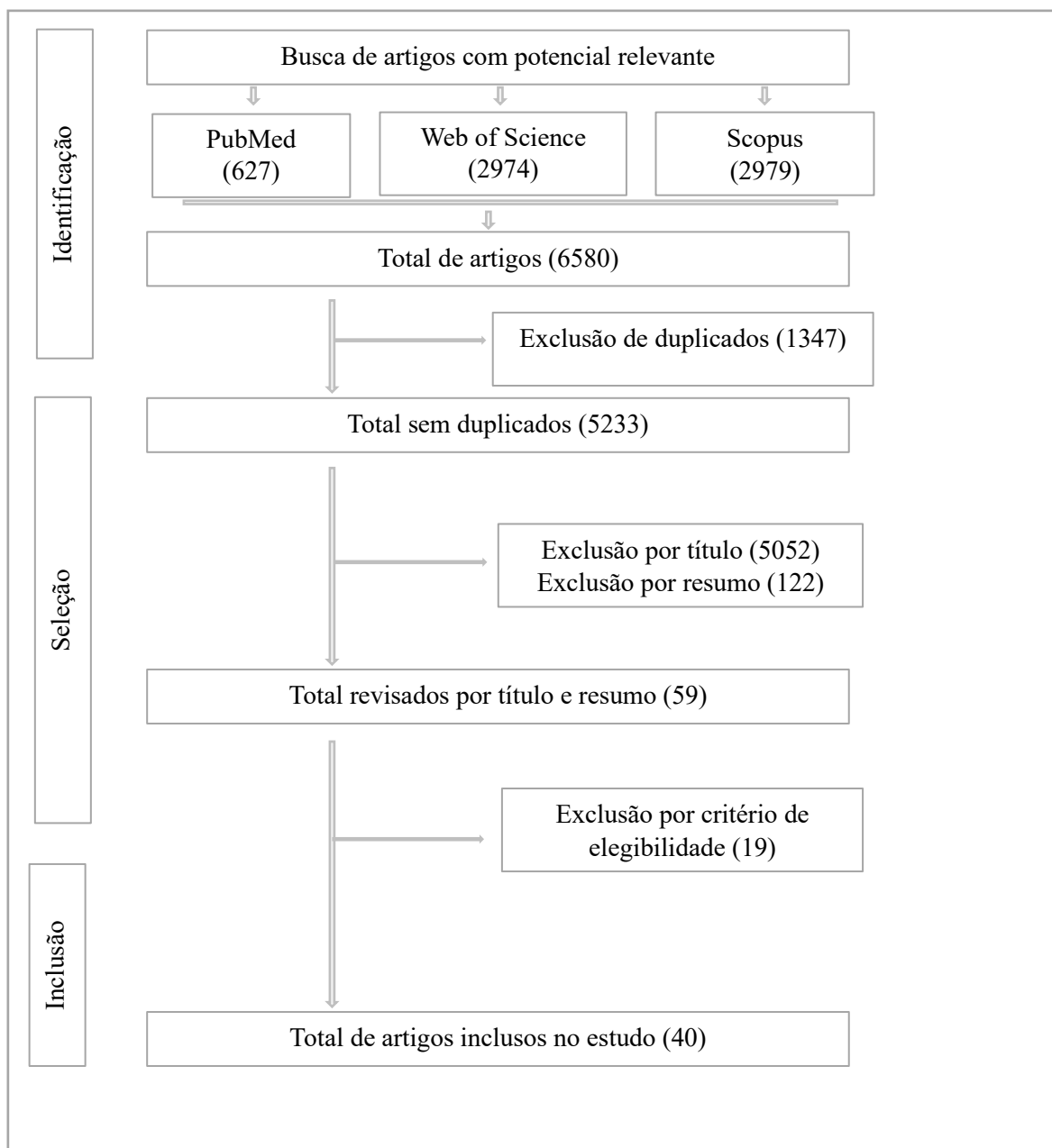


Figura 1 - Diagrama de fluxo do processo de triagem dos estudos utilizados para construção da revisão.

2.5 RESULTADOS

De acordo com a distribuição das pesquisas ao longo do tempo (Figura 2), é possível verificar que 5% das pesquisas foram realizadas entre 1997 e 2000, 42,5% no que compreende a década de 2001 a 2011 e maioria das investigações (52,5%) se concentram entre 2012 e 2022.

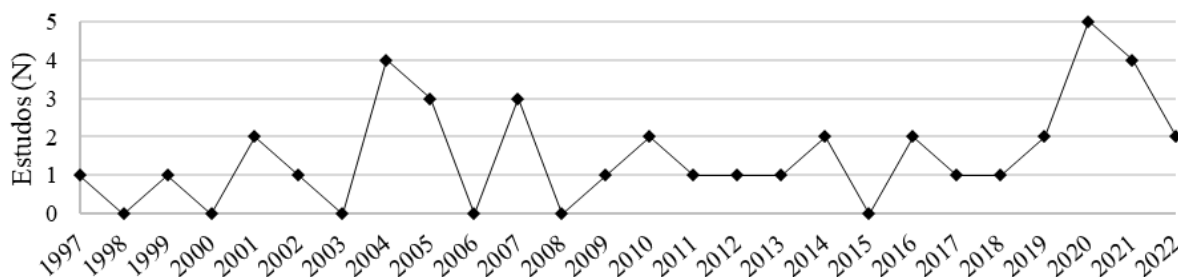


Figura 2 – Distribuição temporal das pesquisas com uso de enzimas exógenas para leitões na fase inicial

Com relação a distribuição geográfica das pesquisas (Figura 3), a maioria (52,5%) foi realizada no continente americano, representado por EUA, Brasil e Canadá, com oito, sete e seis artigos, respectivamente. Na segunda posição, encontra-se a Ásia com 32,5% das publicações, representada pela China, Coreia do Sul e Vietnã, com nove, três e um estudos, respectivamente. A Europa aparece na terceira colocação com 12,5% dos artigos, representada por Alemanha, Dinamarca, Espanha, Portugal e Suécia, com um estudo cada. Por último, vem a Oceania (2,5%), com uma pesquisa realizada na Austrália.

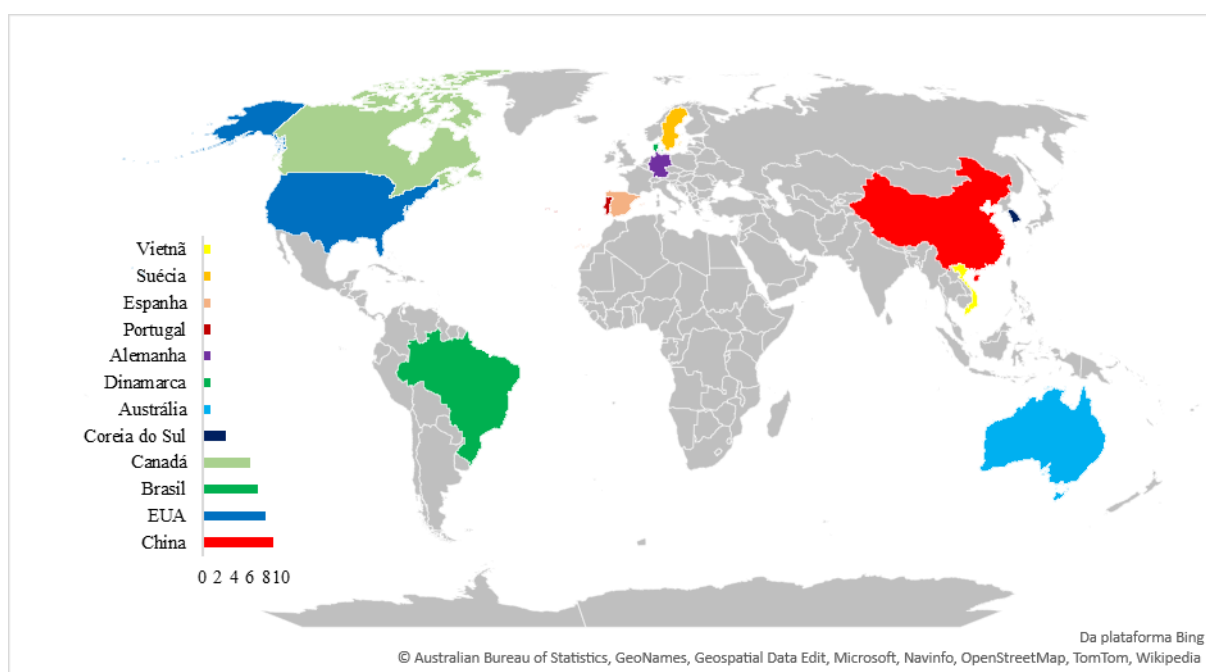


Figura 3 - Distribuição geográfica das pesquisas utilizando enzimas exógenas para suínos na fase inicial.

As combinações de enzimas com seus respectivos níveis mínimos e máximos de dosagens caracterizam os tratamentos testados em cada pesquisa (Tabela 1). Foi realizado um cálculo de padronização para que todos os tratamentos fossem apresentados em unidade de enzima / kg de dieta.

Tabela 1 - Caracterização dos tratamentos testados nos estudos com enzimas exógenas para leitões na fase inicial

Estudos	Complexos enzimáticos (U/Kg de dieta)												
	Fit	Prot	Cel	Xil	β -Glu	Ami	α -Gal	Pec	Lip	Man	GalMan	Fer	Arab
Ao <i>et al.</i> (2020)	---	---	---	---	0-11400	---	0-2000	---	---	---	---	---	---
Barros <i>et al.</i> (2014)	---	0-30	---	---	---	0-2400	---	---	---	---	---	---	---
Brandão Melo <i>et al.</i> (2020)	0-500	---	---	0-560	0-250	---	---	---	---	---	---	---	---
Brooks <i>et al.</i> (2009)	---	---	---	0-300	0-220	---	0-7	---	---	---	0-22	---	---
Dadalt <i>et al.</i> (2016)	0-500	---	---	0-200	0-200	---	0-200	---	---	---	0-200	---	---
Diebold <i>et al.</i> (2005)	---	---	---	0-5600	---	---	---	---	0-1000	---	---	---	---
Duarte <i>et al.</i> (2019)	---	0-300	---	0-45	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Gdala <i>et al.</i> (1997)	---	0-3,1	---	0-784,7	---	---	0-3220	---	---	---	---	---	---
Giang <i>et al.</i> (2010)	---	0-220	0-2200	0-2000	0-400	0-4400	---	---	---	---	---	---	---
Guo <i>et al.</i> (2022)	0-9000	---	---	0-2430	0-1350	---	---	---	---	---	---	---	---
Hogberg <i>et al.</i> (2004)	---	---	---	0-14537	0-1535	---	---	---	---	---	---	---	---
Kiarie <i>et al.</i> (2007)	---	---	0-50	0-1200	0-450	---	0-45	0-500	---	0-400	---	---	---
Kim <i>et al.</i> (2005)	0-500,2	---	---	0-4000	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Li <i>et al.</i> (1999)	---	0-2000	0-37,5	---	0-3,3	0-400	---	0-275	---	---	---	---	---
Li <i>et al.</i> (2018)	---	---	0-700	0-100	0-500	---	---	---	---	---	---	---	---
Li <i>et al.</i> (2021)	---	0-3000	0-4000	---	0-150	0-1000	---	---	---	---	---	---	---
Liu <i>et al.</i> (2019)	---	0-1500	---	0-4000	---	0-1500	---	---	---	0-500	---	---	---
Long <i>et al.</i> (2021)	---	0-2500	---	0-4000	0-150	0-374	---	---	---	---	---	---	---
Lu <i>et al.</i> (2016)	0-750	---	---	0-1650	0-150	---	---	---	---	---	---	---	---
Neto <i>et al.</i> (2020)	0-500	---	---	0-3000	0-22000	---	0-700	---	---	---	0-2200	---	---
Neto <i>et al.</i> (2020)	0-500	---	---	0-3000	0-22000	---	0-700	---	---	---	0-2200	---	---
Neto <i>et al.</i> (2021)	0-500	---	---	0-3000	0-22000	---	0-700	---	---	---	0-2200	---	---
Omogbenigun <i>et al.</i> (2004)	0-400	---	---	0-250	0-150	---	---	---	---	---	---	---	---
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2002)	---	---	---	NE	---	NE	---	---	---	---	---	---	---
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2010)	---	---	---	NE	NE	---	---	---	---	---	---	---	---
Park <i>et al.</i> (2020)	0-1000	0-3500	---	0-4000	0-150	0-1500	---	---	---	---	---	---	---
Perez-Palencia <i>et al.</i> (2021)	0-2500	NE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Pires <i>et al.</i> (2007)	---	---	0-800	0-2600	0-1800	---	0-5000	---	---	---	---	---	---
Shim <i>et al.</i> (2004)	0-500	---	---	0-300	0-220	---	0-7	---	---	---	0-22	---	---
Teixeira <i>et al.</i> (2005)	NE	NE	---	---	---	NE	---	---	---	---	---	---	---
Tsai <i>et al.</i> (2017)	---	---	---	0-4000	0-450	---	---	---	---	---	---	---	---
Vahjen <i>et al.</i> (2007)	---	---	0-160	0-3000	0-2800	---	0-140	---	---	0-190	---	---	---
Wang <i>et al.</i> (2012)	---	---	---	0-4000	0-2000	---	---	---	---	0-4000	---	---	---
Wang <i>et al.</i> (2022)	---	---	---	0-1600	---	---	---	---	---	---	---	0-4	0-0,8
Xu <i>et al.</i> (2011)	---	0-180	---	---	---	0-420	---	---	0-300	---	---	---	---
Xuan <i>et al.</i> (2001)	0-320	0-2000	0-3750	0-1300	0-33	0-4050	---	0-27,5	0-15	---	---	---	---

Yi <i>et al.</i> (2013)	---	0-6000	---	0-3000	---	0-300	---	---	---	---	---	---	---
Yin <i>et al.</i> (2001)	---	0-500	---	0-745	0-600	---	---	---	---	---	---	---	---
Zhang <i>et al.</i> (2014)	---	0-1582	---	0-2100	---	0-3031	---	---	---	---	---	---	---
Zijlstra <i>et al.</i> (2004)	---	---	---	0-3380	0-1308	---	---	---	---	---	---	---	---

NE = Não especificado. Fit = Fitase, Prot = Protease, Cel = Celulase, Xil = Xilanase, β -Glu = β -Glucanase, Ami = Amilase, α -Gal = α -Galactosidade, Pec = Pectinase, Lip = Lipase, Man = Mananase, GalMan = Galactomananase, Fer = Feruloilesterase, Arab = Arabinofuranosidade.

As enzimas presentes nos complexos de um total de 76 dietas presentes nos 40 estudos foram a xilanase (33 dietas), β -glucanase (27 dietas), protease (16 dietas), fitase (14 dietas), amilase (13 dietas), α -galactosidade (11 dietas), celulase (8 dietas), galactomananase (6 dietas), mananase (4 dietas), pectinase (3 dietas), lipase (3 dietas), feruloilesterase (1 dieta) e arabinofuranosidade (1 dieta) (Figura 4).

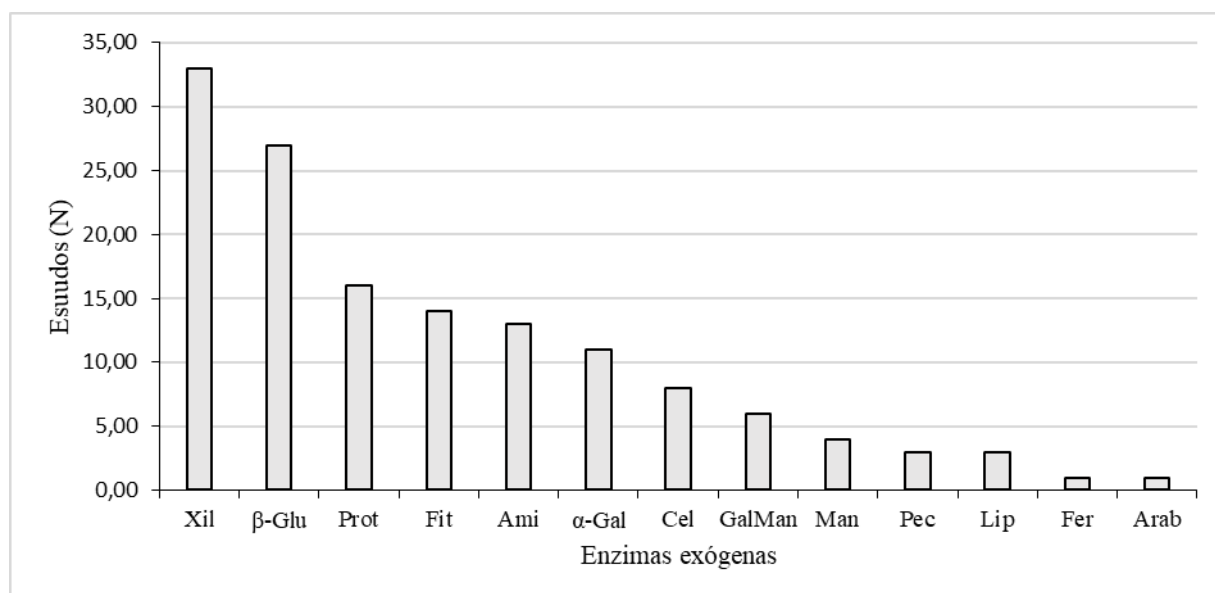


Figura 4 - Frequência de utilização das enzimas encontradas nos tratamentos dos 40 estudos com leitões na fase inicial.

Os leitões na fase inicial utilizados nas pesquisas foram caracterizados pela quantidade de animais que compuseram os ensaios de desempenho produtivo e/ou digestibilidade, peso médio corporal inicial e período experimental (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização dos animais utilizados nos estudos.

Estudos	Animais (N)	Peso Inicial (kg)	Duração (Dias)
Ao <i>et al.</i> (2020)	200	9,59	30
Barros <i>et al.</i> (2014)	25	8,80	10
Brandão Melo <i>et al.</i> (2020)	80	5,40	21
Brooks <i>et al.</i> (2009)	135	7,20	28
Dadalt <i>et al.</i> (2016)	32	8,90	15
Diebold <i>et al.</i> (2005)	210	6,98	35
Duarte <i>et al.</i> (2019)	144	6,01	42
Gdala <i>et al.</i> (1997)	12	15,00	10
Giang <i>et al.</i> (2010)	936	5,87	43
Guo <i>et al.</i> (2022)	160	7,50	42
Hogberg <i>et al.</i> (2004)	16	8,05	12
Kiarie <i>et al.</i> (2007)	80	4,02	28
Kim <i>et al.</i> (2005)	270	9,70	21
Li <i>et al.</i> (1999)	96	7,20	28
Li <i>et al.</i> (2018)	25	8,36	10
Li <i>et al.</i> (2021)	27	14,00	40
Liu <i>et al.</i> (2019)	24	7,25	28
Long <i>et al.</i> (2021)	70	4,50	28
Lu <i>et al.</i> (2016)	96	7,90	28
Neto <i>et al.</i> (2020)	20	9,30	28
Neto <i>et al.</i> (2020)	72	8,49	35
Neto <i>et al.</i> (2021)	48	7,20	24
Omogbenigun <i>et al.</i> (2004)	108	7,51	28
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2002)	96	10,40	28
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2010)	96	7,40	35
Park <i>et al.</i> (2020)	25	6,20	7
Perez-Palencia <i>et al.</i> (2021)	240	7,00	28
Pires <i>et al.</i> (2007)	40	7,09	17
Shim <i>et al.</i> (2004)	132	7,23	35
Teixeira <i>et al.</i> (2005)	60	7,00	28
Tsai <i>et al.</i> (2017)	24	7,84	15
Vahjen <i>et al.</i> (2007)	25	6,10	10
Wang <i>et al.</i> (2012)	96	6,10	28
Wang <i>et al.</i> (2022)	128	5,40	41
Xu <i>et al.</i> (2011)	14	6,10	9
Xuan <i>et al.</i> (2001)	24	7,00	28
Yi <i>et al.</i> (2013)	144	10,00	21
Yin <i>et al.</i> (2001)	160	7,23	42
Zhang <i>et al.</i> (2014)	460	6,43	28
Zijlstra <i>et al.</i> (2004)	108	7,87	28

A caracterização das variáveis de desempenho produtivo e digestibilidade avaliadas e o efeito de variação entre as dietas com ou sem adição de complexos enzimáticos são apresentados nas Tabela 3 e 4, respectivamente. Dentre os 76 tratamentos dietéticos, 54 deles avaliaram desempenho produtivo dos leitões por meio do ganho diário de peso (GDP), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA).

Tabela 3 - Caracterização das variáveis de desempenho produtivo e efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas para leitões na fase inicial

Estudos	Complexo enzimático	Efeito (%)
Ao <i>et al.</i> (2020)	β -Glu e α -Gal	GDP (-1,17 a -0,20%), CDR (-2,67 a -2,54%) e CA (-2,48 a -1,38%)
Brandão Melo <i>et al.</i> (2020)	Fit, Xil e β -Glu	GDP (10,68%), CDR (-2,54%) e CA (-11,94%)
Brooks <i>et al.</i> (2009)	α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	GDP (-3,32%), CDR (-1,94%) e CA (1,42%)
Duarte <i>et al.</i> (2019)	Xil e Prot	GDP (10,79%), CDR (7,98%) e CA (-2,54%)
Giang <i>et al.</i> (2010)	Ami, Prot, Cel, β -Glu e Xil	GDP (5,53%), CDR (0,97%) e CA (-4,32%)
Guo <i>et al.</i> (2022)	Fitase, Xil e β -Glu	GDP (0,00%), CDR (-4,09%) e CA (4,09%)
Hogberg <i>et al.</i> (2004)	β -Glu e Xil	GDP (1,54%)
Kiarie <i>et al.</i> (2007)	Pec, Cel, Man, Xil, β -Glu e α -Gal	GDP (5,95%), CDR (5,36%) e CA (-0,56%)
Kim <i>et al.</i> (2005)	Xil e Fit	GDP (4,33%), CDR (4,62%) e CA (0,29%)
Li <i>et al.</i> (1999)	Ami, β -Glu, Pec, Prot e Cel	GDP (8,42%), CDR (-1,18%) e CA (-8,86%)
Li <i>et al.</i> (2018)	Cel, β -Glu e Xil	GDP (2,13%), CDR (0,00%) e CA (-2,08%)
Li <i>et al.</i> (2021)	Prot, Cel, β -Glu e Ami	GDP (10,79%), CDR (1,88%) e CA (-8,03%)
Liu <i>et al.</i> (2019)	Xil, Man, Prot e Ami	GDP (7,14%), CDR (0,25%) e CA (-6,43%)
Long <i>et al.</i> (2021)	Ami, Prot, Xil e β -Glu	GDP (10,92%), CDR (1,53%) e CA (-8,47%)
Lu <i>et al.</i> (2016)	Xil, β -Glu e Fit	GDP (-5,81 a -3,87%), CDR (-2,28 a -0,40%) e CA (3,61 a 3,75%)
Omogbenigun <i>et al.</i> (2004)	Xil, β -Glu, Ami, Prot e Fit	GDP (11,40%), CDR (-4,33%) e CA (-14,12%)
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2002)	Ami e Xil	GDP (-6,64 a -1,73%), CDR (-13,61 a 1,82%) e CA (-7,47 a 3,82%)
Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2010)	Xil e β -Glu	GDP (0,96 a 1,82%), CDR (-3,14 a -2,09%), CA (-4,96 a -3,39%)
Park <i>et al.</i> (2020)	Xil, β -Glu, Prot, Ami e Fit	GDP (10,87 a 19,44%), CDR (10,68 a 20,13%) e CA (-0,17 a 0,58%)
Perez-Palencia <i>et al.</i> (2021)	Fit e Prot	GDP (-5,15%), CDR (-2,62%) e CA (2,66%)
Pires <i>et al.</i> (2007)	α -Gal, Cel, Xil, β -Glu	GDP (38,37%), CDR (1,15%) e CA (-27,90%)

Shim <i>et al.</i> (2004)	Fit, α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	GDP (-1,09 a 3,49%), CDR (-5,5 a -4,13%) e CA (-8,69 a -3,07%)
Teixeira <i>et al.</i> (2005)	Prot, Ami e Cel	GDP (0,33 a 21,05%), CDR (-0,41 a 20,37%) e CA (-6,67 a -0,57%)
Tsai <i>et al.</i> (2017)	Xil e β -Glu	GDP (-6,48%), CDR (17,95%) e CA (26,12%)
Vahjen <i>et al.</i> (2007)	Xil, β -Glu, Man, Gal e Cel	GDP (6,75%), CDR (8,20%) e CA (1,36%)
Wang <i>et al.</i> (2022)	Xil, Arab e Fer	GDP (11,44%), CDR (2,96%) e CA (-7,57%)
Xu <i>et al.</i> (2011)	Lip, Trip e Ami	GDP (1,55 a 8,20%), CDR (-0,55 a 5,96%) e CA (-2,06%)
Xuan <i>et al.</i> (2001)	Ami, Xil, β -Glu, Prot, Cel, Pec, Lip e Fit	GDP (3,29 a 9,87%), CDR (2,68 a 7,16%) e CA (-4,71 a -0,59%)
Yi <i>et al.</i> (2013)	Prot, Xil e Ami	GDP (11,70 a 15,32%), CDR (2,33 a 2,66%) e CA (-8,09 a -11,27%)
Zhang <i>et al.</i> (2014)	Prot, Xil e Ami	GDP (2,95 a 9,23%), CDR (-1,97 a 0,93%) e CA (-8,98 a -4,77%)
Zijlstra <i>et al.</i> (2004)	Xil e β -Glu	GDP (5,84 a 12,90%), CDR (9,19 a 15,62%) e CA (0,59 a 3,16%)

Fit = Fitase, Prot = Protease, Cel = Celulase, Xil = Xilanase, β -Glu = β -Glucanase, Ami = Amilase, α -Gal = α -Galactosidade, Pec = Pectinase, Lip = Lipase, Man = Mananase, GalMan = Galactomananase, Fer = Feruloilesterase, Arab = Arabinofuranosidade.

Para as variáveis de digestibilidade, foram encontrados resultados para matéria seca - MS (59 dietas), proteína bruta - PB (59 dietas), energia (48 dietas), extrato etéreo - EE (17 dietas), fósforo - P (16 dietas), cálcio - Ca (15 dietas), matéria mineral - MM (14 dietas), fibra em detergente neutro - FDN (12 dietas), matéria orgânica - MO (12 dietas), energia metabolizável (10 dietas), amido (9 dietas), polissacarídeos não-amiláceos - PNA (7 dietas) e fibra em detergente ácido (5 dietas).

Tabela 4 - Caracterização das variáveis de digestibilidade e efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas para leitões na fase inicial

Estudos	Complexo enzimático	Efeito (%)
Ao <i>et al.</i> (2020)	β -Glu e α -Gal	MS (0,98 a 1,58%), PB (1,93 a 2,54%) e energia (-0,25 a 0,88%)
Barros <i>et al.</i> (2014)	Ami e Prot	MS (0,84%), MM (1,81%), MO (0,84%), Amido (1,05%), PB (0,41%) e energia (0,23%)
Dadalt <i>et al.</i> (2016)	GalMan, Xil, β -Glu e α -Gal	MS (3,37%), PB (8,90%) e energia (3,70%)
Diebold <i>et al.</i> (2005)	Xil e Lip	MO (1,16%), PB (1,15%) e energia (1,13%)
Duarte <i>et al.</i> (2019)	Xil e Prot	MS (-10,43%), PB (1,40%) e energia (2,38%)
Gdala <i>et al.</i> (1997)	α -Gal, Xil e Prot	MS (4,17%), PNA (1030%), EE (1,04%) e PB (0,13%)
Giang <i>et al.</i> (2010)	Ami, Prot, Cel, β -Glu e Xil	MO (3,75%), FDN (6,55%) e PB (1,67%)
Hogberg <i>et al.</i> (2004)	β -Glu e Xil	MO (-1,22%), amido (1,02%) e energia (-1,25%)
Kiarie <i>et al.</i> (2007)	Pec, Cel, Man, Xil, β -Glu e α -Gal	MS (4,37%), PNA (3,66%) e PB (3,55%)
Kim <i>et al.</i> (2005)	Xil e Fit	MS (-1,25%), amido (0,00%), PB (-1,28%), energia (-3,80%), Ca (3,51%) e P (22,50%)
Li <i>et al.</i> (2018)	Cel, β -Glu e Xil	MS (0,58%), FDN (1,76%), FDA (22,13%), EE (0,52%), PB (1,42%) e energia (0,40%)
Li <i>et al.</i> (2021)	Prot, Cel, β -Glu e Ami	MS (-1,00%), MO (-0,68%), FDN (16,97%), FDA (7,64%), PB (1,49%) e metabolizabilidade da energia (-0,36%)
Liu <i>et al.</i> (2019)	Xil, Man, Prot e Ami	MS (6,85%) e PB (7,23%)
Long <i>et al.</i> (2021)	Ami, Prot, Xil e β -Glu	MS (5,22%), MO (3,73%), PB (6,92%) e energia (5,78%)
Lu <i>et al.</i> (2016)	Xil, β -Glu e Fit	MS (0,76 a 1,40%), PB (-1,18 a 1,26%), energia (-0,42 a 0,73%), Ca (7,75 a 14,7%) e P (-0,29 a 4,84%)
Neto <i>et al.</i> (2020)	Fit, α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	MS (4,32 a 6,24%), MM (41,19 a 41,45%), PB (5,25 a 14,10%) e metabolizabilidade da energia (6,89 a 9,93%)
Neto <i>et al.</i> (2020)	Fit, α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	MS (2,69 a 9,64%), MM (59,93 a 60,22%), PB (3,12 a 17,65%) e metabolizabilidade da energia (-2,97 a 8,42%)
Neto <i>et al.</i> (2021)	Fit, α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	MS (2,21 a 7,01%), PB (-8,32 a 11,46%) e metabolizabilidade da energia (0,07 a 4,38%)
Omogbenigun <i>et al.</i> (2004)	Xil, β -Glu, Ami, Prot e Fit	MS (10,98%), PNA (111,88%), amido (9,92%), PB (17,87%) e energia (13,69%)

Owusu-Asiedu <i>et al.</i> (2010)	Xil e β -Glu	MS (0,12 a 0,71%), PNA (2,73 a 5,77%), PB (1,25 a 1,62%) e energia (0,12 a 0,59%)
Park <i>et al.</i> (2020)	Xil, β -Glu, Prot, Ami e Fit	MS (-0,24 a 0,55%), MO (-0,18 a 0,57%), EE (20,03 a 23,74%), PB (1,61 a 2,78%) e energia (-0,45 a 0,39%)
Pires <i>et al.</i> (2007)	α -Gal, Cel, Xil, β -Glu	MS (3,32%), FDN (62,00%), PB (3,74%) e energia (4,96%)
Shim <i>et al.</i> (2004)	Fit, α -Gal, GalMan, Xil e β -Glu	MS (0,65 a 1,39%), EE (-2,26 a 3,72%), PB (-1,03 a 1,68%), energia (-0,93 a 1,19%), Ca (-3,65 a 2,25%) e P (17,88 a 33,54%)
Tsai <i>et al.</i> (2017)	Xil e β -Glu	MS (-1,07%), MM (7,01%), FDN (13,75%), PB (-4,32%), energia (-4,27%) e P (17,21%)
Vahjen <i>et al.</i> (2007)	Xil, β -Glu, Man, Gal e Cel	MM (-5,23%), FDN (-13,67%), FDA (-11,40%), amido (0,10%), EE (1,83%) e PB (1,04%)
Wang <i>et al.</i> (2012)	Xil, β -Glu, Man	MS (43,90 a 51,22%), PB (7,50 a 16,62%) e energia (35,56 a 44,44%)
Wang <i>et al.</i> (2022)	Xil, Arab e Fer	MS (4,92%), MM (7,21%), PB (5,62%) e energia (5,94%)
Xu <i>et al.</i> (2011)	Lip, Trip e Ami	MS (1,35 a 1,53%), MO (1,18 a 1,32%), EE (6,60 a 7,04%), PB (3,37 a 3,62%), Ca (2,62 a 5,77%) e P (1,34 a 4,60%)
Xuan <i>et al.</i> (2001)	Ami, Xil, β -Glu, Prot, Cel, Pec, Lip e Fit	MS (-0,13 a 2,18%), MM (14,44 a 33,10%), EE (2,42 a 10,76%), PB (1,20 a 3,19%), energia (0,00 a 0,76%), Ca (-0,81 a 10,03%) e P (12,31 a 38,02%)
Yi <i>et al.</i> (2013)	Prot, Xil e Ami	MS (1,28 a 1,89%), amido (0,02 a 0,07%), PB (3,04 a 3,51%) e energia (1,71 a 2,14%)
Yin <i>et al.</i> (2001)	Prot, Xil e β -Glu	MS (0,98%), FDN (9,36%), PB (6,76%) e energia (0,25%)
Zhang <i>et al.</i> (2014)	Prot, Xil e Ami	MS (1,50 a 2,83%), PB (2,23 a 3,25%) e energia (2,78 a 3,34%)
Zijlstra <i>et al.</i> (2004)	Xil e β -Glu	MS (5,16 a 9,58%), FDN (49,74 a 87,05%) e energia (4,58 a 8,97%)

Fit = Fitase, Prot = Protease, Cel = Celulase, Xil = Xilanase, β -Glu = β -Glucanase, Ami = Amilase, α -Gal = α -Galactosidade, Pec = Pectinase, Lip = Lipase, Man = Mananase, GalMan = Galactomananase, Fer = Feruloilesterase, Arab = Arabinofuranosidade.

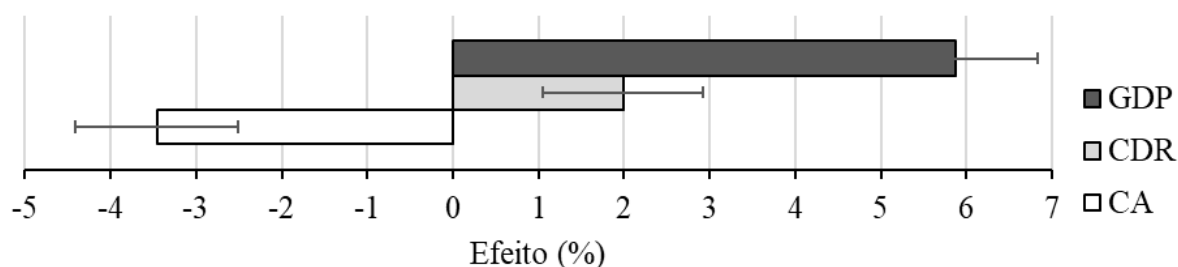
Dos 40 estudos em questão, seis trouxeram tratamentos com redução nutricional de energia, Ca – (2 estudos), proteína bruta – PB (2 estudos), aminoácidos (2 estudos), fósforo - P (4 estudos) e aumentos nos níveis de FDN, FDA e hemicelulose (1 estudo), conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização das variáveis e efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas com redução nutricional para leitões na fase inicial

Estudos	Redução nutricional	Complexo enzimático	Efeito (%)
Ao <i>et al.</i> (2020)	Energia	β -Glu e α -Gal	GDP (3,05 a 4,07%), CDR (1,53 a 1,67%), CA (-2,44 a -1,34%), digestibilidade da MS (2,80 a 3,41%), PB (2,48 a 3,60%) e energia (1,23 a 2,37%)
Brandão Melo <i>et al.</i> (2020)	Energia, aminoácidos, Ca e P	Fit, Xil e β -Glu	GDP (6,54%), CDR (0,80%), CA (-5,39%)
Guo <i>et al.</i> (2022)	Energia e P	Fitase, Xil e β -Glu	GDP (8,11%), CDR (-1,16%), CA (-8,57%)
Lu <i>et al.</i> (2016)	Energia, proteína bruta, Ca e P	Xil, β -Glu e Fit	GDP (9,58 a 11,83%), CDR (5,49 a 7,51%), CA (-3,73 a -3,86%), digestibilidade da MS (3,41 a 4,06%), PB (3,73 a 6,28%), energia (3,14 a 4,33%), Ca (33,08 a 41,66%) e P (11,36 a 17,08%)
Perez-Palencia <i>et al.</i> (2021)	Aminoácidos	Fit e Prot	GDP (3,20%), CDR (0,00%), CA (-3,10%)
Tsai <i>et al.</i> (2017)	Proteína bruta, P, aumentos de FDN, FDA e hemicelulose	Xil e β -Glu	GDP (6,60%), CDR (11,14%), CA (4,26%), digestibilidade da MS (-0,11%), MM (-8,43%), FDN (13,07%), PB (-2,46%), energia (0,00%) e P (7,92%)

Fit = Fitase, Prot = Protease, Xil = Xilanase, β -Glu = β -Glucanase e α -Gal = α -Galactosidade.

Na Figura 5 podemos observar o efeito da adição de enzimas exógenas combinadas em dietas para leitões desmamados sobre o desempenho produtivo. É possível observar um incremento de 5,86% no ganho de peso dos leitões, 1,99% no consumo de ração e redução de 3,46% na conversão alimentar.

**Figura 5** - Efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas para leitões na fase inicial sobre o desempenho produtivo.

O efeito da adição de enzimas exógenas combinadas em dietas com redução nutricional para leitões desmamados sobre o desempenho produtivo está apresentado na Figura 6. É

possível observar incremento de 6,62% no ganho de peso dos leitões, 3,37% no consumo de ração e redução de 3,02% na conversão alimentar.

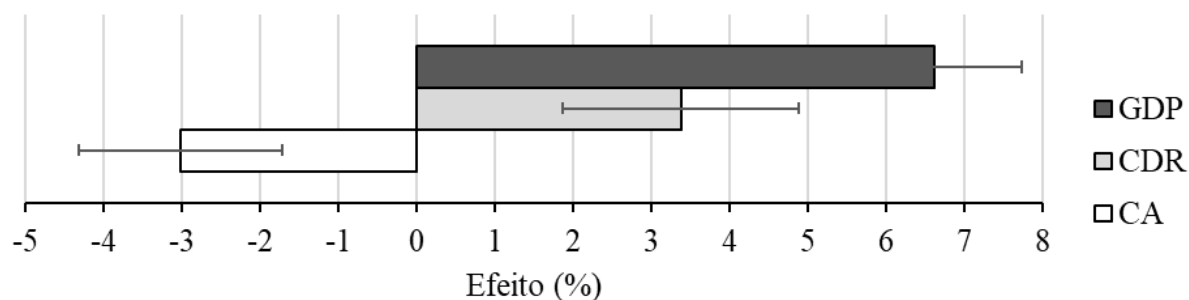


Figura 6 - Efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas com redução nutricional para leitões na fase inicial sobre o desempenho produtivo.

Na Figura 7 verificamos o efeito da adição de enzimas exógenas combinadas em dietas para leitões desmamados sobre a digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia. Constatou-se aumento da digestibilidade da MS (5,48%), MM (27,13%), MO (1,05%), amido (1,74%), FDN (30,97%), FDA (6,12%), PNA (25,93%), EE (6,10%), PB (3,79%), Ca (4,89%), P (20,86%), energia (5,10%) e energia metabolizável (3,63%).

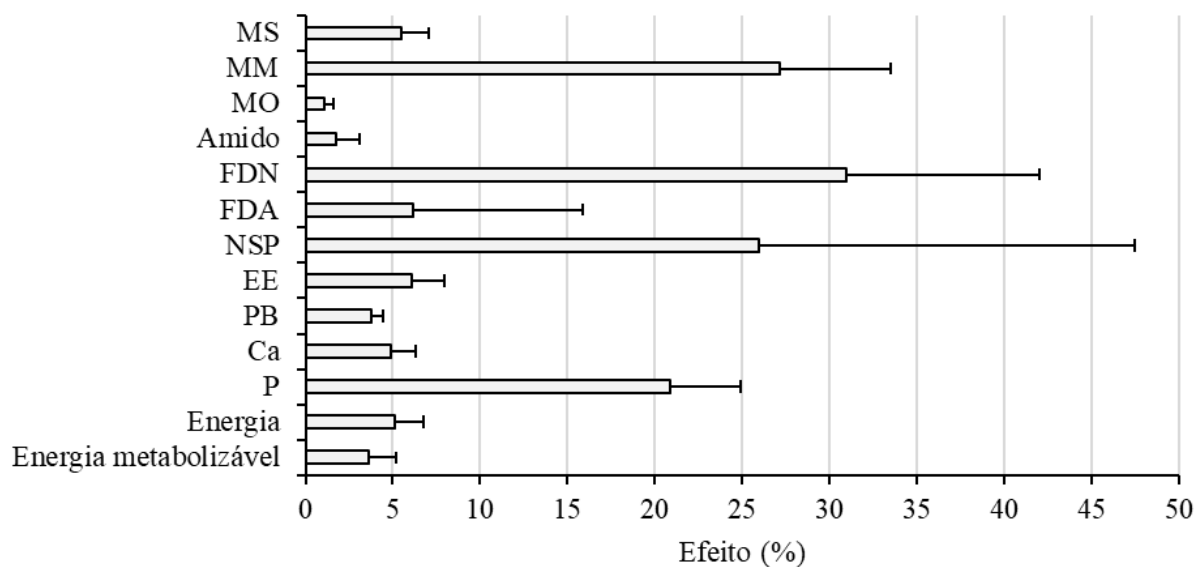


Figura 7 - Efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas para leitões na fase inicial sobre a digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia.

Na Figura 8 verificamos o efeito da adição de enzimas exógenas combinadas em dietas com redução nutricional para leitões desmamados sobre a digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia. Constatou-se aumento da digestibilidade da MS (2,71%), FDN (3,07%), PB (2,83%), Ca (37,4%), P (12,12%) e energia (2,21%).

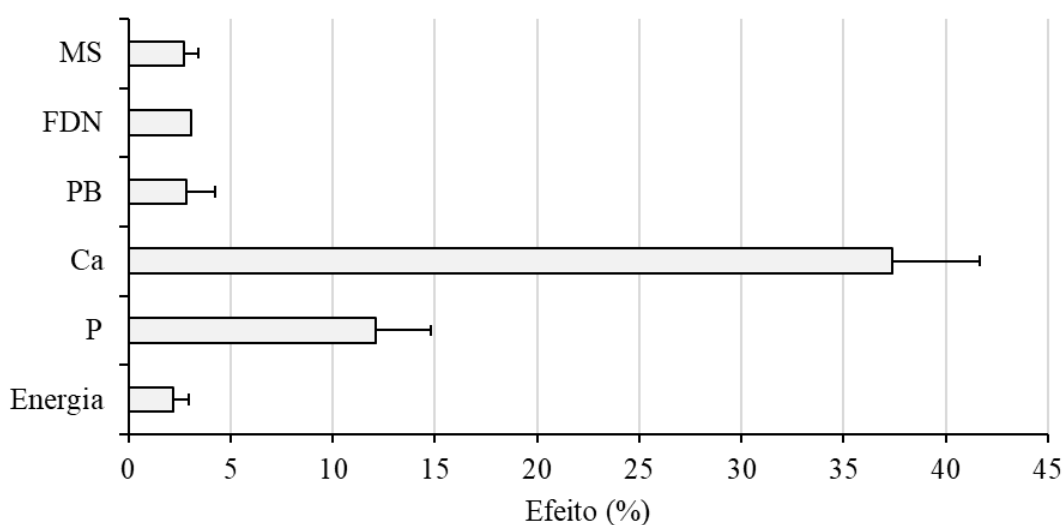


Figura 8 - Efeitos da adição de complexos enzimáticos utilizados em dietas com redução nutricional para leitões na fase inicial sobre a digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia.

2.6 DISCUSSÃO

Os leitões são animais não-ruminantes que não produzem enzimas endógenas capazes de digerir os polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) dietéticos e isso leva a aumentos da viscosidade da digesta, alterações na morfologia intestinal e redução da digestibilidade de nutrientes (Passos *et al.*, 2015).

O número de leitões nascidos aumentou nos últimos anos, levando a reduções no peso ao nascer e menor desenvolvimento do trato gastrointestinal, imunidade imatura e capacidade de secreção enzimática limitada (Douglas *et al.*, 2014; Inoue *et al.*, 2015). Assim, o objetivo da adição de complexos enzimáticos é melhorar o desempenho produtivo dos suínos por meio da dieta (Aranda-Aguirre *et al.*, 2021).

Evidenciamos que nas duas últimas décadas, pesquisas com complexos enzimáticos foram intensificadas, o que está intimamente relacionado com aumento global da produção de carne suína nesse período (USDA, 2023). Um total de 11 dos 12 países, onde os 40 artigos selecionados para a nossa pesquisa foram realizados, ocupam as 9 primeiras posições no ranking de maiores produtores de carne suína, com a China liderando, seguida pela União Europeia, EUA e Brasil (USDA, 2023). Isso demonstra que há uma relação entre a produção mundial de suínos e as pesquisas com utilização de complexos enzimáticos na dieta de leitões desmamados.

As enzimas exógenas mais estudadas em diferentes combinações e dosagens foram a xilanase (33 dietas), β -glucanase (27 dietas), protease (16 dietas), fitase (14 dietas), amilase (13 dietas), α -galactosidase (11 dietas), celulase (8 dietas), galactomananase (6 dietas), mananase

(4 dietas), pectinase (3 dietas), lipase (3 dietas), feruloilesterase (1 dieta) e arabinofuranosidade (1 dieta).

De acordo com Adeola e Cowieson (2011), estima-se que dentre as enzimas exógenas comercializadas para inclusão em dietas para não-ruminantes, as fitases e carboidrases representem 90% e as proteases e lipases 10% (Adeola e Cowieson, 2011). É importante salientar a presença de novas combinações que visam diminuir a limitação para o uso de ingredientes vegetais, como por exemplo os farelos, cuja aplicação em dietas pode ser limitada pela presença de fatores antinutricionais, como os arabinoxilanos.

Enzimas despolimerizadoras como a xilanase, podem não ser suficientes para uma degradação eficiente dos arabinoxilanos. Assim, Wang *et al.* (2022) testaram a ação de uma enzima despolimerizante (xilanase) associadas a enzimas desramificadoras (arabinofuranosidase e feruloilesterase) e relataram melhora no desempenho de crescimento dos leitões quando as enzimas atuaram em conjunto.

No que diz respeito as dosagens, nota-se que ainda há uma grande variação das quantidades que devem ser incorporadas em cada complexo enzimático, o que nos leva a crer que mais estudos devem ser conduzidos para otimizar as combinações de enzimas que compõem os diferentes produtos, levando em consideração os teores dos substratos da dieta que se tornarão alvo de cada enzima.

Na atual revisão sistemática, 9 estudos usaram mais de uma dose ao testar o efeito da suplementação enzimática exógena (Shim *et al.*, 2004; Zijlstra *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2005; Owusu-Asiedu *et al.*, 2010; Yi *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014; Lu *et al.*, 2016; Ao *et al.*, 2020). No geral, a literatura mostra que onde há resposta à inclusão enzimática o efeito é positivo com o nível de inclusão enzimática.

Na fase inicial dos leitões desmamados, foi observada melhora no desempenho produtivo (80% dos estudos) com a utilização dos complexos enzimáticos em relação as dietas controle, com destaque para tratamentos dietéticos caracterizados pela utilização de ingredientes com teores elevados de PNAs e redução na matriz nutricional ao restringir nutrientes importantes, como proteína bruta, aminoácidos, minerais relacionados ao desenvolvimento ósseo como Ca e P e redução energética das dietas.

É difícil comparar o efeito da dose entre ensaios individuais porque cada produto enzimático tem uma concentração de atividade enzimática diferente que é medida em condições diferentes, expressa em unidades diferentes e, às vezes, as atividades enzimáticas recuperadas na ração nem são relatadas em publicações (Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

Foi observado que 20% dos estudos relataram uma resposta negativa à dose para o desempenho produtivo dos leitões (Zijlstra *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2005; Vahjen *et al.*, 2007; Brooks *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2016; Tsai *et al.*, 2017; Perez-Palencia *et al.*, 2021; Guo *et al.*, 2022). Embora o objetivo da inclusão dietética de enzimas exógenas seja melhorar o desempenho produtivo e a digestibilidade de nutrientes, os leitões que recebem a suplementação nem sempre apresentam melhorias constantes (Barrera *et al.*, 2004; Leek, *et al.*, 2007; Olukosi *et al.*, 2007).

Os 76 tratamentos dietéticos testados nas 40 investigações foram caracterizados por uma diversidade de ingredientes convencionais e alternativos que objetivaram atender as exigências nutricionais dos leitões, visando maximizar a produção por meio da estratégia da adição dos complexos enzimáticos, principalmente quando coprodutos da indústria de cereais fizeram parte da composição da dieta ou quando houve redução nutricional. Assim, é evidente que a suinocultura continuará a buscar estratégias alimentares com boa relação custo-benefício.

Aranda-Aguirre *et al.* (2021) relataram que enzimas combinadas podem produzir benefícios maiores do que cada uma das enzimas em ação individual. Assim, entender como as enzimas agem em sintonia para hidrolisar seus respectivos substratos e conhecer o modo de ação da combinação utilizada na dieta dos animais, maximiza a eficiência produtiva, mesmo que os benefícios do conjunto de enzimas dependam da composição dietética (Adeola e Cowieson, 2011).

A combinação de enzimas exógenas levou a um melhor aproveitamento dos nutrientes, minerais e energia mesmo quando se utilizou ingredientes não convencionais e adotou-se redução dos níveis nutricionais. As melhoras relatadas estão associadas a redução dos diferentes fatores antinutricionais presentes nos alimentos que se tornam substratos-alvo para as enzimas (Aldeola e Cowieson, 2011).

Diante do panorama apresentado por este compilado de estudos, podemos afirmar que há uma tendência crescente no uso de enzimas exógenas para leitões. Em suma, estudos mais aprofundados são pertinentes quanto ao tipo e nível de inclusão de complexos enzimáticos nas dietas, uma vez que diferentes fontes de variação influenciam o desempenho dos leitões e digestibilidade das dietas.

2.7 CONCLUSÕES

A maioria dos estudos relata que dosagens únicas e crescentes de complexos enzimáticos resultaram em melhoria no desempenho produtivo dos leitões e digestibilidade de nutrientes, Ca, P e energia de dietas com ou sem redução nutricional. Contudo, uma melhoria

nesses parâmetros nem sempre é observada, necessitando de mais pesquisas voltadas à composição da dieta, quantidade e número de enzimas adicionadas.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve on ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, 89, n. 10, 3189–3218, 2011.
- AO, X.; ZHANG, S.; KIM, I. H. Effect of carbohydrases on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, and fecal microbiota in weanling pigs fed reduced energy diet. **Canadian Journal of Animal Science**, 100, n. 1, p. 126-132, 2020.
- ARANDA-AGUIRRE, E.; ROBLES-JIMENEZ, L. E.; OSORIO-AVALOS, J.; VARGAS-BELLO-PEREZ, E. *et al.* A systematic review on the role of exogenous enzymes on the productive performance at weaning, growing and finishing in pigs. **Veterinary and Animal Science**, 2021.
- BARRERA, M. A.; CERVANTES, M.; SAUER, W. C.; ARAIZA, A. B. *et al.* Ileal amino acid digestibility and performance of growing pigs fed wheat-based diets supplemented with xylanase. **Journal of Animal Science**, 82(7), p.1997–2003, 2004.
- BARROS, P. C.; DE OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C. E.; NUNES, R. V. Effect of enzymes addition on the total tract apparent digestibility of piglet diets. **Semina: Ciências Agrárias**, 35, n. 4, p. 2211-2218, 2014.
- BRANDÃO MELO, A. D.; DE OLIVEIRA, A. C. D. F.; DA SILVA, P.; OS SANTOS, J. B. *et al.* 6-phytase and/or endo- β -xylanase and -glucanase reduce weaner piglet's diarrhea and improve bone parameters. **Livestock Science**, 238, 2020.
- BROOKS, K. R.; WIEGAND, B. R.; METEER, A. L.; PETERSEN, G. I. *et al.* Inclusion of Yellow Field Peas and Carbohydrase Enzyme in Nursery Pig Diets to Improve Growth Performance. **Professional Animal Scientist**, 25, n. 1, p. 17-25, 2009.
- CLARK, M.; TILMAN, D. Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. **Environmental Research Letters**, 12(6), 1–11, 2017.
- DADALT, J. C.; GALLARDO, C.; POLYCARPO, G. V.; BUDIÑO, F. E. *et al.* Ileal Amino Acid Digestibility of Broken Rice Fed to Post weaned Piglets with or without Multicarbohydrase and Phytase Supplementation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 29, n. 10, p. 1483-1489, 2016.
- DIEBOLD, G.; MOSENTHIN, R.; SAUER, W. C.; DUGAN, M. E. R. *et al.* Supplementation of xylanase and phospholipase to wheat-based diets for weaner pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 89, n. 9-10, p. 316-325, 2005.
- DOUGLAS, S. L.; EDWARDS, S. A.; KYRIAZAKIS, I. Management strategies to improve the performance of low-birth-weight pigs to weaning and their long-term consequences. **Journal of Animal Science**, 92, p. 2280-2288, 2014.
- DUARTE, M. E.; ZHOU, F. X.; DUTRA, 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, n. 4, p. 351-358, 2019.

FAIRBROTHER, J. M.; NADEAU, E.; GYLES, C. L. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. **Animal Health Research Reviews**, 6, p. 17-39, 2005.

GDALA, J.; JOHANSEN, H. N.; BACH KNUDSEN, K. E.; KNAP, I. H. *et al.* The digestibility of carbohydrates, protein and fat in the small and large intestine of piglets fed non-supplemented and enzyme supplemented diets. **Animal Feed Science and Technology**, 65, n. 1-4, p. 15-33, 1997.

GIANG, H. H.; VIET, T. Q.; LINDBERG, J. E.; OGLE, B. Effects of microbial enzymes and a complex of lactic acid bacteria and *Saccharomyces boulardii* on growth performance and total tract digestibility in weaned pigs. **Livestock Research for Rural Development**, 22, n. 10, 2010.

GUO, J.; WILSON, T. B.; CHIBA, L. I.; SPANGLER, E. A. *et al.* Effect of diet complexity and dietary fish peptide and enzyme complex supplementation on weanling pigs. **Livestock Science**, 263, 2022.

HOGBERG, A.; LINDBERG, J. E. Influence of cereal non-starch polysaccharides and enzyme supplementation on digestion site and gut environment in weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, 116, n. 1-2, p. 113-128, 2004.

INOUE, R., T.; TSUKAHARA, M.; NAKATANI, M.; OKUTANI, R. *et al.* Weaning markedly affects transcriptome profiles and peyer's patch development in piglet ileum. **Frontiers in Immunology**, 6, 2015.

KIARIE, E.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A.; BLANK, G. Growth performance, gastrointestinal microbial activity, and nutrient digestibility in early-weaned pigs fed diets containing flaxseed and carbohydrase enzyme. **Journal of Animal Science**, 85, n. 11, p. 2982-2993, 2007.

KIM, J. C.; SIMMINS, P. H.; MULLAN, B. P.; PLUSKE, J. R. The effect of wheat phosphorus content and supplemental enzymes on digestibility and growth performance of weaner pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 118, n. 1-2, p. 139-152, 2005.

LECCE, J. G. *et al.* Nutrition and Management of Early Weaned Piglets: Liquid vs Dry Feeding. **Journal of Animal Science**, 48, p. 1007-1014, 1979.

LEEK, A. B. G.; CALLAN, J. J.; REILLY, P.; BEATTIE, V. E. *et al.* Apparent component digestibility and manure ammonia emission in finishing pigs fed diets based on barley, maize or wheat prepared without or with exogenous non-starch polysaccharide enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, 135(1-2), p.86-99, 2007.

LI, D.; LIU, S. D.; QIAO, S. Y.; YI, G. F. *et al.* Effect of Feeding Organic Acid with or Without Enzyme on Intestinal Microflora, Intestinal Enzyme Activity and Performance of Weaned Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 12, n. 3, p. 411-416, 1999.

- LI, Q.; GABLER, N. K.; LOVING, C. L.; GOULD, S. A. *et al.* A dietary carbohydrase blend improved intestinal barrier function and growth rate in weaned pigs fed higher fiber diets. **Journal of Animal Science**, 96, n. 12, p. 5233-5243, 2018.
- LI, Z.; TANG, L.; LIU, N.; ZHANG, F. *et al.* Comparative Effects of Compound Enzyme and Antibiotics on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Biochemical Index, and Intestinal Health in Weaned Pigs. **Frontiers in Microbiology**, 12, p. 767-768, 2021.
- LIU, S.; MA, C.; LIU, L.; NING, D. *et al.* β -xylosidase and β -mannosidase in combination improved growth performance and altered microbial profiles in weanling pigs fed a corn-soybean meal-based diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 32, n. 11, p. 1734-1744, 2019.
- LONG, S.; HU, J.; MAHFUZ, S.; MA, H. *et al.* Effects of dietary supplementation of compound enzymes on performance, nutrient digestibility, serum antioxidant status, immunoglobulins, intestinal morphology and microbiota community in weaned pigs. **Archives of Animal Nutrition**, 75, n. 1, p. 31-47, 2021.
- LU, H.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P. A. *et al.* 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, n. 2, p. 243-251, 2016.
- MASEY O'NEILL, H. V.; SMITH, J. A.; BEDFORD, M. R. Multicarbohydrase Enzymes for Non-ruminants. Asian-Australas. **Journal of Animal Science**, 27, p. 290-301, 2014.
- MOHER, D. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: the prisma statement. **Annals of Internal Medicine**, 151, n. 4, p. 264, 2009.
- NETO, M. A. T.; DADALT, J. C.; GALLARDO, C. Nutrient and energy balance, and amino acid digestibility in weaned piglets fed wheat bran and an exogenous enzyme combination. **Animal**, 14, n. 3, p. 499-507, 2020.
- NETO, M. A. T.; GALLARDO, C.; PERNA, F.; DADALT, J. C. Apparent total and ileal digestibility of rice bran with or without multicarbohydrase and phytase in weaned piglets. **Livestock Science**, 245, 2021.
- NETO, M. A. T.; VELA, C. G.; DADALT, J. C. Amino acid digestibility and energy use by weaned piglets fed yellow corn, sorghum and an exogenous enzymes combination. **Livestock Science**, 240, 2020.
- OLUKOSI, O. A.; SANDS, J. S.; ADEOLA, O. Supplementation of carbohydrases or phytase individually or in combination to diets for weanling and growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, 85(7), p.1702–1711, 2007.
- OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. Dietary supplementation with multienzyme preparations improves nutrient utilization and growth performance in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, 82, n. 4, p. 1053-1061, 2004.

O'SULLIVAN, L. B.; MURPHY, P.; MCLOUGHLIN, P.; DUGGAN, P. G.; *et al.* Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. **Marine Drugs**, 8, p. 2038-2064, 2010.

OWUSU-ASIEDU, A.; BAIDOO, S. K.; NYACHOTI, C. M. Effect of heat processing on nutrient digestibility in pea and supplementing amylase and xylanase to raw, extruded or micronized pea-based diets on performance of early-weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, 82, n. 3, p. 367-374, 2002.

OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P. H.; BRUFAU, J.; LIZARDO, R. *et al.* Effect of xylanase and beta-glucanase on growth performance and nutrient digestibility in piglets fed wheat-barley-based diets. **Livestock Science**, 134, n. 1-3, p. 76-78, 2010.

PARK, S.; LI, W. T.; ST-PIERRE, B.; WANG, Q. *et al.* Growth performance, nutrient digestibility, and fecal microbial composition of weaned pigs fed multi-enzyme supplemented diets. **Journal of Animal Science**, 98, n. 10, 2020.

PASSOS, A. A.; PARK, I.; FERKET, P.; VON HEIMENDAHL, E. *et al.* 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**, 1, p. 19-23, 2015.

PEREZ-PALENCIA, J. Y.; SAMUEL, R. S.; LEVESQUE, C. L. Supplementation of protease to low amino acid diets containing superdose level of phytase for wean-to-finish pigs: effects on performance, postweaning intestinal health and carcass characteristics. **Translational Animal Science**, 5, n. 2, 2021.

PIRES, V. M. R.; FONTES, C. M. A.; FERREIRA, L. M. A.; GUERREIRO, C. *et al.* The effect of enzyme supplementation on the true ileal digestibility of a lupin based diet for piglets. **Livestock Science**, 109, n. 1-3, p. 57-59, 2007.

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

RAVINDRAN, V. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. **Journal of Applied Poultry Research**, 22(3), p.628-636, (2013).

RECHARLA, N.; KIM, D.; RAMANI, S.; SONG, M. *et al.* Dietary multi-enzyme complex improves in vitro nutrient digestibility and hind gut microbial fermentation of pigs. **PLoS one**, e02117459, 14(5), p.1-19, 2019.

SHIM, Y. H.; CHAE, B. J.; LEE, J. H. Effects of phytase and enzyme complex supplementation to diets with different nutrient levels on growth performance and ileal nutrient digestibility of weaned pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 17, n. 4, p. 523-532, 2004.

SUIRYANRAYNA, M. V.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, p. 6-45. 2015.

TEIXEIRA, A. D.; LOPES, D. C.; FERREIRA, V. P. D.; PENA, S. M. *et al.* Exogenous enzymes in diets with different protein levels and sources for pigs in the nursery period.

Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science, 34, n. 3, p. 900-906, 2005.

TORRES-PITARCH, A.; HERMANS, D.; MANZANILLA, E. G.; BINDELLE, J. *et al.* Effect of feed enzymes on digestibility and growth in weaned pigs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, 233, p. 145-159, 2017.

TSAI, T.; DOVE, C. R.; CLINE, P. M.; OWUSU-ASIEDU, A. *et al.* The effect of adding xylanase or beta-glucanase to diets with corn distillers dried grains with solubles (CDDGS) on growth performance and nutrient digestibility in nursery pigs. **Livestock Science**, 197, p. 46-52, 2017.

USDA. Department of Agriculture. USDA.gov - **United States Department of Agriculture**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>>.

VAHJEN, W.; OSSWALD, T.; SCHAFER, K.; SIMON, O. Comparison of a xylanase and a complex of non-starch polysaccharide-degrading enzymes with regard to performance and bacterial metabolism in weaned piglets. **Archives of Animal Nutrition**, 61, n. 2, p. 90-102, 2007.

VALERIANO, V. D.; BALOLONG, M. P.; KANG, D. K. Probiotic roles of *Lactobacillus* spp. in swine: insights from gut microbiota. **Journal of Applied Microbiology**, 2016.

WANG, S. P.; FANG, J.; TANG, X. S.; JIE, W. *et al.* Non-Starch Polysaccharides (NSP) Enzyme Improves the Nutrient Digestibility of Weaned Piglet Fed a Cottonseed Meal-Based Diets. **Journal Of Animal and Veterinary Advances**, 11, n. 16, p. 2976-2979, 2012.

WANG, W.; ZHENG, D.; ZHANG, Z.; YE, H. *et al.* Efficacy of combination of endo-xylanase and xylan-debranching enzymes in improving application of cereal bran in piglet diet. **Animal Bioscience**, 2022.

XU, C. L.; CHEN, X. Y.; ZUO, J. J.; FENG, D. Y. Performance, nutrient utilization and serum biochemical characteristics of weanling pig with dietary supplementation of pancreatic enzymes. **Indian Journal of Animal Sciences**, 81, n. 5, p. 498-502, 2011.

XUAN, Z. N.; KIM, J. D.; LEE, J. H.; HAN, Y. K. *et al.* Effects of enzyme complex on growth performance and nutrient digestibility in pigs weaned at 14 days of age. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 14, n. 2, p. 231-236, 2001.

YI, J. Q.; PIAO, X. S.; LI, Z. C.; ZHANG, H. Y. *et al.* The Effects of Enzyme Complex on Performance, Intestinal Health and Nutrient Digestibility of Weaned Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 26, n. 8, p. 1181-1188, 2013.

YIN, Y. L.; BAIDOO, S. K.; JIN, L. Z.; LIU, Y. G. *et al.* The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hullless barley varieties in young pigs. **Livestock Production Science**, 71, n. 2-3, p. 109-120, 2001.

ZENG, Z., S. ZHANG; H. WANG; X. PIAO. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, p. 6-7, 2015.

ZHANG, G. G.; YANG, Z. B.; WANG, Y.; YANG, W. R. *et al.* Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance, nutrient digestibility, small intestinal digestive enzyme activities, and large intestinal selected microbiota in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, 92, n. 5, p. 2063-2069, 2014.

ZIJLSTRA, R. T.; LI, S.; OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P. H. *et al.* Effect of carbohydrase supplementation of wheat- and canola-meal-based diets on growth performance and nutrient digestibility in group-housed weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, 84, n. 4, p. 689-695, 2004.

3 CAPÍTULO II: USO DO EXTRATO DE *Yucca schidigera* PARA LEITÕES DESMAMADOS: UMA REVISÃO

3.1 RESUMO

Objetivou-se com esta revisão estudar os efeitos digestivos e antimicrobianos do extrato de *Yucca schidigera* relacionados às implicações produtivas e ambientais quando usados em dietas para leitões desmamados. Levando em consideração o desuso de antibióticos melhoradores de desempenho, as necessidades fisiológicas dos animais e a preocupação com o teor de poluentes presentes nos dejetos, é imprescindível fazer uso de estratégias nutricionais na suinocultura para uma produção eficiente e sustentável. A *Yucca schidigera* é um arbusto que cresce em climas caracterizados pela alta temperatura e baixa precipitação pluviométrica. Na produção animal, a espécie é explorada como aditivo alimentar, chamado de extrato de *Yucca schidigera* (EYS). Os principais efeitos biológicos nos animais estão associados à fração esteroideal das saponinas do EYS e aos compostos polifenólicos, relacionados a melhorias no desempenho produtivo, na digestibilidade de nutrientes, morfologia do trato gastrointestinal, expressão gênica de transportadores e genes relacionados a função de barreira intestinal, modulação de microrganismos intestinais, além da redução do impacto poluente nas excretas dos animais, principalmente de compostos nitrogenados. Diante das informações obtidas, mais pesquisas são necessárias para identificar a eficácia da suplementação do extrato de *Yucca schidigera* para melhorar a saúde e a produção de leitões desmamados, principalmente quanto ao nível dietético de inclusão.

Palavras-chave: Antimicrobiano; fitogênico; produção animal; suinocultura; sustentabilidade

3.2 ABSTRACT

The objective of this review was to study the digestive and antimicrobial effects of *Yucca schidigera* extract related to the productive and environmental implications of weaned piglets. Considering the disuse of performance-enhancing antibiotics, the physiological needs of animals and the concern about the level of pollutants present in manure, it is essential to use nutritional strategies in pig farming for efficient and sustainable production. *Yucca schidigera* is a shrub that grows in climates characterized by high temperatures and low rainfall. In animal production, the species is explored as a food additive, called *Yucca schidigera* extract (YSE). The main biological effects in animals are associated with the steroidal fraction of YSE saponins and polyphenolic compounds, related to improvements in productive performance, nutrient digestibility, gastrointestinal tract morphology, gene expression of transporters and genes related to intestinal barrier function, modulation of intestinal microorganisms, in addition to reducing the pollutant impact on animal excreta, mainly nitrogenous compounds. Given the information obtained, more research is needed to identify the effectiveness of *Yucca schidigera* extract supplementation to improve the health and production of weaned piglets, especially regarding the dietary level of inclusion.

Keywords: Animal production; antimicrobial; phytogetic; pig farming, sustainability

3.3 INTRODUÇÃO

No passado, os antibióticos melhoradores de desempenho eram adicionados às rações a fim de minimizar os impactos pós-desmame em leitões (Zhu *et al.*, 2022). No entanto, a preocupação com a resistência antimicrobiana levou a uma redução dessas práticas e estratégias alternativas vem sendo desenvolvidas, como a adição de produtos fitogênicos (Torres-Pitarch *et al.*, 2017; Adegbeye *et al.*, 2019).

Estudos apontam que as plantas e seus extratos desempenham um papel importante na promoção do crescimento animal, aumentando a imunidade e mantendo a saúde animal (Alagawany *et al.*, 2017; Dhama *et al.*, 2015). Isso é necessário para promover a eficiência do uso de nutrientes e reduzir a excreção de nutrientes que poluem o ar e contaminam os corpos d'água (Adegbeye *et al.* 2019).

Vale ressaltar que os problemas de poluição ambiental também acompanham o desenvolvimento da pecuária (Han, Han e Yang *et al.*, 2020). Sem ações efetivas, é provável que a crescente demanda por produtos de origem animal leve o ambiente global para perto ou além de um limiar sustentável (Campbell *et al.*, 2017). As excretas geram gases nocivos (especialmente amônia) que contaminam a atmosfera, prejudicando o sistema respiratório, os olhos e a pele de humanos e animais (Seedorf, 2013). Logo, há uma atenção global para esses perigos e as possibilidades de preveni-los (Guo *et al.*, 2017).

O extrato vegetal de *Yucca schidigera* (EYS) tem sido objeto de estudo como suplemento alimentar em dietas para leitões, devido suas propriedades anti-inflamatórias e capacidade de reduzir o impacto ambiental provocado pelas altas concentrações de nitrogênio nas excretas (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). A adaptação da *Yucca schidigera* para crescer em áreas desérticas caracterizadas por altas temperaturas e escassez de água a torna uma excelente opção para futuros aditivos fitogênicos (Adegbeye *et al.*, 2019).

Alguns aspectos de eficácia e aplicação do extrato de *Yucca schidigera* para leitões na fase inicial ainda não são conclusivos. Portanto, objetivou-se com esta revisão estudar os efeitos digestivos e antimicrobianos do extrato de *Yucca schidigera* relacionados às implicações produtivas e ambientais de leitões desmamados.

3.4 REVISÃO DE LITERATURA

3.4.1 Distribuição e características gerais da *Yucca schidigera*

A *Yucca schidigera* é um arbusto da subfamília Agavoideae, nativa dos desertos do sudoeste dos Estados Unidos e norte do México, com os nomes comuns mandioca do Mojave e adaga-espanhola (Kucukkurt *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2021; Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). É uma planta de crescimento lento, com folhas retas, flores brancas em forma de sino e frutos comestíveis, que cresce em um clima característico de alta temperatura e baixa precipitação pluviométrica (Gucker, 2006).

Desde a época dos nativos americanos esta planta suculenta é utilizada na medicina popular para aliviar artrite, tratar úlceras cutâneas, diarreias e hemorragias (Cheeke, Piacente e Oleszek, 2006; Patel, 2012). Os produtos da *Yucca schidigera* são aprovados para uso humano pelo *Food and Drug Administration* (FDA), os quais possuem usos para fins da indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e de bebidas (Ruiz Romero *et al.*, 2018).

Na produção animal, a espécie é explorada como aditivo alimentar, chamado de extrato de *Yucca schidigera* (EYS) (Price, Johnson e Fenwick, 1987; Deng; Yin e Liu *et al.*, 2003). Para sua obtenção, as plantas são colhidas e transportadas até a fábrica, onde os troncos são processados mecanicamente (Cheeke, Piacente e Oleszek, 2006).

O EYS é rico em compostos bioativos, como as saponinas (aproximadamente 10% da matéria seca da planta), compostos polifenólicos, como o resveratrol e estilbenos (*Yuccaols* A, B, C, D e E) (Chrenková *et al.*, 2012), que se usados na quantidade certa têm, além das atividades terapêuticas, a capacidade de modular o metano e a poluição por nitrogênio na pecuária (Olas *et al.*, 2005, Cheeke, Piacente e Oleszek, 2006; Abbott *et al.*, (2020); Adegbeye *et al.*, 2019).

A palavra saponina vem do latim “*sapo*” que em inglês é “*soap*” porque forma espumas como sabão com água e, devido à sua natureza anfifílica, tem propriedades surfactantes (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). É constituída por um núcleo solúvel em gordura que possui estrutura esteróide ou triterpenoide (Cheok, Salman e Sulaiman, 2014) e propriedades anfifílicas, hidrófilas e lipofílicas (Liu *et al.*, 2018).

Na Figura 1 estão apresentadas as estruturas químicas das saponinas da *Yucca schidigera*, em que são observados dois componentes: a aglicona hidrofóbica (sapogenina) ligada à segunda parte, o componente hidrofílico, composto por carboidratos como glicose, frutose, galactose e arabinose (Francis *et al.*, 2002).

O componente aglicona é usado para a classificação das saponinas em dois grupos: esteróides (saponinas esteróides) ou triterpenóides (saponinas triterpênicas) (Francis *et al.*,

2002; Piacente, Pizza e Oleszek, 2005; Tamura, Miyakoshi, Yamamoto, 2012). As saponinas esteróides podem conter esmilagenina e sarsasapogenina em sua composição (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022).

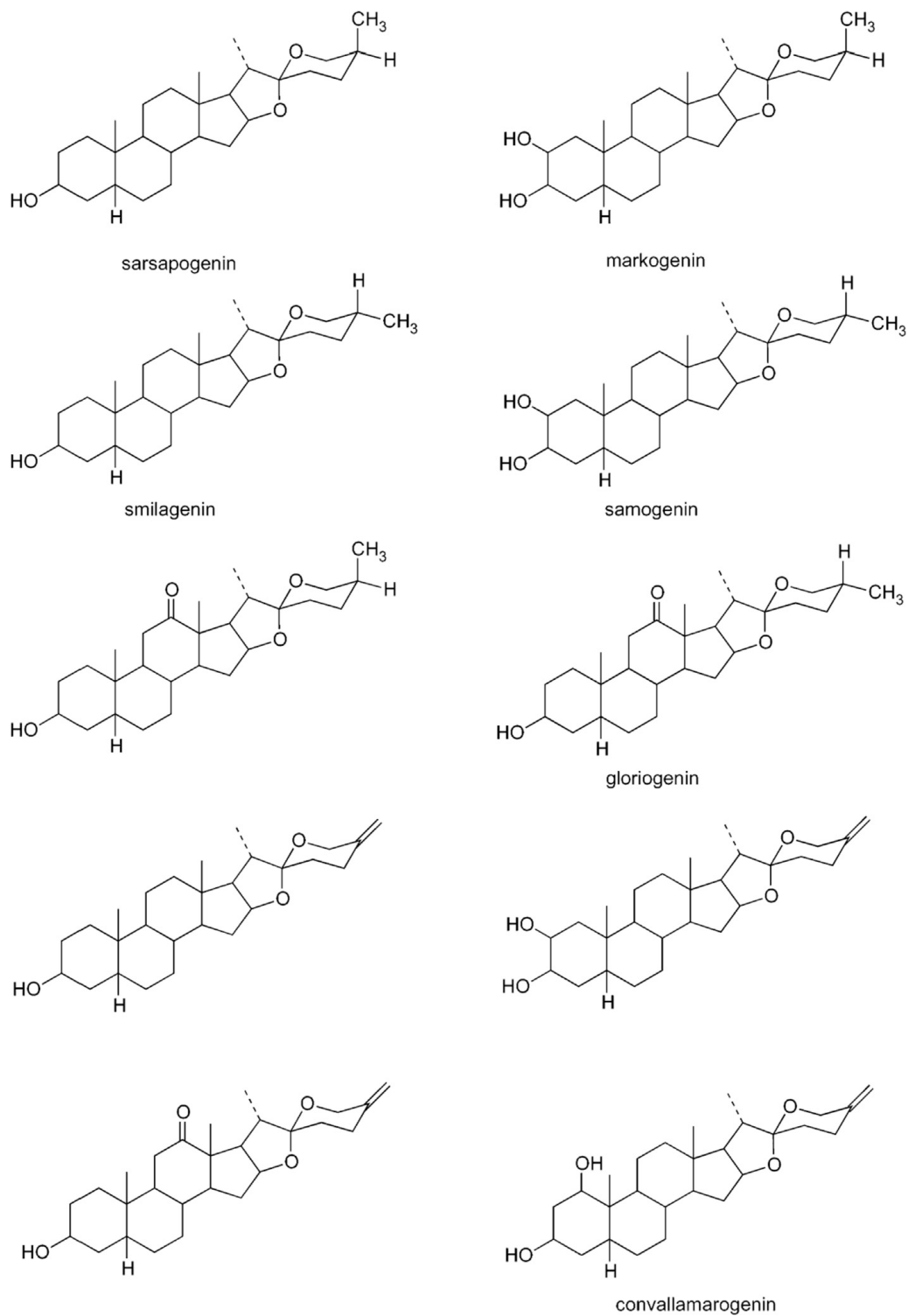


Figura 1 - Estruturas químicas das saponinas da *Yucca schidigera* (Piacente, Pizza e Oleszek, 2005).

Os principais efeitos biológicos nos animais estão associados à fração esteroideal das saponinas do EYS, que retêm o nitrogênio amoniacal e controla efetivamente compostos odoríferos e voláteis, como amônia, sulfeto de hidrogênio, dimetilamina, trimetilamina, ácido isobutírico e a atividade antimicrobiana (Cheeke, 1996; Windisch *et al.*, 2008; Biagi *et al.*, 2010; Matusiak *et al.*, 2016).

A fração glicocomponente do EYS também ajuda a reduzir a produção de amônia por ligação (Benchaa, McAllister e Chouinard, 2008; Khalifa *et al.*, 2014). As emissões de amônia podem ser mitigadas pela redução das atividades de urease, o que resultaria em liberação lenta de amônia (Muhammad *et al.*, 2002).

Dentre os compostos polifenólicos presentes no EYS, destaca-se o resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno), que possui uma gama muito ampla de propriedades biológicas, incluindo ação antioxidante e fortes propriedades antiplaquetárias benéficas que diminuem a trombose e doenças cardiovasculares (Olas *et al.*, 2005).

Diversos benefícios são associados ao EYS, como o aumento da eficiência da produção animal e ação efetiva em microrganismos nocivos (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). Ainda, o EYS contribui para a redução das emissões de amônia e metano por animais confinados e consequentemente redução do odor nas instalações (Santacruz-Reyes e Chien, 2010; Chepete *et al.*, 2012; Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022).

Registros de aumentos da digestibilidade, melhora na conversão alimentar e aumento do peso final indicam que o EYS pode ser utilizado como promotor de crescimento e um potencial substituto para os antimicrobianos melhoradores de desempenho (Adegbeye *et al.*, 2019). Logo, o EYS pode ser uma opção interessante de aditivo alimentar como objeto de estudo de pesquisadores que buscam avaliar seus efeitos na produção de leitões e reduzir a poluição da suinocultura.

3.4.2 Influência do extrato de *Yucca schidigera* no desempenho produtivo de leitões

A transição do leite materno para a ração sólida causa distúrbios na flora intestinal e, em seguida, promove diarreia, declínio no desempenho do crescimento e até mesmo a morte dos leitões e, consequentemente, induz a enormes perdas econômicas para a suinocultura (Yang *et al.*, 2021). O uso de aditivos fitogênicos em leitões desmamados pode proteger a estabilidade dos microrganismos gastrointestinais, prevenir ou retardar a diarreia e melhorar o desempenho do crescimento (Yang *et al.*, 2021).

A administração de EYS pode melhorar o desempenho de crescimento e algumas funções fisiológicas (como metabolismo de lipídios e proteínas, atividade anti-inflamatória,

desempenho reprodutivo) em não-ruminantes (Cheeke e Otero, 2005; Espinosa-Muñoz, *et al.*, 2008; Gurbuz *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2017). Isto evidencia várias aplicações atuais e potenciais das saponinas do EYS na nutrição animal (Cheeke, 2000; Hristov *et al.*, 1999; Makkar *et al.*, 1998; Santoso *et al.*, 2004). Contudo, os resultados obtidos têm sido inconsistentes para leitões na fase inicial, pois os efeitos das saponinas dependem do seu tipo e nível dietético (Shi *et al.*, 2014).

Melhorias no desempenho produtivo de leitões foram evidenciadas com inclusões de 120 a 125 g/ton de EYS, as quais foram relacionadas ao aumento da digestão e absorção de nutrientes através da melhoria das funções de barreira intestinal, redução da diarreia, aumento da imunidade e função antioxidante (Yen e Pond, 1993; Colina *et al.*, 2001; Gebhardt *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2021; Fan *et al.*, 2022). Tais efeitos positivos podem estar associados aos glicocomponentes e saponinas presentes em sua composição (Chen *et al.*, 2021).

Pesquisas observaram diminuição nos escores fecais diarreicos com a utilização de extrato de *Yucca schidigera* (Yang *et al.*, 2021; Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). Segundo Chen *et al.* (2021), o EYS pode melhorar a taxa de diarreia dos leitões aumentando a capacidade antioxidante, mas o estresse oxidativo durante o desmame pode ser tão extenso ao ponto de não diminuir a incidência de diarreia.

Há pesquisas que evidenciam leve piora no peso corporal (Gebhardt *et al.*, 2018), enquanto outras relatam melhoria na conversão alimentar (Fan *et al.*, 2022), trazendo resultados controversos acerca da inclusão de EYS para leitões. Dessa forma, estudos futuros são necessários para avaliar os efeitos da inclusão de EYS a longo prazo sobre o desempenho de leitões, principalmente em níveis acima de 125 g/ton (dos reis *et al.*, 2016).

O desempenho dos leitões está intimamente ligado ao aproveitamento dos nutrientes dietéticos e às características relacionadas ao desenvolvimento do trato gastrointestinal dos animais. Nesse sentido, pesquisas têm sido executadas a fim de avaliarem os efeitos do EYS sobre a saúde intestinal dos leitões.

3.4.3 Extrato de *Yucca schidigera* sobre a saúde intestinal de leitões

A saúde intestinal desempenha papel vital na digestão e absorção de nutrientes, que está intimamente relacionada à função da barreira intestinal (Fan *et al.*, 2022). A junção intercelular é derivada de todos os tipos de proteínas transmembranas e não-membranas, como a proteína de junção estreita-1 (ZO-1) e ocludina, relacionadas à integridade intestinal (Yen e Pond, 1993, Andrews *et al.*, 2016; Collins *et al.*, 2006). Além disso, a camada de muco consiste

principalmente em mucinas (MUC-1 e MUC-2) produzidas por células caliciformes (Cornick *et al.*, 2015).

Foi verificado que o EYS dietético aumentou a concentração de ocludina no jejuno e íleo de leitões desmamados (Yen e Pond, 1993). Em estudo posterior, a administração de 125 g/ton de EYS aumentou as expressões de mRNA de ZO-1, ocludina e MUC-2 na mucosa jejunal de leitões desmamados, promovendo melhora na função da barreira intestinal (Fan *et al.*, 2022).

Com base nos estudos anteriores sobre a relação entre os componentes ativos e a função da barreira intestinal, esses efeitos estão associados aos componentes ativos do EYS (saponinas e compostos polifenólicos). Nesse sentido, as saponinas têm sido indicadas como potencializadores da imunidade passiva devido aos seus efeitos de permeabilidade na mucosa intestinal (Smith e Dilger, 2018).

A barreira intestinal é composta principalmente por células epiteliais e uma camada mucosa que cobre o epitélio (France e Turner, 2017). Fan *et al.* (2022) relataram maior expressão relativa de mRNA de MUC-2 no jejuno de leitões desmamados alimentados com dietas com suplementação de 125 g/ton de EYS. Assim, sugeriram que há relação entre os componentes ativos do EYS (saponinas, fenólicos e polissacarídeos) e a função da barreira intestinal.

Fan *et al.* (2022) também relataram maior expressão de mRNA relativo de SGLT-1 na mucosa jejunal de leitões desmamados e, apesar de não ter relatado diferença para a expressão de mRNA de PEPT-1, os autores encontraram aumentos para as expressões relativas de mRNA de transportadores de aminoácidos (CAT-1, ASCT-1 e rBAT) e ácidos graxos (FATP-4), transportadores benéficos para o transporte transmembranar de nutrientes e que desempenham papéis importantes em uma ampla gama de atividades celulares, como liberação de metabólitos e transdução de sinal.

A presença de transportadores varia ao longo da altura das vilosidades intestinais, sendo que a expressão de transportadores é maior nos enterócitos do topo das vilosidades. Assim, o pareamento do aumento da altura das vilosidades intestinais e a elevação do transportador resultam no aumento da digestão e absorção de nutrientes, o que diminuirá as concentrações de matéria orgânica (especialmente compostos nitrogenados) nas fezes (Fan *et al.*, 2022).

No intestino, toxinas podem causar inflamação e diminuir a função de barreira intestinal (Song *et al.*, 2022). Por outro lado, as saponinas, como principal substância ativa no EYS, podem reduzir a resposta inflamatória (Cheeke, Piacente e Oleszek, 2006). A fração de saponina de protopanaxadiol (PPD-SF) junto ao resveratrol presente no EYS, reduzem substancialmente

a liberação de algumas citocinas inflamatórias, dentre elas o TNF- α (Wenzig *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2015).

Foi constatado que a suplementação dietética com EYS prejudicou as expressões de mRNA da proteína X associada a bcl-2 (BAX) e Caspase-3 na mucosa jejunal de leitões desmamados (Fan *et al.*, 2022). BAX e caspase-3 são proteínas pró-apoptóticas, que podem promover a apoptose celular iniciada na mitocôndria, promovendo benefícios para a função da barreira intestinal e reduzindo a morte de células epiteliais na digesta (Antonsson, 2001; Sharifi, Hoda e Noor, 2010).

Estas podem ser as razões pelas quais o EYS alivia a inflamação em leitões na fase inicial provocada pelo estresse do período pós-desmame. Todavia, existem poucos estudos relatando o efeito de extratos vegetais na função imune em leitões desmamados, e esse efeito pode estar relacionado ao estágio fisiológico do animal, composição da dieta e dosagem dos extratos, o que pode modificar o desenvolvimento do trato gastrointestinal.

3.4.4 Impacto do extrato de *Yucca schidigera* no trato gastrointestinal de leitões

Avaliando a suplementação com 125 g/ton de EYS para leitões desmamados, Fan *et al.* (2022) observaram aumentos na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral e energia bruta e melhor aproveitamento do N amoniacal, o que foi consistente com os estudos anteriores com não-ruminantes (Amber *et al.*, 2004; Patoary *et al.*, 2020).

Efeitos da suplementação de EYS na maior digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e disponibilidade de minerais foram verificados por Min *et al.* (2001) em dietas para suínos em crescimento. O efeito benéfico do EYS na utilização de nutrientes pode ser atribuído as propriedades das saponinas, principais componentes ativos presentes, que promove a emulsificação da gordura devido à sua atividade de superfície e capacidade de retardar a passagem do quimo no intestino (Johnson *et al.*, 1986).

A nível digestivo, a atividade tensoativa do EYS, em particular pelo seu conteúdo de saponinas, reduz a tensão da membrana celular das microvilosidades, favorecendo a absorção de nutrientes (Kaya, Erdogan e Erdogan, 2003). O nível de inclusão influencia a eficácia das saponinas, que podem ser benéficas para os animais em baixo nível, mas prejudiciais em alto nível, agindo como um fator antinutricional (Shi *et al.*, 2014).

Há relatos de aumentos nas atividades de algumas enzimas digestivas e absorptivas (incluindo tripsina, lipase, amilase, fosfatase alcalina e ATPase) na mucosa jejunal de leitões desmamados que receberam EYS (Fan *et al.*, 2022) e diminuição da atividade da urease no intestino, suprimindo a degradação de compostos nitrogenados que produziriam amônia (Duffy

et al., 2001). É bem conhecido que tripsina, lipase e amilase digerem proteínas, gorduras e amido, respectivamente, e fosfatase alcalina e ATPase podem acelerar a eficiência de absorção de nutrientes (Li, Wang e Feng, 2019).

O estresse do desmame está associado à destruição da morfologia intestinal e comprometimento da barreira intestinal (Spreeuwenberg *et al.*, 2001; Carey, Hayden e Tucker, 1994). Assim, a altura e largura de vilosidades, profundidade da cripta, relação AV/PC, espessura de mucosa e área absorptiva são índices importantes para avaliar a função de absorção do intestino delgado (Skrzypek *et al.*, 2007, Yang *et al.*, 2021).

A suplementação com 125 g/ton de EYS promoveu o desenvolvimento da mucosa jejunal e ileal e aumentaram sinergicamente a altura das vilosidades e profundidade das criptas (Yen e Pond, 1993; Valverde Piedra *et al.*, 2009; Fan *et al.*, 2022). Yang *et al.* (2021) descobriram que 120 g/ton de EYS em dietas para leitões melhora a estrutura das vilosidades intestinais dos leitões, aumenta a largura e comprimento das vilosidades e relação vilosidade/cripta do jejuno e íleo.

As saponinas reduzem a concentração de amônia e fornecem um bom ambiente para a digestão e absorção de nutrientes até o nível de 200 g/ton, acima dessa quantidade, efeitos colaterais são relatados (Yen e Pond, 1993). Ainda não é clara a forma de contribuição do EYS na digestibilidade de nutrientes, já que se propõe que ele não seja absorvido pelo trato digestivo e, portanto, não tenha efeito a nível metabólico (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2008).

Além das características morfológicas do trato gastrointestinal, estudos buscam respostas sobre a influência do EYS na microbiota intestinal e seus metabólitos relativos (AGVs), uma vez que são uma parte necessária do processo de desenvolvimento intestinal e saúde de leitões (Mao *et al.*, 2017; Sommer & Bäckhed, 2013).

3.4.5 Efeitos do extrato de *Yucca schidigera* na microbiota intestinal de leitões

O EYS tem diferentes efeitos no crescimento microbiano (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). A redução da abundância relativa de acidobactérias, relacionadas com a desnitrificação e metabolismo de nitrogênio, foi justificada pela redução da amônia no intestino promovida pelo EYS, uma vez que esses microrganismos são afetados por fontes de nitrogênio, o que fornece evidências de que o EYS substitua os antimicrobianos melhoradores de desempenho na produção de leitões desmamados (Yen *et al.*, 1993; Fan *et al.*, 2022).

Além disso, a microbiota intestinal inclui muitas bactérias metabolizadas por nitrogênio, que podem regular o metabolismo de proteínas na digesta e, assim, afetar a geração de amônia.

Possivelmente a diminuição da amônia fecal está diretamente relacionada à mudança da microbiota intestinal (Duffy e Brooks, 1998; Duffy *et al.*, 2001).

A administração de 125 g/ton de EYS aumentou as populações de microrganismos benéficos (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacillus*), diminuiu as populações de microrganismos prejudiciais (*Escherichia coli*) e aumentou as concentrações de AGV na digesta cecal e/ou colônica de leitões desmamados (Fan *et al.*, 2022). Outros estudos também relataram que o EYS tem a capacidade de afetar a microbiota intestinal (He *et al.*, 2017; Katsunuma *et al.*, 2000).

Em estudos *in vitro* com 20 cepas de bactérias isoladas do trato intestinal de animais, Katsunuma *et al.* (2000) observaram que o EYS não inibiu o crescimento de sete cepas de bactérias (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium longum* e *Streptococcus bovis*).

Contudo, as outras 13 cepas (*Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium varium*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium sporogenes*, *Veillonella parvula*, *Propionibacterium acnes*, *Eubacterium aerofaciens*, *Selenomonas ruminantium*, *Peptococcus asaccharolyticus*, *Ruminococcus productus* e *Megasphaera elsdenii*) foram inibidas.

Os efeitos antimicrobianos foram associados aos compostos sarsasapogenina e esmilagenina presentes nas saponinas do EYS. Ao contar microrganismos totais viáveis em fezes de suínos, Katsunuma *et al.* (2000) também observaram maior abundância de bifidobactérias, eubactérias e estafilococos, enquanto o número de *Veillonella* foi menor nas fezes de suínos suplementados com EYS.

Conforme mencionado, o EYS pode reduzir ou inibir o crescimento de microrganismos entéricos com potencial patogênico. Nesse sentido, Yang *et al.* (2021) suplementaram dietas de leitões desmamados com EYS e observaram redução da taxa de diarreia e aumento da diversidade e abundância da microflora cecal. Mais pesquisas são necessárias sobre efeito do EYS em microrganismos, bem como os efeitos relacionados ao impacto desse fitogênico na redução da poluição ambiental causada pelas excretas dos animais.

3.4.6 Extrato de *Yucca schidigera* sobre a redução de poluentes nas excretas

A redução das concentrações de amônia em galpões de suínos tem implicações importantes tanto para a saúde humana quanto dos animais, prática essencial para uma produção pecuária sustentável (Colina *et al.*, 2001). Plantas como *Salix babylonica* (Elghandour *et al.*,

2017), *Azadirachta indica* e *Carica papaya* (Akanmu e Hassen, 2017) têm sido utilizadas em estudos de mitigação com resultados positivos.

Entretanto, com as mudanças climáticas e os efeitos do aquecimento global, como aumento da temperatura ambiente, seca prolongada, padrão irregular de chuvas, é provável que haja alteração nos componentes bioativos das plantas e possíveis mudanças nas respostas dos animais, fazendo-se necessário o uso de alternativas potenciais, como a *Yucca schidigera* que tem adaptação de crescimento em áreas desérticas (Adegbeye *et al.*, 2019).

O EYS tem sido usado como aditivo alimentar na alimentação animal porque seus fitoquímicos podem influenciar a emissão de metano, amônia, óxido nitroso e melhorar a digestibilidade dos nutrientes (Adegbeye *et al.*, 2019). Estudos demonstraram que a emissão de amônia foi reduzida pela suplementação dietética de EYS em matrizes gestantes e suínos em creche, crescimento e terminação (Colina *et al.*, 2001; Hong *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2007).

Em pesquisa com ambiente totalmente controlado, Colina *et al.* (2001) verificaram que as concentrações de amônia aérea em instalações de leitões podem ser reduzidas utilizando o 125 g/ton de EYS. Os efeitos do EYS sobre o metabolismo de nitrogênio no intestino grosso contribuem para níveis mais baixos de amônia fecal (Ishizaki, 1993; Fan *et al.*, 2022).

Alguns pesquisadores evidenciaram que o EYS diminui a emissão de amônia de 12 a 30% (Duffy e Brooks, 1998; Katsunuma *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 1998). Valores maiores foram encontrados por Sutton *et al.* (1998), que reportaram uma diminuição de 55% da amônia em excretas de suínos.

Outros estudos indicam que o efeito benéfico do EYS na redução da emissão de amônia deve ser atribuído ao fato de que suas frações de saponina inibem a atividade da urease na decomposição do nitrogênio da ureia em amônia (Preston *et al.*, 1987; Anthony *et al.*, 1994). A suplementação de 0,06, 0,12 e 0,24% de EYS pode reduzir a perda de nitrogênio no esterco de matrizes, ao mesmo tempo em que diminui a emissão de amônia ao ligar o nitrogênio amoniacal e inibir sua degradação (Chen *et al.*, 2021).

É fundamental avaliar o efeito de produtos fitogênicos na suinocultura, uma vez que o tratamento das excretas tem ganhado atenção no que diz respeito à sustentabilidade e preservação ambiental. Dessa maneira, mais pesquisas são necessárias, tendo em vista a eficácia do EYS na redução de poluentes presentes nas excretas de leitões.

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de *Yucca schidigera* é um aditivo natural interessante para leitões devido aos seus efeitos benéficos relacionados a sua composição, principalmente as frações de saponinas

e compostos polifenólicos. As principais mudanças nos leitões são melhorias no desempenho produtivo, trato gastrointestinal, saúde intestinal, microbiota e redução do impacto ambiental causado pelas excreções.

O EYS tem potencial não só de substituir antimicrobianos melhoradores de desempenho como também proporcionar um ambiente menos poluído para as pessoas que trabalham diretamente com os animais. Contudo, mais informações são necessárias para identificar a eficácia da suplementação do EYS para melhorar a saúde e a produção de leitões desmamados, principalmente quanto ao nível dietético de inclusão, seu uso associado a outros aditivos e ensaios com desafios sanitários.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, D. W. *et al.* Seaweed and Seaweed Bioactives for Mitigation of Enteric Methane: Challenges and Opportunities. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2432, 1 dez. 2020.
- ADEGBEYE, M. J.; ELGHANDOUR, M. M. M. Y.; MONROY, J. C.; ABEGUNDE, T. O. *et al.* Potential influence of *Yucca* extract as feed additive on greenhouse gases emission for a cleaner livestock and aquaculture farming - A review. **Journal of cleaner production**, 239, p. 118074, 2019.
- AKANMU, A. M.; HASSEN, A. The use of certain medicinal plant extracts reduced in vitro methane production while improving in vitro organic matter digestibility. **Animal Production Science**, v. 58, n. 5, p. 900, 2018.
- ALAGAWANY, M. *et al.* Mechanisms and Beneficial Applications of Resveratrol as Feed Additive in Animal and Poultry Nutrition: A Review. **International Journal of Pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 213–221, 15 mar. 2015.
- AMBER, K.; YAKOUT, H. M.; HAMED RAWYA, S. Effects of feeding diets containing *Yucca* extract or probiotic on growth, digestibility, nitrogen balance and caecal microbial activity of growing New Zealand white rabbits. Puebla, Mexico: **The 8th World Rabbit Congress**, September, p.7-10, 2004.
- ANDREWS, A. M. *et al.* Mechanical Injury Induces Brain Endothelial-Derived Microvesicle Release: Implications for Cerebral Vascular Injury during Traumatic Brain Injury. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 10, 29 fev. 2016.
- ANTHONY, N. B. *et al.* Effect of a Urease Inhibitor and Ceiling Fans on Ascites in Broilers.: 1. Environmental Variability and Incidence of Ascites. **Poultry Science**, v. 73, n. 6, p. 801–809, 1 jun. 1994.
- ANTONSSON, B. Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family “killer-proteins” and their victim the mitochondrion. **Cell and Tissue Research**, v. 306, n. 3, p. 347–361, 30 out. 2001.
- BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, Ruminal Fermentation, Ciliate Protozoal Populations, and Milk Production from Dairy Cows Fed Cinnamaldehyde, Quebracho Condensed Tannin, or *Yucca schidigera* Saponin Extracts. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 12, p. 4765–4777, dez. 2008.
- BIAGI, G. *et al.* Effect of tannins on growth performance and intestinal ecosystem in weaned piglets. **Archives of Animal Nutrition**, v. 64, n. 2, p. 121–135, abr. 2010.
- CAMPBELL, B. M. *et al.* Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. **Ecology and Society**, v. 22, n. 4, 2017.
- CAREY, H. V.; HAYDEN, U. L.; TUCKER, K. Fasting alters basal and stimulated ion transport in piglet jejunum. **American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 267, n. 1, p. R156–R163, 1 jul. 1994.
- CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of and saponins in human and animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. E-Suppl, p. 1, 2000.

CHEEKE, P. R.; OTERO, R. G. *Yucca*, *Quillaja* may have role in animal nutrition. **Feedstuffs**, v. 77, n. 3, p. 11–14, 17 fev. 2005.

CHEEKE, P.R. Biological Effects of Feed and Forage Saponins and Their Impacts on Animal Production. In **Saponins Used in Food and Agriculture**, 1st ed.; Waller, G.R., Yamasaki, K., Eds.; Springer: Boston, MA, USA, p. 377–385, 1996.

CHEEKE, P.R.; PIACENTE, S.; OLESZEK, W. Anti-inflammatory and anti-arthritis effects of *Yucca schidigera*: A review. **Journal of Inflammation**, 2006.

CHEN, F. *et al.* Dietary *Yucca schidigera* Extract Supplementation During Late Gestating and Lactating Sows Improves Animal Performance, Nutrient Digestibility, and Manure Ammonia Emission. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 21 jul. 2021.

CHEOK, C. Y.; SALMAN, H. A. K.; SULAIMAN, R. Extraction and quantification of saponins: A review. **Food Research International**, v. 59, p. 16–40, 1 maio 2014.

CHEPETE, H. J. *et al.* Ammonia emission and performance of laying hens as affected by different dosages of *Yucca schidigera* in the diet. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 3, p. 522–530, 1 set. 2012.

CHRENKOVÁ, M. *et al.* The effect of *Yucca schidigera* extract in diet of rabbits on nutrient digestibility and qualitative parameters in caecum. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 45, p. 83–88, 2012.

COLINA, J. J. *et al.* Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. **Journal of animal science**, v. 79, n. 12, p. 3096–3096, 1 jan. 2001.

COLLINS, N. *et al.* Cyclic Strain–Mediated Regulation of Vascular Endothelial Occludin and ZO-1. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 1, p. 62–68, 1 jan. 2006.

CORNICK, S.; TAWIAH, A.; CHADEE, K. Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. **Tissue Barriers**, v. 3, n. 1–2, 15 jan. 2015.

DENG, X.; YIN, J.; LIU, F. Nutrition physiology function and application of *Yucca schigera* extract. **Feed Industry**, v. 24, n. 7, p. 16–20, 2003.

DHAMA, K. *et al.* Multiple Beneficial Applications and Modes of Action of Herbs in Poultry Health and Production-A Review. **International Journal of Pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 152–176, 15 mar. 2015.

DOS REIS, J.S.; ZANGERÔNIMO, M.G.; OGOSHI, R.C.; FRANÇA, J. *et al.* Inclusion of *Yucca schidigera* extract in diets with different protein levels for dogs. **Animal Science Journal**, n. 8, p. 19–27, 2016.

DUFFY, C. *et al.* Effects of Dietary Supplementation with *Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies and Its Saponin and Non-saponin Fractions on Rat Metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 7, p. 3408–3413, 7 jun. 2001.

DUFFY, C.; BROOKS, P. Using *Yucca schidigera* in pig diets: effects on nitrogen metabolism. In: **Proceedings Alltech's 14th Annual Symposium on Biotechnology in the feed industry**. T.P. Lyons and K.A. Jacques (Eds). Nottingham University Press, Loughborough, Leics, Uk. 61-71 pp. 1998.

ELGHANDOUR, M. M. Y. *et al.* In Vitro Cecal Gas and Methane Production of Soybean Hulls—Containing Diets in the Presence of *Salix babylonica* Extract as a Fermentation Modulator in Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 53, p. 45–54, jun. 2017.

ESPINOSA-MUÑOZ, V. *et al.* Efecto del extracto de *Yucca schidigera* en el perfil bioquímico y hemático de cerdos en crecimiento y engorde. **Revista Científica (Maracaibo)**, v. 18, n. 1, p. 51-58, 2008.

FAN, X. *et al.* *Yucca schidigera* extract decreases nitrogen emission via improving nutrient utilisation and gut barrier function in weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 106, n. 5, p. 1036–1045, 19 out. 2021.

FRANCE, M. M.; TURNER, J. R. The mucosal barrier at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 130, n. 2, p. 307–314, 15 jan. 2017.

FRANCIS, G. *et al.* The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 6, p. 587–605, dez. 2002.

GEBHARDT, J. T.; WOODWORTH, J. C.; TOKACH, M. D.; DRITZ, S. S. *et al.* Effect of Dietary Chromium Propionate and *Yucca schidigera* on Finishing Pig Growth Performance. **Journal of animal science**, 96, p. 122-122, 2018.

GUCKER, C. L. *Yucca schidigera*. In **Fire Effects Information System**; U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory (Producer): Missoula, MT, USA, 2006.

GUO, J. *et al.* Design and experiment of farm ammonia bio-oxidation device based on plc. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**, v. 48, n. 3, p. 310–316, 2017.

GURBUZ, E. *et al.* Effects of adding yeast cell walls and *Yucca schidigera* extract to diets of layer chicks. **British Poultry Science**, v. 52, n. 5, p. 625–631, out. 2011.

HAN, Z.; HAN, C.; YANG, C. Spatial econometric analysis of environmental total factor productivity of ranimal husbandry and its influencing factors in China during 2001–2017. **Science of The Total Environment**, v. 723, p. 137726, jun. 2020.

HE, B. *et al.* Effects of *Yucca schidigera* extract on growth performance, serum antioxidant and immune indexes, fecal nitrogen and phosphorus emission and microorganism number of weaned piglets. **Chinese Journal Animal Nutrition**, v. 29, n. 8, p. 2791– 2799, 2017.

HONG, J. W. *et al.* Effects of *Yucca* Extract and (or) Far Infrared Emitted Materials Supplementation on the Growth Performance, Serum Characteristics and Ammonia Production of Growing and Finishing Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 14, n. 9, p. 1299–1303, 1 set. 2001.

HRISTOV, A. N. *et al.* Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 9, p. 2554–2554, 1 set. 1999.

ISHIZAKI, K. Nutritional manipulation of fecal output and composition: Effects of *Yucca schidigera* extract, phytase and cellulase. In: Proc. Alltech's 9th Ann. Symp. **Biotechnology in the Feed Industry**. Alltech, Nicholasville, KY, 1993.

JOHNSON, I. T. *et al.* Influence of Saponins on Gut Permeability and Active Nutrient Transport in Vitro. **The Journal of Nutrition**, v. 116, n. 11, p. 2270–2277, 1 nov. 1986.

KATSUNUMA, Y. *et al.* Effect of *Yucca schidigera* Extract and Saponins on Growth of Bacteria Isolated from Animal Intestinal Tract. **Nihon Chikusan Gakkaiho**, v. 71, n. 2, p. 164–170, 2000.

KAYA, S.; ERDOGAN, Z.; ERDOGAN, S. Effect of different dietary levels of *Yucca schidigera* powder on the performance, blood parameters and yolk cholesterol of laying quails. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 50, p. 14-17, 2003.

KHALIFA, E.I. Effects of using *Yucca schidigera* powder as feed additive on productive and reproductive efficiency of Zaraibi dairy goats. **Egyptian Journal of Sheep and Goats Sciences**, v. 9, p. 9-21, 2014.

KUCUKKURT, I. *et al.* Determination of the regulatory properties of *Yucca schidigera* extracts on the biochemical parameters and plasma hormone levels associated with obesity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 246–250, mar. 2016.

LI, S.; WANG, H.; FENG, J. 95 Betaine improves growth performance by increasing digestive enzymes activities and ameliorating intestinal structure of piglets. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Supplement_3, p. 80–80, dez. 2019.

LIU, C. *et al.* Effects of dietary supplementation with alfalfa (*Medicago sativa* L.) saponins on lamb growth performance, nutrient digestibility, and plasma parameters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 236, p. 98–106, fev. 2018.

MAKKAR, H. P. S. *et al.* Effects of Fractions Containing Saponins from *Yucca schidigera*, Quillaja saponaria, and Acacia auriculoformis on Rumen Fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4324–4328, 26 set. 1998.

MAO, X. *et al.* Dietary apple pectic oligosaccharide improves gut barrier function of rotavirus-challenged weaned pigs by increasing antioxidant capacity of enterocytes. **Oncotarget**, v. 8, n. 54, p. 92420–92430, 28 set. 2017.

MATUSIAK, K. *et al.* The use of *Yucca schidigera* and microbial preparation for poultry manure deodorization and hygienization. **Journal of Environmental Management**, v. 170, p. 50–59, 1 abr. 2016.

MIN, T. *et al.* Effects of *Yucca* Extracts and Protein Levels on Growth Performance and Nutrient Utilization in Growing Pigs. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 14, n. 1, p. 61–69, 1 jan. 2001.

- MUHAMMAD, S. N. *et al.* Effect of *Yucca* Saponin on Urease Activity and Development of Ascites in Broiler Chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 1, n. 6, p. 174–178, 15 out. 2002.
- OLAS, B. *et al.* Inhibition of blood platelet adhesion and secretion by different phenolics from *Yucca schidigera* Roezl. bark. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 199–206, fev. 2005.
- PATEL, S. *Yucca*: A medicinally significant genus with manifold therapeutic attributes. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 2, n. 6, p. 231–234, dez. 2012.
- PATOARY, M. U. *et al.* Effect of Supplementation of *Yucca schidigera* Extract on Ammonia Gas Emission and Performance of Broiler Chickens. **Journal of World's Poultry Research**, v. 10, n. 1, p. 57–62, 25 mar. 2020.
- PIACENTE, S., PIZZA, C., OLESZEK, W. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roezl: chemistry and bioactivity. **Phytochemistry Review**, v. 4, p. 177-190, 2005.
- PRESTON, R. L. *et al.* Influence of Sarsaponin on Growth, Feed and Nitrogen Utilization in Growing Male Rats Fed Diets with Added Urea or Protein. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 2, p. 481–487, 1 ago. 1987.
- PRICE, K. R.; JOHNSON, I. T.; FENWICK, G. R. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 27–135, 1987.
- RUIZ-ROMERO, P. *et al.* Antifungal Effects of Silver Phytonanoparticles from *Yucca schidigera* Against Strawberry Soil-Borne Pathogens: *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. **Mycobiology**, v. 46, n. 1, p. 47–51, 2 jan. 2018.
- SANTACRUZ-REYES, R. A.; CHIEN, Y.-H. *Yucca schidigera* extract – A bioresource for the reduction of ammonia from mariculture. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5652–5657, jul. 2010.
- SANTOSO, B. *et al.* Effects of supplementing galacto-oligosaccharides, *Yucca schidigera* or nisin on rumen methanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. **Livestock Production Science**, v. 91, n. 3, p. 209–217, dez. 2004.
- SEEDORF, J. Impact of atmospheric ammonia on livestock animals- a minireview. **Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v. 126, 96– 103, 2013.
- SHARIFI, A. M; HODA, F.E.; NOOR, A.M. Studying the effect of LPS on cytotoxicity and apoptosis in PC12 neuronal cells: Role of Bax, Bcl-2, and Caspase-3 protein expression. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 20, n. 6, p. 316–320, 3 jun. 2010.
- SHI, Y. *et al.* Effects of alfalfa saponin extract on growth performance and some antioxidant indices of weaned piglets. **Livestock Science**, v. 167, p. 257–262, 1 set. 2014.
- SKRZYPEK, T. *et al.* Intestinal villi structure during the development of pig and wild boar crossbreed neonates. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p. 38–41, maio 2007.

SMITH, B. M.; DILGER, R. N. Immunomodulatory potential of dietary soybean-derived isoflavones and saponins in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 4, p. 1288–1304, 14 abr. 2018.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota — masters of host development and physiology. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 4, p. 227–238, 25 fev. 2013.

SONG, M. *et al.* Effects of dietary protease supplementation on growth rate, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 64, n. 3, p. 462–470, 1 maio 2022.

SPREEUWENBERG, M. A. M. *et al.* Small Intestine Epithelial Barrier Function Is Compromised in Pigs with Low Feed Intake at Weaning. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 5, p. 1520–1527, 1 maio 2001.

SUN, D. *et al.* Dietary *Yucca schidigera* extract improved growth performance and liver antioxidative function in broilers. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 4, p. 677–684, 20 mar. 2017.

TAMURA, Y.; MIYAKOSHI, M.; YAMAMOTO, M. Application of Saponin-Containing Plants in Foods and Cosmetics. In **Alternative Medicine**; Sakagami, H., Ed.; IntechOpen: London, UK, p. 85–101, 2012.

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

VALVERDE PIEDRA, J.L. *et al.* Combined effect of butyrate and *Yucca schidigera* extract on the gastrointestinal tract of pigs around weaning. **Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme**, v. 51, n. 1, p. 11–18, 6 maio 2009.

WANG, L.; ZHANG, H.; ZHU, H. Study on probiotic and *Yucca* distill matter reduce thickness of piggery. **Feed Industry**, v. 28, n. 23, p. 29–31, 2007.

WENZIG, E. M. *et al.* Influence of Phenolic Constituents from *Yucca schidigera* Bark on Arachidonate Metabolism in Vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 8885–8890, 8 out. 2008.

WILSON, R. C.; OVERTON, T. R.; CLARK, J. H. Effects of *Yucca schidigera* Extract and Soluble Protein on Performance of Cows and Concentrations of Urea Nitrogen in Plasma and Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 4, p. 1022–1027, abr. 1998.

WINDISCH, W. *et al.* Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry1. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E140–E148, 1 abr. 2008.

YANG, Y. *et al.* Molecular mechanism of protopanaxadiol saponin fraction-mediated anti-inflammatory actions. **Journal of Ginseng Research**, v. 39, n. 1, p. 61–68, jan. 2015.

YANG, Z. *et al.* Effects of Dietary *Yucca schidigera* Extract and Oral *Candida utilis* on Growth Performance and Intestinal Health of Weaned Piglets. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 26 maio 2021.

YEN, J. T.; POND, W. G. Effects of carbadox, copper, or *Yucca schidigera* extract on growth performance and visceral weight of young pigs¹. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 8, p. 2140–2146, 1 ago. 1993.

ZHU, D. *et al.* Extruded Enzyme-Added Corn Improves the Growth Performance, Intestinal Function, and Microbiome of Weaning Piglets. **Animals**, v. 12, n. 8, p. 1002–1002, 2022.

ZÚÑIGA-SERRANO, A. *et al.* Antimicrobial and Digestive Effects of *Yucca schidigera* Extracts Related to Production and Environment Implications of Ruminant and Non-Ruminant Animals: A Review. **Agriculture**, v. 12, n. 8, p. 1198, 1 ago. 2022.

4 CAPÍTULO III: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS TOTALMENTE VEGETAIS PARA LEITÕES NA FASE INICIAL: DIGESTIBILIDADE E EXCREÇÃO DE NUTRIENTES

4.1 RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização de complexos enzimáticos sobre a digestibilidade de nutrientes, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de minerais em dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial e a excreção de nitrogênio e minerais. Foi realizado um ensaio de metabolismo utilizando-se 24 leitões machos castrados de 35 ± 1 dias de idade, distribuídos em blocos casualizados em três tratamentos: DC: Dieta controle; DCE1: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCE2: DC com 400 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Vegpro®: 7500 HUT/g de protease e 45 CMCE/g de celulase). A DCE2 aumentou a disponibilidade da MM ($P < 0,001$), digestibilidade da FDN ($P = 0,010$) e FDA ($P = 0,028$) em comparação as demais dietas experimentais. A suplementação com enzimas exógenas aumentou a disponibilidade de fósforo ($P = 0,006$), magnésio ($P < 0,001$), cobre ($P = 0,002$), zinco ($P < 0,035$) e ferro ($P = 0,027$). Houve diminuição nas excreções de fósforo ($P < 0,001$), magnésio ($P < 0,001$), cobre ($P < 0,001$), zinco ($P < 0,001$) e uma tendência para menor excreção de ferro ($P = 0,058$) com a utilização dos complexos enzimáticos. Complexos enzimáticos com protease (140,0 a 2800,0 HUT/Kg de dieta), fitase (60,0 SPU/Kg de dieta) e celulase (8,0 a 18,0 CMCU/Kg de dieta) melhoram a disponibilidade e diminuem a excreção fecal de minerais em dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial. Níveis maiores de protease (2800,0 HUT/Kg de dieta) e celulase (18,0 CMCU/Kg de dieta) são necessários para melhorar a digestibilidade de FDN e FDA.

Palavras-chave: ácido fítico; complexo enzimático; polissacarídeos não-amiláceos; imaturidade digestiva

4.2 ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the use of enzyme complexes on nutrient digestibility, energy metabolizability and availability of minerals in all-vegetable diets for piglets in the initial phase and the excretion of nitrogen and minerals. A metabolism test was carried out using 24 castrated male piglets aged 35 days, distributed in randomized blocks in three treatments: CD: Control diet; CDE1: CD with 200 g ton⁻¹ of enzyme complex (Alltech® Allzyme SSF e+C: 700 HUT g⁻¹ protease, 300 SPU g⁻¹ phytase and 40 CMCU g⁻¹ cellulase); CDE2: DC with 400 g ton⁻¹ of enzyme complex (Alltech® Vegpro® 7500 HUT g⁻¹ protease and 45 CMCE g⁻¹ cellulase). CDE2 increased MM availability ($P < 0.001$), NDF digestibility ($P = 0.010$) and ADF ($P = 0.028$) compared to the other experimental diets. Supplementation with exogenous enzymes increased the availability of phosphorus ($P = 0.006$), magnesium ($P < 0.001$), copper ($P = 0.002$), zinc ($P < 0.035$) and iron ($P = 0.027$). There was a decrease in the excretions of phosphorus ($P < 0.001$), magnesium ($P < 0.001$), copper ($P < 0.001$), zinc ($P < 0.001$) and a tendency towards lower iron excretion ($P = 0.058$) with the use of enzyme complexes. Enzyme complexes with protease (140.0 to 2800.0 HUT Kg⁻¹ of diet), phytase (60.0 SPU Kg⁻¹ of diet) and cellulase (8.0 to 18.0 CMCU Kg⁻¹ of diet) improve the availability and reduce fecal excretion of minerals in all-vegetable diets for piglets in the initial phase. Higher levels of protease (2800.0 HUT Kg⁻¹ of diet) and cellulase (18.0 CMCU Kg⁻¹ of diet) are necessary to improve the digestibility of NDF and ADF.

Keywords: enzyme complex; digestive immaturity; non-starch polysaccharides; phytic acid

4.3 INTRODUÇÃO

Após o desmame, o leitão deixa de receber o leite materno e passa a consumir uma dieta sólida, rica em carboidratos oriundos de ingredientes vegetais, caracterizados pela presença de fatores antinutricionais, como o ácido fítico e os polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) (Zuo *et al.*, 2015; Aranda-Aguirre *et al.*, 2021), o que provoca alterações que comprometem os processos digestivo e absorptivo, incluindo o déficit na capacidade de produzir enzimas endógenas em quantidade satisfatória (Inoue *et al.*, 2015; Pluske, 2016).

Sabe-se que o fitato, principal forma de armazenamento de fósforo em muitos tecidos vegetais, por ser um forte quelante orgânico natural, afeta a disponibilidade de macrominerais, incluindo cálcio e magnésio, e microminerais, como o cobre, zinco e ferro, cofatores importantes para milhares de enzimas no organismo e essenciais para o crescimento e metabolismo normais dos leitões (Kumar *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021).

As limitações impostas pela incapacidade intestinal tornam a suplementação com enzimas exógenas uma intervenção dietética essencial e ecologicamente correta para suínos (Ramachandran *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2015). Configura-se como uma estratégia que tem por objetivo otimizar o uso de nutrientes, energia e minerais pelos animais, além de reduzir a excreção de nutrientes e minerais por unidade de ração consumida, o que pode diminuir o potencial impacto ambiental da suinocultura (Faria *et al.*, 2015; Ruiz *et al.*, 2017; Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

O uso de enzimas exógenas, como a celulase, pode aumentar a digestibilidade de substratos presentes na fração de polissacarídeos não-amiláceos (Masey O'Neill *et al.*, 2014), enquanto a protease complementa a atividade proteolítica, principalmente hidrolisando aquelas proteínas que são resistentes à digestão por enzimas endógenas (Wang *et al.*, 2011). Por sua vez, a fitase é adicionada à dieta para hidrolizar o fitato e melhorar a disponibilidade de fósforo e outros minerais e reduzir a excreção para o meio ambiente (Santos *et al.*, 2015; Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

Tendo em vista a importância dos efeitos promissores da suplementação enzimática, objetivou-se com esta pesquisa avaliar a utilização de complexos enzimáticos sobre a digestibilidade de nutrientes, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de minerais em dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial e a excreção de nitrogênio e minerais.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi realizado no Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Suínos do Departamento de Ciência Animal, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus III*, em Bananeiras-PB. Todos os procedimentos desta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB), sob o número de protocolo 5476260521.

4.4.1 Animais, instalações e dietas experimentais

Foram utilizados 24 leitões na fase inicial com 35 dias de idade, machos castrados, de mesma linhagem comercial com peso inicial médio de $13,92 \pm 0,44$ kg. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três tratamentos e oito repetições, na qual a unidade experimental foi constituída por um animal.

Os leitões foram alojados individualmente em gaiolas de metabolismo projetadas para leitões na fase de creche, semelhantes às descritas por Pekas (1968) por um período de 12 dias. Os sete primeiros dias de experimento foram destinados a adaptação dos leitões às gaiolas e rações.

As dietas experimentais foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais para a fase inicial (15 a 30 kg; 49 a 70 dias) de acordo com Rostagno *et al.* (2017) (Tabela 1). Os tratamentos experimentais foram: DC: dieta controle; DCE1: DC com 200 g/ton de complexo enzimático Alltech® Allzyme® SSF e+C (700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCE2: DC com 400 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Vegpro®: 7500 HUT/g de protease e 45 CMCE/g de celulase).

A ração fornecida foi umedecida com água na proporção 1:1 e administrada duas vezes ao dia, às 08h00 e às 16h00, permanecendo a disposição dos animais por 30 minutos, quando então recolhia-se as sobras e adicionava-se água no comedouro para que os animais tivessem acesso à vontade.

O consumo de ração individual foi determinado de acordo com o menor consumo obtido nesta fase, baseado no peso metabólico ($Kg^{0,75}$) de cada unidade experimental. Assim foi definido o fornecimento de ração para os dias de coleta, de acordo com a metodologia proposta por Sakomura e Rostagno (2016).

Tabela 1 - Composição centesimal e nutricional da dieta controle

Ingredientes ¹	Dieta
Milho grão	65,00
Farelo de soja	29,82
Óleo de soja	1,39
Calcário	0,76
Fosfato bicálcico	1,48
L-Lisina	0,28
DL-Metionina	0,05
L-Treonina	0,07
Suplemento mineral e vitamínico ³	0,50
Sal comum	0,40
Antioxidante (BHT)	0,02
Inerte ²	0,23
Total	100,00
Composição nutricional calculada	
Matéria seca, %	88,74
Energia metabolizável, Mcal/Kg	3,25
Matéria orgânica, %	82,44
Proteína bruta, %	18,06
Extrato etéreo, %	4,34
FDN, %	11,81
FDA, %	4,51
Matéria mineral, %	2,51
Fósforo disponível, %	0,38
Cálcio, %	0,77
Magnésio, %	0,18
Ferro, mg/Kg	221,55
Zinco, mg/Kg	154,35
Cobre, mg/Kg	21,90
Triptofano digestível, %	0,24
Lisina digestível, %	1,08
Metionina digestível, %	0,33
Met + Cistina digestível, %	0,60
Treonina digestível, %	0,68

¹ Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno *et al.* (2017). ² Areia lavada. ³ Níveis de garantia por Kg do produto: cloreto de colina (140 g), iodo (200 mg), ferro (20,4 g), cobre (3.100 mg), zinco (25,2 g), manganês (14 g), selênio (60 mg), biotina (60 mg), niacina (10 g), ácido fólico (400 mg), ácido pantotênico (4.000 mg), vitamina A (3.200.000 UI), vitamina E (18.000 UI), vitamina D3 (920.000 UI), vitamina K3 (920 mg), vitamina B1 (1.080 mg), vitamina B2 (2.200 mg), vitamina B6 (1.600 mg) e vitamina B12 (6.000 mcg).

Os complexos enzimáticos foram adicionados às dietas em substituição ao componente inerte. Foram calculados os valores correspondentes de cada componente dos aditivos por Kg de dieta (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores calculados das enzimas dos aditivos enzimáticos por Kg de dieta.

Item	DC	DCE1	DCE2
Protease (HUT/Kg)	-	140,0	2800,0
Fitase (SPU/Kg)	-	60,0	-
Celulase (CMCU/Kg)	-	8,0	18,0

4.4.2 Coleta e amostragem

Nos últimos cinco dias do ensaio experimental (43 a 48 dias de idade), utilizou-se o método de coleta total de fezes e o óxido férrico (Fe_2O_3) foi utilizado como marcador fecal para determinar o início e o final do período de coleta. As fezes foram coletadas duas vezes ao dia, pesadas e congeladas a -18°C . A urina foi acondicionada em baldes plásticos contendo 20 ml de ácido clorídrico (HCl 1:1), com o objetivo de não permitir a perda de nitrogênio e a proliferação bacteriana. O volume de urina produzido foi mensurado e uma alíquota com 20% do total de urina produzida foi mantida refrigerada.

Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas, amostradas e pré-secas a 55°C em estufa de ventilação forçada. As análises dos ingredientes, rações, fezes e urina foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Análises Avançadas de Alimentos do Departamento de Ciência Animal e Laboratório de Cromatografia e Espectrometria (LACE) do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba, *Campus* III, Bananeiras-PB.

4.4.3 Digestibilidade de nutrientes, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de minerais

Nas amostras de fezes e rações foram realizadas análises de matéria seca (MS), matéria mineral (MN), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2005). Nas amostras de urina foram determinados os teores de nitrogênio e energia bruta. A energia bruta (EB) das fezes, rações e urina foi determinada em bomba calorimétrica do tipo Parr modelo 6100. O nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC, 2005).

Para a determinação de minerais, as cinzas das amostras de fezes e rações foram digeridas em ácido clorídrico e preparadas as soluções minerais, conforme recomendado por

Silva e Queiroz (2006). O teor de fósforo foi analisado por espectrometria em espectrofotômetro UV-VIS modelo UV-5100 (Metash Instruments, Shanghai, China) de acordo com metodologia proposta por Rangana (1979).

Os minerais cálcio, magnésio, cobre, ferro e zinco foram analisados em espectrômetro de absorção atômica, com atomizador de chama, modelo iCE 3500 (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra). Lâmpadas de cátodo oco (Photron, Victoria, Austrália), contendo os minerais a serem analisados (Ca, Mg, Cu, Fe e Zn), foram utilizadas como fonte de radiação primária e a correção de fundo foi feita com uma lâmpada de deutério acoplada ao equipamento.

As curvas padrão foram preparadas com padrões específicos para cada elemento químico (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). Para todas as análises foi utilizada a chama de ar-acetileno para a atomização da amostra. Para as análises de Mg e Ca, as amostras foram adicionadas de lantânio (La) até atingir uma concentração final de 0,1% de La.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, metabolizabilidade da energia, disponibilidade de minerais foram calculados de acordo com Adeola (2001), em que:

$$\text{Coeficiente} = 1 - \frac{\text{Componente consumido} - \text{Componente excretado}}{\text{Componente consumido}}$$

Considerando a quantificação das excreções fecais, os teores de MS e minerais nas fezes e rações e o consumo de ração animal, foram calculadas as quantidades de macro e microminerais excretados por quilograma de ração ingerida, dividindo a quantidade de mineral excretado por dia por animal pela quantidade de mineral ingerido por dia por animal (g para Ca e P ou mg para Mg, Cu, Fe e Zn), conforme proposto por Faria *et al.* (2015). Para o cálculo de excreção de nitrogênio (g), considerou-se também o nitrogênio quantificado na urina.

4.4.4 Análise estatística

A normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram observadas pelo teste de Cramer-von Misses e Levene, respectivamente. As variáveis foram submetidas à análise de variância utilizando o procedimento GLM do *software* estatístico SAS (SAS *Ondemand for Academics*). Em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e consideradas tendência quando $0,05 < P < 0,10$.

4.5 RESULTADOS

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) das dietas experimentais sobre a digestibilidade da MS, MO, PB, EE, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de cálcio (Tabela 3). Contudo, a DCE2 aumentou a disponibilidade da MM ($P < 0,001$), digestibilidade da FDN ($P = 0,010$) e FDA ($P = 0,028$) em comparação as demais dietas experimentais. A suplementação com enzimas exógenas aumentou a disponibilidade de fósforo ($P = 0,006$), magnésio ($P < 0,001$), cobre ($P = 0,002$), zinco ($P < 0,035$) e ferro ($P = 0,027$).

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes, metabolizabilidade da energia aparente corrigida para nitrogênio e disponibilidade aparente de minerais de dietas totalmente vegetais contendo aditivos enzimáticos para leitões na fase inicial

² Item	¹ Dietas			Anova	
	DC	DCE1	DCE2	³ EPM	⁴ P-valor
MS	0,876	0,868	0,877	0,004	0,383
MM	0,469 b	0,479 b	0,552 a	0,012	< 0,001
MO	0,892	0,883	0,890	0,004	0,160
PB	0,856	0,858	0,853	0,006	0,930
EE	0,861	0,843	0,850	0,006	0,186
FDN	0,454 b	0,457 b	0,553 a	0,017	0,010
FDA	0,718 ab	0,669 b	0,753 a	0,014	0,028
Energia	0,846	0,843	0,835	0,005	0,300
Cálcio	0,577	0,538	0,610	0,015	0,115
Fósforo	0,571 b	0,690 a	0,675 a	0,016	0,006
Magnésio	0,234 c	0,369 b	0,493 a	0,025	< 0,001
Cobre	0,205 b	0,488 a	0,423 a	0,037	0,002
Zinco	0,833 b	0,865 ab	0,880 a	0,007	0,035
Ferro	0,776 b	0,911 a	0,866 ab	0,019	0,027

¹ DC = dieta controle; DCE1 = DC com 200 g/ton de complexo enzimático Alltech® Allzyme® SSF e+C (700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCE2 = DC com 400 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Vegpro®: 7500 HUT/g de protease e 45 CMCE/g de celulase). ² Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), metabolizabilidade da energia corrigida para nitrogênio (MEN). ³ Erro padrão médio. ⁴ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve efeito ($P > 0,05$) dos tratamentos dietéticos sobre a excreção de nitrogênio e cálcio (Tabela 4). Porém, foi constatado diminuição nas excreções de fósforo ($P < 0,001$),

magnésio ($P < 0,001$), cobre ($P < 0,001$), zinco ($P < 0,001$) e uma tendência para menor excreção de ferro ($P = 0,058$) com a utilização dos complexos enzimáticos.

Tabela 4 - Nitrogênio e minerais excretados por quilograma de ração ingerida de leitões na fase inicial (43 a 48 dias de idade), alimentados com dietas totalmente vegetais contendo complexos enzimáticos

Item	¹ Dietas			Anova	
	DC	DCE1	DCE2	² EPM	³ P-valor
Nitrogênio (g/g)	0,241	0,239	0,255	0,004	0,115
Cálcio (g/g)	0,710	0,770	0,707	0,018	0,128
Fósforo (g/g)	0,714 a	0,479 b	0,530 b	0,027	< 0,001
Magnésio (mg/g)	1,304 a	1,131 b	0,964 b	0,036	< 0,001
Cobre (mg/g)	1,334 a	0,779 b	1,028 b	0,058	< 0,001
Zn (mg/g)	0,214 a	0,159 b	0,157 b	0,009	0,003
Fe (mg/g)	0,392 a	0,142 b	0,201 ab	0,041	0,058

¹ DC = dieta controle; DCE1 = DC com 200 g/ton de complexo enzimático Alltech® Allzyme® SSF e+C (700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCE2 = DC com 400 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Vegpro®: 7500 HUT/g de protease e 45 CMCE/g de celulase). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.6 DISCUSSÃO

A inclusão de enzimas combinadas visa atingir diferentes compostos antinutricionais presentes nos alimentos a fim de obter o máximo efeito benéfico do complexo enzimático (Adeola e Cowieson, 2011). Nesse sentido, a digestibilidade de nutrientes, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de minerais devem ser melhoradas com a utilização de complexos enzimáticos (Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

Contudo, nem sempre os leitões alimentados com rações adicionadas de complexos enzimáticos apresentam melhorias constantes (Barrera *et al.*, 2004; Leek *et al.*, 2007; Olukosi, Sands e Adeola, 2007). Assim como em nosso estudo, no qual observamos a ausência de diferença entre os tratamentos dietéticos para os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, EE, metabolizabilidade da energia e disponibilidade de Ca.

Embora a maioria das pesquisas utilizando complexos enzimáticos em dietas de suínos apresentarem respostas positivas, não há melhorias consistentes a respeito da ação de algumas enzimas, como proteases e carboidrases na digestibilidade dos nutrientes, especialmente quando são utilizadas fontes de proteína de baixa digestão, como os ingredientes de origem

vegetal, caracterizados pela presença de fitato e polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) (Zuo *et al.*, 2015; Aranda-Aguirre *et al.*, 2021).

O ácido fítico deprime a utilização de proteínas, devido a formação de complexos, que alteram a estrutura, solubilidade e digestibilidade da proteína, bem como a atividade enzimática (Humer *et al.*, 2014). Em pH baixo, como ocorre no estômago dos leitões, são formados complexos binários fitato-proteína, já em pH mais alto, como no duodeno, são formados complexos ternários mediados por pontes catiônicas de Ca, Mg e Zn (Reddy e Salunkhe, 1981).

Complexos fitato-proteína são menos digeridos por enzimas proteolíticas (pepsina, tripsina e quimiotripsina) e outras enzimas digestivas pancreáticas como lipase e α -amilase (Macholz, 1986; Caldwell, 1992). Esta inibição pode ser devido à natureza inespecífica das interações fitato-proteína e à quelação de íons Ca, que são essenciais para a atividade da tripsina e da α -amilase (Kumar *et al.*, 2010).

Assim, a redução na atividade da enzimática é parcialmente responsável pela ausência de alteração na digestibilidade de nutrientes a partir da suplementação com enzimas exógenas. No caso da energia, acredita-se que qualquer efeito energético da fitase em suínos seja derivado do aumento da digestibilidade da proteína (Humer *et al.*, 2014).

Além disso, a suplementação com fitase pode não influenciar a digestibilidade proteica e energética, possivelmente devido à baixa complexação entre estes nutrientes e o ácido fítico nos ingredientes utilizados, pois complexos fitato-proteína/carboidrato podem não ser fortes o suficiente para diminuir a digestibilidade de proteínas e metabolizabilidade da energia (Faria *et al.*, 2015).

O leitão não produz enzimas endógenas capazes de digerir a fração fibrosa dietética, composta principalmente pelos PNAs solúveis (hemicelulose e substâncias pécicas) e insolúveis (lignina, celulose, hemiceluloses insolúveis, taninos e cutinas), que juntos promovem aumentos na viscosidade da digesta, alterações na morfologia epitelial do intestino e consequente redução da digestibilidade dos nutrientes (Lindberg *et al.*, 2014; Rufino *et al.*, 2017).

Todavia, a utilização de carboidrases pode aumentar a digestibilidade de substratos presentes na fração dos PNAs, principalmente em dietas compostas exclusivamente por ingredientes de origem vegetal, que apresentam baixa digestibilidade para o leitão (Masey O'Neill *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2020).

Logo, o aumento da digestibilidade de FDN e FDA após a utilização do complexo enzimático na DCE2 está associado à hidrólise dos PNAs por meio da celulase presente no aditivo (18 CMCU/Kg de dieta) (Duarte *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021), a qual foi ofertada em

quantidade superior quando comparada a DCE (8 CMCU/Kg de dieta), que por sua vez não foi suficiente para melhorar a digestibilidade das frações fibrosas.

A celulase contribui para a degradação dos PNAs presentes na parede celular vegetal, diminuindo a viscosidade da digesta no intestino delgado, fazendo com que as enzimas endógenas se aproximem mais facilmente dos substratos e trabalhem com mais eficiência, uma vez que a viscosidade pode atuar como uma barreira que impede o contato das enzimas digestivas com seus substratos (Owusu-Asiedu, 2010; Passos *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018).

O aumento no coeficiente de disponibilidade da matéria mineral da DCE2 em 17,90% em comparação a DC indica um aumento da absorção de minerais pelos leitões, uma vez que uma maior disponibilidade é atribuída a um aumento na hidrólise e absorção de nutrientes (Zeebone *et al.*, 2023). De acordo com Sampath *et al.* (2023), a eficiência da ingestão de minerais depende sempre da disponibilidade, fonte e concentração de minerais utilizados na dieta, pois suas interações podem variar dependendo da saúde e das necessidades de cada animal.

As maiores disponibilidades de P, Mg, Cu, Zn e Fe observadas nas dietas com complexos enzimáticos estão relacionadas, principalmente, a hidrólise do fitato, que apresenta uma densidade de carga negativa extremamente alta em condições de intestino delgado (Barrientos e Murthy, 1996), com grande potencial para complexar cátions multivalentes carregados positivamente e nutricionalmente importantes, especialmente Ca, Mg, Zn, Cu e Fe (Cosgrove e Irving, 1980; Santos, Connolly e Murphy, 2015).

Os PNAs também podem reduzir a disponibilidade de minerais, separando os nutrientes das enzimas endógenas e ligando os minerais às moléculas de polissacarídeos e ácido fítico (Twomey *et al.*, 2001). Nesse contexto, a adição de enzimas exógenas tem sido utilizada como estratégia para reduzir os efeitos indesejados tanto do fitato quanto dos PNAs (Diógenes *et al.*, 2018; Peric e Spring, 2013).

A disponibilidade de Ca não alterada pode estar relacionada ao limite da extensão em que o Ca existe como complexo mineral-fitato, devido as suas baixas concentrações no milho e farelo de soja (Humer *et al.*, 2014). No entanto, o Ca é um cátion dominante nas dietas, capaz de formar novos complexos insolúveis de Ca-fitato ao longo do trato gastrointestinal em pH favorável a partir de outras fontes de cálcio presentes nas dietas (Wise, 1983; Angel *et al.*, 2002).

Ainda, o Ca interage com outros minerais, como o P, Zn, Cu e Mg, cuja natureza iônica promove a formação de complexos insolúveis, que precipitam e dificultam sua absorção intestinal (Sampath *et al.*, 2023). Todavia, a afinidade do ácido fítico é maior para outros cátions, incluindo Zn, Cu e Fe (Vohra, Gray e Kratzer, 1965). Entretanto, deve-se ter em mente

que o nível de Ca dietético é superior aos de minerais-traço. Logo, o impacto de maiores concentrações de Ca pode ser mais relevante do que a sua menor afinidade, devido à simples ação de massa (Graf, 1986).

O aumento da disponibilidade de P em 17,24% promovido pela DCE1 está associado à presença da enzima fitase na composição do complexo enzimático. As fitases atuam diretamente na hidrólise do fitato para liberar o fosfato complexado, melhorando a disponibilidade de minerais e digestibilidade de nutrientes, bem como reduz a excreção de P para o ambiente (Faria *et al.*, 2015).

Supostamente, a ação conjunta da fitase e celulase melhora a permeabilidade da camada de aleurona e aumenta o acesso da fitase ao fitato, devido a hidrólise dos PNAs por meio da celulase. Mesmo com ausência da enzima fitase em sua composição, também houve melhora na disponibilidade de P em 15,41% na dieta DCE2.

Esse resultado está relacionado ao maior teor de protease presente no complexo enzimático, uma vez que o fitato pode ligar-se fortemente às proteínas. Possivelmente, o efeito positivo foi potencializado pela presença da celulase, uma vez que ela hidrolisa a celulose da parede celular vegetal e auxilia na liberação de constituintes nutricionais, como proteínas, amido, lipídios e minerais que estão presos dentro da matriz da parede celular (Aranda-Aguirre *et al.*, 2021).

O mecanismo pelo qual as carboidrases podem melhorar a digestibilidade do P é diferente do modo de ação da fitase. Simon (1998) sugeriu que os modos de ação possivelmente incluem hidrólise parcial dos PNAs solúveis e insolúveis, diminuição da viscosidade da digesta e ruptura da parede celular, o que tornará o conteúdo disponível para digestão, incluindo o P complexado.

O zinco parece ser mais afetado pelo ácido fítico e PNAs insolúveis devido à formação de complexos mais estáveis e insolúveis (Cowieson *et al.*, 2016; Twomey *et al.*, 2001). Sua disponibilidade não depende apenas de seu próprio conteúdo dietético, mas também de sua interação com outros elementos, especialmente Ca, Cu e Fe (Wedekind e Lowry, 1998).

A disponibilidade relativamente baixa do Cu se deve a antagonismos entre o Cu e outros microminerais (Richards *et al.*, 2010). O envolvimento dos minerais-traço em diversas vias fisiológicas torna seu metabolismo complexo e difícil de entender (Suttle, 2010). Isso ocorre porque os minerais-traço são bem conhecidos por terem interações antagônicas entre si (Richards *et al.*, 2010), e a interação antagônica entre Zn e Cu é particularmente profunda na alimentação de suínos (Jondreville, Revy e Dourmad, 2003).

De acordo com O'Dell (1989), as metalotioleínas intestinais medeiam esta interação antagonica, em que o Zn estimula a indução dessas metaloproteínas, que se ligam fortemente ao Cu nas células da mucosa. Quando os níveis de Zn estão muito altos, as metalotioleínas se acumulam e obstruem a absorção de Cu nos enterócitos.

A disponibilidade de Fe é influenciada pela formação de complexos insolúveis entre o fitato e o Fe, mediante favorecimento do pH intestinal, que não podem ser absorvidos (Humer *et al.*, 2014). Assim, como condição para um aumento da absorção de Fe, se faz necessário uma degradação quase completa do fitato (Humer *et al.*, 2014), o que explica o aumento observado na disponibilidade Fe quando houve a suplementação enzimática.

A excreção pelos leitões corresponde principalmente às frações alimentares consumidas que não foram digeridas, absorvidas ou retidas pelos animais (Ruiz *et al.*, 2017). As menores excreções de P, Mg, Cu, Zn e Fe observadas nos leitões que receberam os complexos enzimáticos também estão relacionadas à hidrólise de fatores antinutricionais, reduzindo o impacto poluente da excreção mineral.

O fitato é responsável pela maior parte do P no esterco, devido à presença de sobras ou fitato não digeridos, o que o torna a forma dominante nos solos por conta dos resíduos vegetais e à aplicação de esterco (Sun *et al.*, 2021). O acúmulo de fitato nos solos é causado pela falta de enzimas para hidrólise e sua precipitação com íons metálicos, pois a carga altamente negativa do fitato facilita a interação com os minerais do solo formando complexos, tornando-o um dos compostos orgânicos de P mais recalcitrantes no meio ambiente (Gerke, 2015).

Em pesquisa com marrãs alimentadas com dietas contendo complexo enzimático associado à redução nutricional, Ruiz *et al.* (2017) relataram menor excreção de minerais. Faria *et al.* (2015) também relataram menores excreções de Ca, P e Cu por suínos em crescimento alimentados com dietas contendo fitase.

Uma menor excreção de Fe observada em nossa pesquisa quando foram utilizados os complexos enzimáticos também contribui para uma menor complexação do fitato no esterco, pois a precipitação do fitato com o Fe pode inibir a hidrólise, a qual é menos impactada na presença de Ca e Mg (Tang *et al.*, 2006).

Diante do exposto, o conhecimento da formação de complexos entre os fatores antinutricionais com nutrientes e minerais e seu destino é essencial para desenvolver uma compreensão abrangente do papel da utilização de complexos enzimáticos no desenvolvimento de estratégias nutricionais para a produção sustentável de suínos e minimizar a poluição ambiental.

4.7 CONCLUSÕES

Complexos enzimáticos com protease (140,0 a 2800,0 HUT/Kg de dieta), fitase (60,0 SPU/Kg de dieta) e celulase (8,0 a 18,0 CMCU/Kg de dieta) melhoram a disponibilidade e diminuem a excreção fecal de minerais em dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial. Níveis maiores de protease (2800,0 HUT/Kg de dieta) e celulase (18,0 CMCU/Kg de dieta) são necessários para melhorar a digestibilidade de FDN e FDA.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O. Digestion and balance techniques in pigs. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Ed.). **Swine nutrition**. 2 th ed. Boca Raton: CRC Press., p. 903-916, 2001.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve on ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, 89, n. 10, p. 3189–3218, 2011.
- ANGEL, R. *et al.* Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p. 471–480, 2002.
- ARANDA-AGUIRRE, E. *et al.* A systematic review on the role of exogenous enzymes on the productive performance at weaning, growing and finishing in pigs. **Veterinary and Animal Science**, 2021.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**, v. 2, 18th edition. AOAC, Maryland, USA, 2005.
- BARRERA, M. A. *et al.* Ileal amino acid digestibility and performance of growing pigs fed wheat-based diets supplemented with xylanase. **Journal of Animal Sciences**, v.82, n. 7, p. 1997–2003, 2004.
- BARRIENTOS, L. G.; MURTHY, P. P. N. Conformational studies of myo-inositol phosphates. **Carbohydrate Research**, v.296, p. 39–54, 1996.
- CALDWELL, R. A., Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.40, p. 43–46, 1992.
- COSGROVE, D. J.; IRVING, G. C. J. **Inositol Phosphates: Their Chemistry, Biochemistry and Physiology**. Elsevier Scientific Publication, Amsterdam, 1980.
- COWIESON, A. J. Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. **Animal Feed Science and Technology**, v.222, p. 180–189, 2016.
- DIÓGENES, A. F. *et al.* Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets. **Aquaculture**, v. 486, p. 42–50, 2018.
- DUARTE, M. E. *et al.* 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**, v.5, n.4, p. 351-358, 2019.
- ESPINOSA, C.D., STEIN, H.H. Digestibility and metabolism of copper in diets for pigs and influence of dietary copper on growth performance, intestinal health, and overall immune status: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.12, n.13, 2021.
- FARIA, H. G. *et al.* Effects of phytase on pig diets digestibilities, bone mineral deposition, performance and manure production. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 4519–4530, 2015.

GERKE J. Phytate (inositol hexakisphosphate) in soil and phosphate acquisition from inositol phosphates by higher plants. A review. **Plants**, v.4, n.2, p. 253–66, 2015.

GRAF, E. Chemistry and applications of phytic acid: an overview. In: E. Graf (ed.), **Phytic Acid: Chemistry and Applications**. Pilatus Press, Minneapolis, MN, p. 1–21, 1986.

HUMER, E. *et al.* Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v.99, n.4, p. 605–625, 2014.

INOUE, R. *et al.* Weaning markedly affects transcriptome profiles and peyer's patch development in piglet ileum. **Frontiers in Immunology**, 2015.

JONDREVILLE, C., REVY, P. S., & DOURMAD, J. Y. Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. **Livestock Production Science**, v. 84, n. 2, p. 147–156, 2003.

KUMAR, V. *et al.* Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. **Food Chemistry**, v.120, p. 945–959, 2010.

KUMAR, V. *et al.* Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.96, n.3, p. 335–364, 2012.

LEEK, A. B. G. *et al.* Apparent component digestibility and manure ammonia emission in finishing pigs fed diets based on barley, maize or wheat prepared without or with exogenous non-starch polysaccharide enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, 86–99, 2007.

LI, Q. *et al.* A dietary carbohydrase blend improved intestinal barrier function and growth rate in weaned pigs fed higher fiber diets. **Journal of Animal Science**, 96, n. 12, p. 5233–5243, 2018.

LI, Z. *et al.* Comparative Effects of Compound Enzyme and Antibiotics on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Biochemical Index, and Intestinal Health in Weaned Pigs. **Frontiers in Microbiology**, 12, p. 767–768, 2021.

LINDBERG, J. E. Fiber effects in nutrition and gut health in pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.1, n. 5, p. 2–7, (2014).

LOPEZ, H.W. *et al.* Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? **International Journal of Food Science & Technology**, v.37, n.7, p. 727–739, 2002.

MACHOLZ, R., **Phytic acid – Chemistry and applications**. In: E. Graf (ed.), **Phytic Acid**. Pilatus Press, Minneapolis, MN, p. 22, 1986.

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

O'DELL, B. L. Mineral interactions relevant to nutrient requirements. **The Journal of Nutrition**, v.119, p. 1832–1838, 1989.

OLUKOSI, O. A.; SANDS, J. S.; ADEOLA, O. Supplementation of carbohydrases or phytase individually or in combination to diets for weanling and growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v.85, n.7, p. 1702–1711, 2007.

OWUSU-ASIEDU, A. *et al.* Effect of xylanase and beta-glucanase on growth performance and nutrient digestibility in piglets fed wheat-barley-based diets. **Livestock Science**, 134, n. 1-3, p. 76-78, 2010.

PASSOS, A. A. *et al.* 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**, 1, p. 19–23, 2015.

PEKAS, J. C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, n.27, p. 1303-1306, 1968.

PEREIRA, A. M. *et al.* Effect of Zinc Source and Exogenous Enzymes Supplementation on Zinc Status in Dogs Fed High Phytate Diets. **Animals**, v.10, n.400, 2020.

PERIC, L.; SPRING, P. Effect of a by-product of solid state fermentation (Synergen™) on broiler performance. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v.2, p.1–5, 2013.

PLUSKE, J. R. Invited review: Aspects of gastrointestinal tract growth and maturation in the pre- and postweaning period of pigs. **Journal of Animal Science**, v.94, p.399-411, 2016.

RAMACHANDRAN, S. *et al.* Mixed substrate fermentation for the production of phytase by *Rhizopus* spp. using oilcakes as substrates. **Process Biochemistry**, v.40, n.5, p. 1749–1754, 2005.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tta McGraw – Hill, Publishing Company Limited, p. 94-95, 1979.

REDDY, N. R.; SALUNKHE, D. K., Interactions between phytate, protein, and minerals in whey fractions of black gram. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 564–567, 1981.

RICHARDS, J. D. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australas. Journal of Animal Science**, v.23, p. 1527–1534, 2010.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, p. 443-444, 2017.

RUFINO, J.P.F. *et al.* Food fiber in diets for birds – A Revision. **Revista Científica de Avicultura e Suinocultura**, v.3, n.2, p.33-42, 2017.

RUIZ, U.S. *et al.* Enzyme complex supplementation in different nutrient levels diets on pigs feces excretion and anaerobic digestion. **Scientia Agricola**, v.74, n.3, p.180-188, 2017.

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

SAMPATH, V. *et al.* Role and functions of micro and macro-minerals in swine nutrition: a short review. **Journal of Animal Science and Technology**, v.65, n. 3, p. 479-489, 2023.

SANTOS, T.; CONNOLLY, C.; MURPHY, R. Trace Element Inhibition of Phytase Activity. **Biological Trace Element Research**, v.163, p. 255–265, 2015.

SAS Studio. **SAS Ondemand For Academics**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2022.

SIMON, O. The mode of action of NSP hydrolyzing enzymes in the gastrointestinal tract. **J. Animal Feed Science**, v.7, p. 115–123, 1998.

SUN, M.; HE, Z., JAISI, D.P. Role of metal complexation on the solubility and enzymatic hydrolysis of phytate. **Plos One**, v.16, n.8, p. 1-16, 2021.

SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. Center for Agriculture and Bioscience International, 2010.

TANG, J. *et al.* Hydrolysis of precipitated phytate by three distinct families of phytases. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n.6, p. 1316–1324, 2006.

TORRES-PITARCH, A. *et al.* Effect of feed enzymes on digestibility and growth in weaned pigs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, 233, p. 145-159, 2017.

TWOMEY, L. N. *et al.* The use of exogenous feed enzymes in reducing the anti-nutritive effects of dietary fibre in dog foods. **Recent Advances in Animal Nutrition**, v. 13, p. 179–186, 2001.

VOHRA, P.; GRAY, G. A.; KRATZER, F. H. Phytic acid-metal complexes. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v.120, p. 447–449, 1965.

WANG, D. *et al.* Effects of keratinase on growth performance, nutrient utilization, intestinal morphology, intestinal ecology and inflammatory response of weaned piglets fed diets with different levels of crude protein. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.24, p. 1718-28, 2011.

WEDEKIND, K.J.; LOWRY, S.R. Are organic zinc sources efficacious in puppies? **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 2593–2595, 1998.

WISE, A. Dietary factors determining the biological activity of phytases. **Nutrition Abstracts and Reviews in Clinical Nutrition**, v.53, p. 791–806, 1983.

ZEEBONE, Y. Y. Dietary fumonisin may compromise the nutritive value of feed and distort copper and zinc digestibility and retention in weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.107, p. 504–517, 2023.

ZHANG, W. F. *et al.* Effect of replacing inorganic trace minerals at lower organic levels on growth performance, blood parameters, antioxidant status, immune indexes, and fecal mineral excretion in weaned piglets. **Tropical Animal Health and Production**, v.53, n.121, 2021.

ZHAO, J. *et al.* Effects of fibre-degrading enzymes in combination with different fibre sources on ileal and total tract nutrient digestibility and fermentation products in pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v.74, n.4, p. 309–324, 2020.

ZUO, J. Effect of dietary supplementation with protease on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. **Animal Nutrition**, v.1, n.4, p. 276–282, 2015.

5 CAPÍTULO IV: COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ASSOCIADOS OU NÃO A EXTRATOS VEGETAIS PARA LEITÕES DESMAMADOS

5.1 RESUMO

Objetivou-se com a realização desta pesquisa avaliar a suplementação de complexos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais em dietas para leitões desmamados. Foram utilizados 48 leitões desmamados com 28 dias de idade, distribuídos em blocos casualizados em seis tratamentos: DC: Dieta Controle; DCY: DC com 125 g/ton de Extrato de *Yucca schidigera* (EYS) (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DCE + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DCE + EYS (250 g/ton). A DCE+Y1 melhorou a conversão alimentar ($P < 0,05$). A DCE, DCME e DCE+Y1 melhoraram ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade MS, MO, FDN, FDA, energia e P e reduziram a excreção de P. Níveis séricos de GGT aumentaram ($P < 0,05$) com a adição de EYS, o de P diminuiu ($P < 0,05$) em função da DCE+Y2 e AST diminuiu ($P < 0,05$) nos leitões alimentados com DC. Maior AV/PC jejunal ($P < 0,05$) foi verificada com as suplementações aumento na espessura de mucosa ($P < 0,05$) e na área absorptiva jejunais de leitões que consumiram a DCME. A quantidade de células caliciformes diminuiu ($P < 0,05$) quando os leitões consumiram a DCE+Y2. Maiores índices de glicogênio hepático ($P < 0,05$) foram registrados para os grupos que receberam DCE e DCE+Y2. As associações das enzimas exógenas com extratos vegetais diminuíram ($P < 0,05$) a expressão relativa de mRNA do TNF- α ; a de MUC-2 diminuiu ($P < 0,05$) com as suplementações; a do NaPi-IIb aumentou com a utilização da DCE, enquanto a do SGLT-1 aumentou ($P < 0,05$) com DCY e DCE; a do PEPT-1 aumentou ($P < 0,05$) com DCY, DCME, DCE+Y1 e DCE+Y2. Combinações de enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais (125 g/ton de EYS e 52 g/kg de emulsificante) em dietas para leitões otimizam a eficiência produtiva, promovem melhorias na digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos, histologia intestinal, contribuem na saúde intestinal e reduzem a excreção de P. Mais pesquisas são necessárias acerca dos níveis de inclusão do EYS para leitões desmamados.

Palavras-chave: enzimas exógenas; fitogênicos; nutrição; saúde intestinal; suíno.

5.2 ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the supplementation of enzymatic complexes associated or not with plant extracts in diets for weaned piglets. Forty-eight 28-day-old weaned piglets were used, distributed in randomized blocks in six treatments: CD: Control Diet; CDY: CD with 125 g ton⁻¹ of *Yucca schidigera* extract (YSE) (De-Odorase®; assurance level: 65 mg kg⁻¹ of sapogenin); CDE: CD with 200 g ton⁻¹ enzyme complex (Alltech® Allzyme SSF e+C; assurance levels: 700 HUT g⁻¹ of protease, 300 SPU g⁻¹ of phytase and 40 CMCU g⁻¹ of cellulase); CDME: CD with 400 g ton⁻¹ multienzyme complex with emulsifier (Alltech® Allzyme Allsotution; guarantee levels: 640 AJDU g⁻¹ of pectinase, 386 HUT g⁻¹ of protease, 60 SPU g⁻¹ of phytase, 32 BGU g⁻¹ of β -glucanase, 16 XU g⁻¹ of xylanase, 8 CMCU g⁻¹ of cellulase, 4.5 FAU g⁻¹ of amylase and 52 g kg⁻¹ of polyethylene glycol glyceryl ricinoleate - PGRG); CDE+Y1: CDE + YSE (125 g ton⁻¹); CDE+Y2: CDE + YSE (250 g ton⁻¹). CDE+Y1 improved feed conversion ($P < 0.05$). CDE, CDME and CDE+Y1 improved ($P < 0.05$) MS, MO, NDF, ADF, energy and P digestibility coefficients and reduced P excretion. GGT serum levels increased ($P < 0.05$) with the addition of YSE, P decreased ($P < 0.05$) as a function of CDE+Y2 and AST decreased ($P < 0.05$) in piglets fed CD. Greater jejunal VA/PC ($P < 0.05$) was verified with supplements and increases in mucosal thickness ($P < 0.05$) and jejunal absorptive area of piglets that consumed CDME. The amount of goblet cells decreased ($P < 0.05$) when piglets consumed CDE+Y2. Higher liver glycogen indices ($P < 0.05$) were recorded for the groups receiving CDE and CDE+Y2. Associations of exogenous enzymes with plant extracts decreased ($P < 0.05$) the relative expression of

TNF- α mRNA; MUC-2 decreased ($P < 0.05$) with supplements; that of NaPi-IIb increased with the use of CDE, while that of SGLT-1 increased ($P < 0.05$) with CDY and CDE; that of PEPT-1 increased ($P < 0.05$) with CDY, CDME, CDE+Y1 and CDE+Y2. Combinations of exogenous enzymes associated or not with plant extracts (125 g ton⁻¹ of YSE and 52 g kg⁻¹ of emulsifier) in diets for piglets optimize production efficiency, promote improvements in the digestibility and absorption of dietary nutrients, intestinal histology, and contribute to health intestinal and reduce P excretion. More research is needed on EYS inclusion levels for weaned piglets.

Keywords: exogenous enzymes; gut health; nutrition; phytogenics; swine.

5.3 INTRODUÇÃO

A adição de complexos enzimáticos às dietas tem por objetivo ajudar na digestão da matriz complexa de ingredientes de origem vegetal presentes na maior fração na dieta e preencher a lacuna até que a capacidade de secreção enzimática endógena do leitão tenha tempo para se desenvolver (Torres-Pitarch *et al.*, 2017). Diferentes dosagens e combinações de enzimas exógenas (fitases, carboidrases, proteases e lipases) têm sido testadas em dietas para leitões (Aranda-Aguirre *et al.*, 2021).

No passado, os antibióticos melhoradores de desempenho eram adicionados às rações a fim de minimizar os impactos pós-desmame em leitões (Zhu *et al.*, 2022). No entanto, a preocupação com a resistência antimicrobiana e o impacto ambiental levaram a uma redução dessas práticas e estratégias alternativas vem sendo desenvolvidas, como a adição de produtos fitogênicos (Adegbeye *et al.*, 2019).

O extrato vegetal de *Yucca schidigera* (EYS) tem sido objeto de estudo como suplemento alimentar em dietas para leitões, devido suas propriedades anti-inflamatórias e capacidade de reduzir o impacto ambiental provocado pelas altas concentrações de nitrogênio nas excretas (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). A adaptação da *Yucca schidigera* para crescer em áreas desérticas caracterizadas por altas temperaturas e escassez de água a torna uma excelente opção para futuros aditivos fitogênicos (Adegbeye *et al.*, 2019).

Considerando que os leitões têm capacidade insuficiente de secretar bile para emulsificação dos lipídeos dietéticos, a adição de emulsificantes tem sido investigada (Mendoza e Van Heugten, 2014). O polietilenoglicol ricinoleato gliceril (PGRG) é um agente emulsificante sintetizado a partir do óleo de rícino da mamona (*Ricinus communis* L.) que pode ser usado para aumentar a disponibilidade de lipídeos na dieta (Bontempo *et al.*, 2016), contudo a informação sobre a aplicação da suplementação de PGRG na dieta de suínos é limitada (Sun e Kim, 2019).

Tendo em vista a importância dos efeitos promissores da suplementação enzimática e dos extratos vegetais em dietas para leitões desmamados, é possível que a combinação de ambos se configure como uma estratégia a fim de otimizar a eficiência produtiva, digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos, através da morfometria intestinal e hepática, promovendo melhorias na saúde intestinal, contribuindo para a redução da excreção de poluentes da suinocultura.

5.4 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 (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus III*, em Bananeiras-PB. Todos os procedimentos desta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB), sob o número de protocolo 5476260521.

5.4.1 Animais, instalações e dietas experimentais

Foram utilizados 48 leitões desmamados aos 28 ± 1 dias de idade, sendo 24 machos castrados e 24 fêmeas, de mesma linhagem comercial, oriundos de granja comercial, com peso médio inicial de $6,43 \pm 0,25$ 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 incandescentes como fonte de calor adicional e colhidas informações de temperatura e umidade relativa do ambiente por meio de termohigrômetro digital. Os valores médios de temperatura máxima e mínima e umidade relativa do ar registradas durante o período experimental foram, respectivamente, 26,5°C, 22,5°C, 85,2 e 71,7%.

Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados (DBC) para controlar diferenças no peso inicial. Os leitões foram divididos em seis tratamentos (dietas experimentais), com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por dois animais (um macho e uma fêmea).

As rações experimentais foram formuladas principalmente por milho, farelo de soja, soja integral inativada, soro de leite em pó, óleo de soja, suplemento vitamínico, suplemento mineral, calcário, fosfato bicálcico e aminoácidos industrializados. As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, de acordo com Rostagno *et al.* (2017), nas seguintes fases:

I – Dos 21 aos 32 dias de idade (5,5 a 9kg);

II - Dos 33 aos 42 dias de idade (9,1 a 15kg);

III – Dos 43 aos 63 dias de idade (15,1 a 25 kg).

Tabela 1 - Composição centesimal e nutricional das dietas controles para leitões de acordo com a exigência nutricional

¹ Item	Fases		
	I	II	III
Milho grão	39,04	50,32	65,38
Farelo de soja	22,00	22,00	22,00
Soja integral inativada	14,47	10,17	6,53
Soro de leite	17,25	10,06	-
Óleo de soja	2,02	2,22	0,72
Fosfato bicálcico	1,74	1,75	1,63
Calcário	1,05	0,95	0,77
L-Lisina	0,52	0,54	0,42
DL-Metionina	0,23	0,21	0,13
L-Arginina	0,22	0,21	-
L-Triptofano	0,04	0,06	0,03
L-Treonina	0,26	0,26	0,16
L-Valina	0,11	0,12	0,02
Suplemento mineral e vitamínico	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,49	0,41	0,47
Antioxidante (BHT)	0,02	0,02	0,02
² Inerte	0,06	0,18	0,23
Total	100,00	100,00	100,00
Valor calculado			
Energia metabolizável (Mcal/kg)	3,400	3,375	3,250
Proteína Bruta, %	21,42	19,87	18,06
Cálcio, %	01,07	0,97	0,79
Fibra bruta, %	2,51	2,47	2,54
FDN, %	10,46	11,40	12,95
FDA, %	4,40	4,32	4,43
Fósforo disponível, %	0,53	0,48	0,39
Triptofano digestível, %	0,28	0,28	0,21
Lisina digestível, %	1,45	1,35	1,12
Metionina digestível, %	0,52	0,48	0,38
Met + Cistina digestível, %	0,81	0,75	0,64
Treonina digestível, %	0,97	0,90	0,73

I – Dos 21 aos 32 (5,5 a 9kg) dias de idade; II - Dos 33 aos 42 (9,1 a 15kg) dias de idade; III – Dos 43 aos 63 (15,1 a 25 kg) dias de idade. ¹ Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno *et al.* (2017). ² Areia lavada.

Os tratamentos avaliados foram os seguintes:

- DC: Dieta Controle;
- DCY: DC com 125 g/ton de Extrato de *Yucca schidigera* (EYS) (De-Odorase[®]; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina);
- DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech[®] Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase);

- DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG);
- DCE+Y1: DCE (200 g/ton) + Extrato de *Yucca schidigera* (125 g/ton);
- DCE+Y2: DCE (200 g/ton) + Extrato de *Yucca schidigera* (250 g/ton).

Os aditivos substituíram uma fração do componente inerte da dieta. Foram calculados os valores correspondentes de cada componente dos aditivos por Kg de dieta (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores calculados das enzimas, emulsificante e sapogenina dos aditivos por Kg de dieta

Item	¹ Dietas experimentais					
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2
Protease (HUT/Kg)	-	-	140,0	154,4	140,0	140,0
Fitase (SPU/Kg)	-	-	60,0	24,0	60,0	60,0
Celulase (CMCU/Kg)	-	-	8,0	3,2	8,0	8,0
Pecinase (AJDU/Kg)	-	-	-	256,0	-	-
β -glucanase (BGU/Kg)	-	-	-	12,8	-	-
Xilanase (XU/Kg)	-	-	-	6,4	-	-
Amilase (FAU/Kg)	-	-	-	1,8	-	-
PGRG (g/Kg)	-	-	-	20,8	-	-
Sapogenina (mg/Kg)	-	8,1	-	-	8,1	16,3

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton).

5.4.2 Desempenho produtivo e incidência de diarreia

Os animais foram pesados no início e final de cada fase, bem como as sobras de ração, obtendo-se o 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 experimentais: 0 a 7 dias; 0 a 16 dias e 0 a 32 dias.

No decorrer da avaliação do desempenho, foi avaliada a incidência de diarreia dos leitões. Para tanto foi realizado o levantamento dos escores fecais, nos primeiros 21 dias do período experimental. Duas vezes ao dia, foi verificada a consistência das fezes, às 8h00 e às 17h00, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 1 – fezes normais, 2 –

fezes pastosas e 3 – fezes aquosas. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3 diarreicas. Estas identificações foram realizadas sempre pelo mesmo observador.

5.4.3 Digestibilidade aparente total do trato

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 60 dias de idade como indicador de indigestibilidade da dieta. Após o início do consumo da ração com marcador, a ração foi fornecida por 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) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da 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.

O teor de fósforo foi analisado por espectrometria 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 da UFPB, *Campus* III, em Bananeiras-PB.

Para a determinação de cálcio, 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).

Os coeficientes de digestibilidade aparente total do trato (CDATT) dos nutrientes, energia e disponibilidade de Ca e P foram calculados de acordo com Aldeola *et al.* (2001), em que:

$$CDATT = 1 - \frac{\text{Concentração de CIA na dieta} \times \text{Componente nas fezes}}{\text{Concentração de CIA nas fezes} \times \text{Componente na dieta}}$$

O fósforo e nitrogênio retidos e excretados foram calculados da seguinte forma:

$$\text{Retido} = \text{Componente na dieta} - \left(\text{Componente nas fezes} \times \frac{\text{Teor de CIA na dieta}}{\text{Teor de CIA nas fezes}} \right)$$

$$\text{Excretado} = \text{Componente na dieta} - \text{Componente retido}$$

5.4.4 Parâmetros bioquímicos séricos

No final de cada fase (35, 44 e 60 dias de idade), foi coletado diretamente da jugular cerca de 10 ml de sangue de um animal por unidade experimental, selecionado de acordo com o peso médio mais próximo do peso médio do tratamento. As amostras de sangue foram centrifugadas a 2500 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 (UFRPE), *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).

5.4.5 Abate dos animais

Aos 60 dias de idade, um animal de cada parcela foi selecionado para o abate. O animal da parcela que apresentou o peso mais próximo da média de cada tratamento foi separado e

submetido a um jejum de seis horas. No Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Cárneos (PDPC) - CCHSA/UFPB, os leitões foram abatidos obedecendo ao protocolo de abate humanitário.

Inicialmente, foram insensibilizados por eletronarcose, seguido da sangria a partir da veia jugular. Imediatamente após o abate, o abdômen dos animais foi aberto e as vísceras retiradas. Fígado, pâncreas e baço foram pesados para cálculos de rendimento em relação ao peso vivo. Com o auxílio de pinças e bisturi, foram colhidos fragmentos do duodeno, jejuno, íleo e fígado para posteriores análises.

5.4.6 Parâmetros ósseos

A pata dianteira direita de cada leitão foi removida na articulação carpal média. O metacarpo III da pata direita de cada animal foi dissecado e armazenado em saco plástico e lacrado a -20 °C. As análises realizadas foram índice de Seedor e teores de cinzas, cálcio e fósforo.

Os metacarpos 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 metacarpos 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: Índice de Seedor = peso do osso (mg) / comprimento do osso (mm).

Para as análises dos teores de matéria mineral, cálcio e fósforo, os metacarpos ficaram em estufa por 72 horas à 65°C, em seguida foram moídos em moinho de bola e em seguida preparadas as soluções minerais das amostras (Silva e Queiroz, 2006). Para avaliar os teores de Ca e P seguiu-se a mesma metodologia utilizada para avaliação nas dietas e fezes.

5.4.7 Histologia intestinal e células caliciformes

Para o estudo da estrutura do intestino delgado foram colhidas amostras de aproximadamente 1 a 10 cm do início do duodeno e 25 a 35 cm do início do jejuno. A fixação dos segmentos intestinais foi realizada em solução contendo 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético durante um período de doze horas, e mantidos refrigerados. Logo após, substituiu-se a solução por álcool à 70%. Para a realização das análises histológicas do intestino delgado, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do CCA da 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. Em um momento posterior, realizou-se 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, profundidade de cripta e largura de vilosidade. De posse dos dados foi calculada a relação altura de vilosidade / profundidade de cripta (AV/PC), espessura de mucosa e área absorptiva, de acordo com metodologia modificada descrita por Moreira Filho *et al.* (2015).

A contagem de células caliciformes presentes nas vilosidades intestinais foi feita após coloração com ácido periódico de Schiff (PAS) + hematoxilina. Para avaliar o número de células caliciformes, foram realizadas oito contagens por amostra, sendo traçada uma linha de 500 µm por vilosidade, totalizando 4000 µm para cada amostra. O resultado foi expresso em número de células caliciformes a cada 2000 µm. 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.

5.4.8 Glicogênio hepático

Para avaliação do glicogênio hepático foram colhidas amostras de aproximadamente 1 cm do fígado. O procedimento para fixação do tecido hepático foi idêntico ao realizado nas frações do intestino delgado. 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 com ácido periódico de Schiff (PAS), que cora as glicoproteínas, dentre elas o glicogênio hepático. As fotomicrografias, 12 para cada animal, perfazendo um número de 48 por tratamento (12 fotomicrografias x 4 animais) foram analisadas à microscopia óptica pelo mesmo histologista, sem o prévio conhecimento deste sobre o grupo pertencente de cada leitão.

Assim, 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 +++: bastante 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 modificado (Ishak *et al.*, 1995). 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.

5.4.9 Expressão gênica relativa de TNF- α e transportadores de nutrientes jejunais

Após o abate, fragmentos do jejuno de aproximadamente 1 cm foram coletados, lavados em solução salina (0,9% NaCl) e realizados pequenos cortes nos fragmentos com auxílio de bisturi e tesoura, colhidos e armazenados em microtubos de 2 ml e congelados a -80 °C até o isolamento do mRNA. As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Fisiologia Animal e Biologia Molecular - CCA / UFPB *Campus* II (Areia-PB).

O mRNA foi extraído das amostras utilizando o kit Qiagen RNeasy[®] Mini (Cat. N.74106) e a síntese do cDNA realizada utilizando o kit cDNA High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems), de acordo com as recomendações dos fabricantes.

Foram utilizados primers para a expressão do mRNA dos seguintes genes: fator de necrose tumoral (TNF- α), cotransportador de sódio e glicose tipo 1 (SGLT-1), transportador de dipeptídeos e tripeptídeos nos enterócitos (PEPT-1), mucina tipo 2 (MUC-2), transportador de fosfato dependente de sódio tipo 2 (NaPi-IIb) e os genes de referência β -actina (ACTB) e gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) (Tabela 3).

Tabela 3 - Primers utilizados para PCR quantitativa em tempo real (qPCR)

Gene	Sequência de primers (5'-3')		¹ TP (bp)	Nº de acesso
	Foward	Reverse		
TNF- α	tcaacctctctctgccatc	cccaggtagatgggttcgta	91	JF831365.1
MUC-2	tccacggggactgctactac	caggtctgcttctgttgga	103	XM_021082584.1
NaPi-IIb	tatcccttcagctgggtgac	gggtcagagtcgacgagaac	100	JN983501.1
SGLT-1	cgggttgagcttctctgttt	attccattcaaagccaccag	107	MW280290.1
PEPT-1	ccatgttctgggcttctgttt	tgatccggctggattttaag	100	AY180903.1
GAPDH	acatggcctccaaggagtaaga	gatcgagttgggctgtgact	101	NM_001206359.1
β -actina	ctggcaccacacctctaca	gggtcatcttctcacggttg	107	DQ178122.1

¹ Tamanho do produto em pares de bases.

A expressão gênica relativa de mRNA foi determinada através da reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR), utilizando o SYBR Power SYBR[®] green Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems) e primers específicos. Após verificar que os primers amplificaram com uma eficiência de aproximadamente 100%, foram realizados os testes de qPCR.

O volume final foi calculado para 20 μ L da reação, contendo os seguintes componentes: 10 μ L do SYBR Green QPCR Master mix; 4 μ L de cada primer; 0,3 μ L do corante de referência diluído; 0,7 μ L de água destilada e deionizada e 5 μ L do cDNA. A reação em cadeia da

polimerase foi realizada sob as seguintes condições: 95 °C por 3 min (1 ciclo), 95 ° C durante 15 s e 60 ° C durante 20 segundos (40 ciclos), 95 ° C por 1 min, 55 °C durante 30 segundos e 95 ° C durante 30 segundos (1 ciclo).

Após cada teste, uma análise de curva de fusão foi gerada para verificar a especificidade e pureza de todos os produtos de qPCR, e a β -actina e GAPDH foram escolhidos como os genes de referência para normalizar o carregamento de cDNA. Os ciclos de qPCR foram realizados em termociclador e a expressão relativa calculada com base no método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak e Schmittgen, 2001), utilizando os genes de referência para normalização da expressão.

5.4.10 Análise estatística

A normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram observadas pelo teste de Cramer-von Misses e Levene, respectivamente. As variáveis foram submetidas à análise de variância utilizando o procedimento GLM do *software* estatístico SAS (SAS *OnDemand for Academics*). Em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e consideradas tendência quando $0,05 < P < 0,10$.

5.5 RESULTADOS

Conforme apresentado na Tabela 4, aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais influenciaram o desempenho produtivo de leitões desmamados. No período de 0 a 7 dias, o consumo diário de ração (CDR) dos leitões que receberam DCE e DCE+Y2 foi maior ($P = 0,023$), acompanhado pelo maior ganho diário de peso ($P = 0,028$).

Tabela 4 - Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA) e peso final de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

Item	¹ Dietas experimentais						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2	² EPM	³ P-valor
0 a 7 dias								
CDR, kg	0,570 b	0,567 b	0,648 a	0,567 b	0,580 b	0,608 ab	0,019	0,023
GDP, kg	0,437 ab	0,360 b	0,495 a	0,429 ab	0,423 ab	0,454 a	0,021	0,028
CA	1,305 b	1,577 a	1,360 b	1,324 b	1,373 b	1,336 b	0,046	0,001
Peso final, kg	10,308	8,925	10,358	9,833	9,767	10,025	0,475	0,819
0 a 16 dias								
CDR, kg	0,613 b	0,595 c	0,673 a	0,588 c	0,562 d	0,585 c	0,020	< 0,001
GDP, kg	0,389	0,350	0,430	0,401	0,379	0,369	0,017	0,194
CA	1,577 b	1,700 a	1,568 b	1,468 b	1,485 b	1,585 b	0,072	0,004
Peso final, kg	13,042	12,013	13,767	13,242	12,867	12,750	0,610	0,932
0 a 32 dias								
CDR, kg	0,783 ab	0,809 ab	0,831 a	0,747 bc	0,724 c	0,758 b	0,027	0,001
GDP, kg	0,375	0,360	0,403	0,351	0,353	0,340	0,015	0,193
CA	2,089 bc	2,247 a	2,064 bc	2,128 b	2,052 c	2,230 a	0,060	< 0,001
Peso final, kg	19,258	17,925	19,775	18,067	18,108	17,725	0,751	0,742

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Durante o período de 0 a 16 dias, o CDR dos animais que receberam dietas com extrato de *Yucca* (EYS) foi menor ($P < 0,001$) em comparação aqueles que consumiram as DC e DCE. Porém, o GDP não foi influenciado ($P > 0,05$) pelas dietas. Observou-se melhora ($P = 0,004$) na conversão alimentar dos leitões quando houve adição de enzimas exógenas nas dietas em comparação a DCY.

Para o período total do experimento (0 a 32 dias), o CDR foi menor quando houve a associação dos aditivos enzimáticos com o EYS ($P = 0,001$). Assim como na fase anterior, as dietas não alteraram o GDP ($P > 0,05$) no período total. Leitões alimentados com DCE+Y1 tiveram melhores índices de CA ($P = 0,001$). O efeito foi contrário para os animais que

receberam apenas o DCY e DCE+Y2. O peso final não foi influenciado ($P > 0,05$) pelos tratamentos dietéticos em nenhum dos períodos analisados.

Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas com aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais sobre a incidência de diarreia (Figura 1).

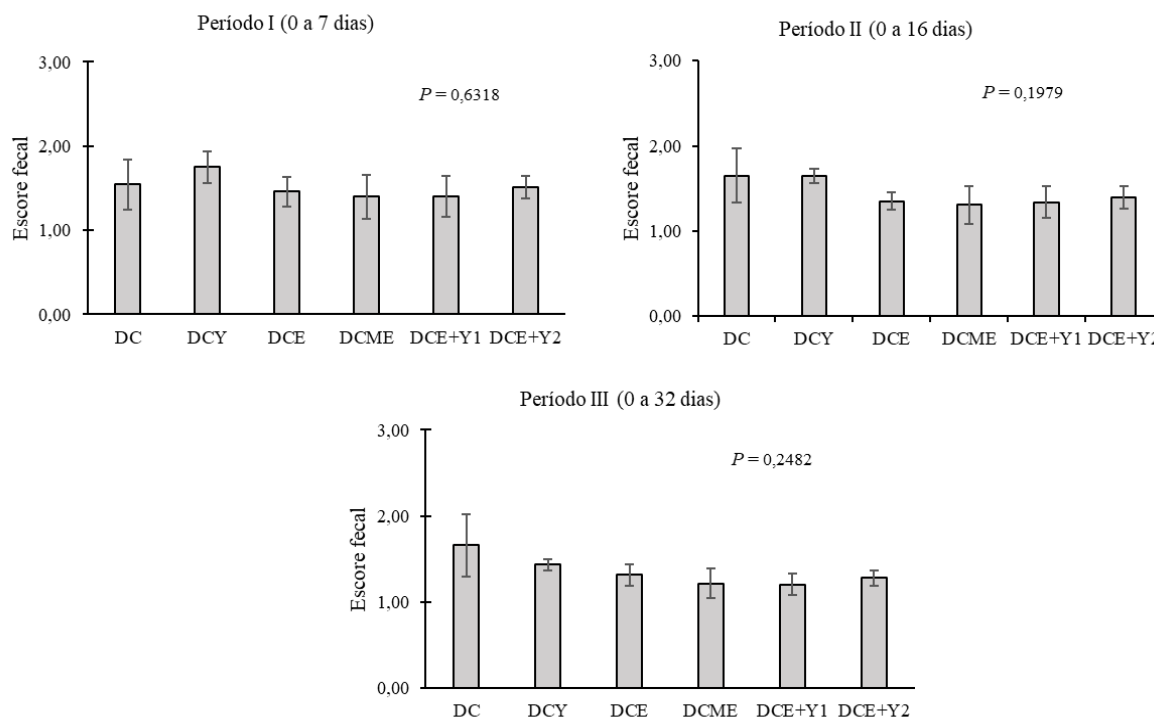


Figura 1 - Incidência de diarreia de leitões alimentados com dietas aditivadas com complexos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais.

DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton).

O efeito de aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais nos coeficientes de digestibilidade aparente total do trato (CDATT) de nutrientes, energia e disponibilidade de minerais está apresentado na Tabela 5. A DCME aumentou ($P = 0,040$) a digestibilidade da MS em comparação a DCE+Y2 e promoveu tendência para maior disponibilidade de MM ($P = 0,057$).

A digestibilidade da MO ($P = 0,022$), FDN ($P = 0,005$), FDA ($P = 0,014$) e energia ($P = 0,006$) foi melhorada com a DCE e DCME em comparação com a DCE+Y2. A DCME proporcionou uma tendência para tornar o Ca mais disponível ($P = 0,064$) em comparação as demais dietas. No geral, houve melhora com a suplementação dos aditivos comparados a DC.

Para a disponibilidade de P, as DCE, DCME e DCE+1 resultaram em aumentos ($P = 0,003$). A DCE+Y2 promoveu menores coeficientes para MS, MO, FDN, FDA, energia e P.

Tabela 5 - Coeficientes de digestibilidade aparente total do trato (CDATT) de nutrientes, energia e disponibilidade de minerais de dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais para leitões desmamados

¹ Dietas	² Item								
	MS	MM	MO	PB	FDN	FDA	Energia	Ca	P
DC	0,937 ab	0,373	0,814 ab	0,773	0,652 bc	0,346 ab	0,802 ab	0,350	0,525 ab
DCY	0,930 ab	0,410	0,787 ab	0,724	0,691 abc	0,394 ab	0,769 ab	0,491	0,542 ab
DCE	0,936 ab	0,380	0,831 a	0,790	0,797 a	0,426 a	0,811 a	0,475	0,610 a
DCME	0,942 a	0,445	0,834 a	0,787	0,755 ab	0,459 a	0,826 a	0,581	0,630 a
DCE+Y1	0,932 ab	0,346	0,809 ab	0,759	0,693 abc	0,352 ab	0,794 ab	0,517	0,586 a
DCE+Y2	0,923 b	0,357	0,772 b	0,730	0,591 c	0,280 b	0,742 b	0,441	0,439 b
³ EPM	0,002	0,012	0,007	0,012	0,018	0,019	0,008	0,022	0,017
⁴ P-valor	0,040	0,057	0,022	0,615	0,005	0,014	0,006	0,064	0,003

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), energia bruta (EB), cálcio (Ca) e fósforo (P). ³ Erro padrão médio. ⁴ Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A retenção e excreção de N fecal não foi alterada pelas dietas ($P = 0,05$). Contudo, observou-se maior retenção ($P = 0,004$) e menor excreção ($P = 0,007$) de P fecal para as DCE, DCME e DCE+Y1 (Tabela 6).

Tabela 6 - Retenção e excreção de nitrogênio e fósforo fecais de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

¹ Dietas	Nitrogênio (g)		Fósforo (g)	
	Retido	Excretado	Retido	Excretado
DC	22,79	6,69	3,56 ab	3,21 ab
DCY	21,19	8,05	3,67 ab	3,15 ab
DCE	22,79	6,03	4,17 a	2,67 b
DCME	22,68	6,13	4,31 a	2,53 b
DCE+Y1	21,95	6,94	3,99 a	2,79 b
DCE+Y2	21,03	7,79	3,01 b	3,85 a
² EPM	0,352	0,355	0,117	0,118
³ P-valor	0,598	0,567	0,004	0,007

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de

complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A DCME apresentou uma tendência a diminuir o peso relativo do fígado ($P = 0,059$), mas não afetou os pesos relativos de pâncreas e baço (Tabela 7).

Tabela 7 - Pesos relativos (%) de órgãos de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

Item	¹ Dietas						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2	² EPM	³ P-valor
Fígado	2,66	2,86	2,55	2,22	2,93	2,57	0,093	0,059
Pâncreas	1,38	1,27	1,51	1,66	1,59	1,56	0,097	0,804
Baço	2,48	2,08	1,72	1,79	1,78	1,94	0,115	0,503

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os parâmetros bioquímicos séricos caracterizados pelos metabólitos (ureia e creatinina), marcadores hepáticos (AST, ALT, GGT e ALP) e minerais (Ca e P) estão apresentados na Tabela 8. O GGT aumentou ($P = 0,014$) no final da fase I (7 dias) quando houve adição de EYS, independentemente do nível de inclusão. Os leitões alimentados com dietas sem adição de EYS, dieta controle (DC) e aditivada com complexo enzimático (DCE) apresentaram níveis de GGT menores do que os dos outros grupos.

No final da fase II (16 dias), observou-se efeito de tendência ($P = 0,056$), com aumento do nível de CRC quando se utilizou a DC em comparação as demais dietas e diminuição do fósforo sérico ($P = 0,043$) por meio da DCE+Y2.

Aos 32 dias, final da fase III, observou-se aumento da AST ($P = 0,007$) nos animais que consumiram dietas suplementadas com EYS, exceto para os que receberam DCE+Y1, que mantiveram o nível igual a DC. Também se observou efeito de tendência ($P = 0,063$) para um maior nível de ALP nos leitões alimentados com DCY e DCE+Y2.

Tabela 8 - Parâmetros bioquímicos séricos de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

² Item	¹ Dietas						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2		
Dia de coleta - 7							³ EPM	⁴ P-valor
UR (mg/dl)	6,13	6,57	1,53	4,93	4,34	2,43	0,87	0,524
CRC (mg/dl)	0,93	0,58	0,71	0,47	0,85	0,43	0,07	0,192
AST (U/L)	62,81	35,34	63,67	45,48	68,89	47,82	4,9	0,318
ALT (U/L)	42,06	25,59	36,63	35,7	33,04	24,52	2,69	0,382
GGT (U/L)	51,42 b	102,25 ab	58,38 b	74,57 ab	139,95 a	76,31 ab	8,12	0,014
ALP (U/L)	283,06	221,41	209,92	175,54	205,94	205,95	10,58	0,051
Ca (mg/dl)	11,64	9,23	10,11	8,61	9,51	7,51	0,51	0,287
P (mg/dl)	9,59	8,09	9,03	6,73	9,49	6,79	0,44	0,204
Dia de coleta - 16								
UR (mg/dl)	9,04	11,74	10,7	12,8	14,19	6,97	1,29	0,674
CRC (mg/dl)	0,91	0,71	0,79	0,55	0,61	0,42	0,05	0,056
AST (U/L)	44,63	57,46	65,29	56,18	44,81	40,76	3,13	0,199
ALT (U/L)	50,18	40,37	47,99	49,3	50,72	35,28	2,81	0,609
GGT (U/L)	51,63	84,59	30,99	45,05	57,65	40,83	5,77	0,195
ALP (U/L)	187,77	277,69	236,72	178,54	209,24	216,14	12,52	0,225
Ca (mg/dl)	12,35	10,57	11,86	11,78	10,89	10,2	0,286	0,299
P (mg/dl)	9,15 a	9,55 a	8,57 ab	7,39 ab	9,11 a	6,43 b	0,43	0,043
Dia de coleta - 32								
UR (mg/dl)	10,33	19,13	11,7	14,7	19,48	10,67	1,6	0,394
CRC (mg/dl)	0,67	0,78	0,61	0,58	0,69	0,64	0,02	0,225
AST (U/L)	39,17 c	75,15 ab	63,39 abc	84,57 a	47,93 bc	62,38 abc	4,27	0,007
ALT (U/L)	47,61	55,39	47,71	62,56	50,379	56,08	2,78	0,643
GGT (U/L)	25,85	55,32	37,02	41,29	60,52	41,28	3,96	0,101
ALP (U/L)	192,26	318,09	194,83	186,61	188,52	309,42	17,85	0,063
Ca (mg/dl)	11,24	12,08	11,04	10,96	10,73	12,31	0,286	0,24
P (mg/dl)	9	10,19	7,13	8,52	9,24	7,3	0,255	0,436

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsolution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Ureia (UR), creatinina (CRC), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), gamaglutamil transferase (GGT), cálcio (Ca) e fósforo (P). ³ Erro padrão médio. ⁴ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme apresentado na Tabela 9, aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais não influenciaram ($P > 0,05$) os parâmetros ósseos de leitões desmamados.

Tabela 9 - Parâmetros ósseos de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

Item	¹ Dietas						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2	² EPM	³ P-valor
Cinzas (%)	36,25	36,97	37,27	34,00	38,79	38,59	0,57	0,185
Índice Seedor (mg/mm)	102,91	101,38	104,32	107,26	108,49	107,17	2,62	0,827
Cálcio (%)	32,66	41,89	32,24	35,35	34,75	40,52	1,42	0,289
Fósforo (%)	7,35	7,18	7,49	6,69	8,09	7,32	0,20	0,613

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β-glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A adição de enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais provocou aumento ($P < 0,001$) na altura de vilosidade no duodeno, bem como a profundidade de cripta ($P < 0,001$) quando comparadas as dos animais alimentados com DC e DCY (Tabela 10).

Tabela 10 - Morfometria intestinal de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

² Item	¹ Dietas						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2	³ EPM	⁴ P-valor
Duodeno								
AV (μm)	396,64 b	417,55 b	458,56 a	461,37 a	464,33 a	471,49 a	3,41	< 0,001
PC (μm)	194,04 c	208,60 bc	231,37 a	228,04 ab	241,453 a	239,321 a	2,18	< 0,001
AV/PC	2,12	2,08	2,03	2,07	1,99	2,02	0,02	0,284
LV (μm)	73,77 e	86,90 d	104,39 b	113,15 a	98,23 c	106,40 b	0,75	< 0,001
EM (μm)	590,68 b	626,15 b	689,93 a	689,41 a	705,78 a	710,81 a	4,87	< 0,001
AA (μm ²)	29.180 e	36.490 d	47.912 bc	51.869 a	45.833 c	50.170 ab	519,04	< 0,001
Jejuno								
AV (μm)	316,00 d	324,06 cd	337,94 bcd	395,86 a	355,04 b	347,54 bc	3,24	< 0,001
PC (μm)	169,85 b	166,26 b	164,77 b	188,21 a	167,45 b	169,67 a	1,71	0,004
AV/PC	1,93 b	2,04 ab	2,12 a	2,15 a	2,17 a	2,11 ab	0,02	0,002
LV (μm)	97,53 b	101,64 ab	104,33 a	102,20 a	76,74 c	79,07 c	0,76	< 0,001
EM (μm)	485,85 b	490,31 b	502,71 b	584,08 a	522,49 b	517,22 b	4,39	< 0,001
AA (μm ²)	30.481 cd	33.391 bc	35.370 b	40.425 a	27.322 d	27.731 d	418,44	< 0,001
Íleo								
AV (μm)	293,71 b	304,05 ab	315,07 ab	325,33 a	295,27 b	321,92 a	2,69	< 0,001
PC (μm)	163,54 ab	156,52 abc	149,53 bc	146,98 c	166,384 a	147,51 bc	1,65	< 0,001
AV/PC	1,84 c	2,02 bc	2,19 ab	2,28 a	1,99 bc	2,27 a	0,02	< 0,001
LV (μm)	95,03 c	89,71 c	94,89 c	109,11 ab	115,63 a	105,75 b	0,84	< 0,001
EM (μm)	457,25	460,56	464,61	472,31	461,65	469,43	3,31	0,776
AA (μm ²)	28.359 b	27.459 b	29.680 b	35.704 a	33.505 a	34.080 a	393,74	< 0,0001

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilosidade/cripta (AV/PC), largura de vilosidade (LV), espessura de mucosa (EM) e área absortiva (AA). ³ Erro padrão médio. ⁴ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A AV/PC do duodeno não foi influenciada ($P > 0,05$) pelas dietas. Entretanto, a largura de vilosidade, espessura de mucosa e área absortiva aumentaram ($P < 0,001$) quando as dietas com aditivos enzimáticos combinados a extratos vegetais foram fornecidas, principalmente a DCME.

A altura de vilosidade do jejuno aumentou ($P < 0,001$) quando os leitões receberam a DCME. No geral, as dietas com aditivos promoveram nos leitões maior altura de vilosidade ($P < 0,001$) em relação aos alimentados com DC. Criptas mais profundas ($P < 0,004$) foram observadas nos leitões alimentados com DCME e DCE+Y2. Houve aumento ($P = 0,002$) da AV/PC quando os animais receberam dietas aditivadas, principalmente para as DCE, DCME e DCE+Y1.

Verificou-se vilosidades mais largas no jejuno ($P < 0,001$) promovidas pelas DCY, DCE e DCME. A espessura de mucosa e área absortiva jejunais aumentaram ($P < 0,001$) com a DCME. Comparadas às demais dietas, a suplementação com EYS associado ou não a DCE, acarretou diminuição ($P < 0,001$) da área absortiva jejunal.

As dietas aditivadas provocaram aumento ($P < 0,001$) na altura de vilosidade no íleo dos leitões, exceto a DCE+Y1, que também induziu a uma maior profundidade de cripta ($P < 0,001$). Criptas menos profundas ($P < 0,001$) foram detectadas no íleo dos animais que receberam dietas aditivadas, com destaque para a DCME. A AV/PC também foi maior ($P < 0,001$) nos leitões que receberam a DCME, seguidos pelos que foram alimentados com DCE+Y2 e DCE.

A largura de vilosidades foi maior ($P < 0,001$) quando os animais receberam as DCE+Y2 e DCME. A espessura de mucosa do íleo não foi influenciada ($P > 0,05$) pelas dietas. Contudo, a área absortiva foi maior ($P < 0,001$) quando ocorreu a associação dos aditivos enzimáticos com os extratos vegetais.

Conforme descrito na Tabela 11, a quantidade de células caliciformes no duodeno não foi afetada ($P = 0,331$) pelas dietas. Todavia, houve tendência ($P = 0,068$) de maior presença de células caliciformes no jejuno dos animais alimentados com a DCE+Y1. Já no íleo, a DCY

resultou em maior ($P = 0,003$) quantidade células caliciformes quando comparadas as demais. A DCE+Y2 diminuiu o número de células caliciformes no jejuno e íleo.

Tabela 11 - Índice de células caliciformes (2000 μm) nas vilosidades de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais

Item	¹ Dietas						Anova	
	DC	DCY	DCE	DCME	DCE+Y1	DCE+Y2	² EPM	³ P-valor
Duodeno	88	85	86	92	86	69	2,92	0,331
Jejuno	61	60	66	72	83	53	2,95	0,068
Íleo	102 ab	107 a	87 abc	80 bc	91 abc	78 c	2,67	0,003

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Erro padrão médio. ³ Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Maiores estoques de glicogênio hepático ($P < 0,001$) foram observados nos animais que consumiram as DCE e DCE+Y2 (Figura 2).

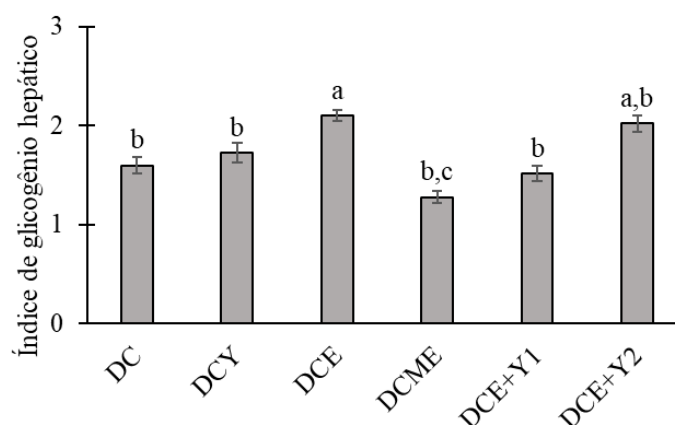


Figura 2 - Índice de glicogênio hepático de leitões desmamados alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos associados ou não extratos vegetais.

DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). Índice de glicogênio hepático: 0 – ausência de estoque de glicogênio hepático; 1 – pouco glicogênio hepático; 2 – glicogênio hepático moderado; 3 – extenso estoque de glicogênio hepático. Médias nas colunas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A suplementação com aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais estimulou significativamente as expressões de mRNA dos genes avaliados (Tabela 12).

Tabela 12 - Efeitos de aditivos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais na abundância relativa normalizada do mRNA de genes no tecido jejunal de leitões desmamados

¹ Dietas	² Item				
	TNF- α	MUC-2	NaPi-IIb	SGLT-1	PEPT-1
DC	2,14 ab	0,41 a	2,78 b	1,84 b	0,91 c
DCY	1,81 ab	0,09 b	2,62 b	2,87 ab	2,97 ab
DCE	2,77 a	0,24 ab	5,93 a	4,30 a	1,54 bc
DCME	1,71 b	0,11 b	2,71 b	2,27 b	2,59 ab
DCE+Y1	1,60 b	0,21 ab	2,33 b	2,07 b	1,94 abc
DCE+Y2	1,48 b	0,12 b	2,32 b	1,54 b	2,97 a
³ EPM	0,173	0,025	0,318	0,245	0,172
⁴ P-valor	0,005	< 0,001	< 0,001	0,001	< 0,001

¹ DC: dieta controle; DCY: DC com 125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* (De-Odorase®; nível de garantia: 65 mg/kg de sapogenina); DCE: DC com 200 g/ton de complexo enzimático (Alltech® Allzyme SSF e+C; níveis de garantia: 700 HUT/g de protease, 300 SPU/g de fitase e 40 CMCU/g de celulase); DCME: DC com 400 g/ton de complexo multienzimático com emulsificante (Alltech® Allzyme Allsotution; níveis de garantia: 640 AJDU/g de pectinase, 386 HUT/g de protease, 60 SPU/g de fitase, 32 BGU/g de β -glucanase, 16 XU/g de xilanase, 8 CMCU/g de celulase, 4,5 FAU/g de amilase e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril - PGRG); DCE+Y1: DC + CE (200 g/ton) + EYS (125 g/ton); DCE+Y2: DC + CE (200 g/ton) + EYS (250 g/ton). ² Fator de necrose tumoral (TNF- α), mucina tipo 2 (MUC-2), transportador de fosfato dependente de sódio tipo 2 (NaPi-IIb), cotransportador de sódio e glicose tipo 1 (SGLT-1), transportador de dipeptídeos e tripeptídeos nos enterócitos (PEPT-1). ³ Erro padrão médio. ⁴ Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O fator de necrose tumoral (TNF- α) foi menos expresso ($P = 0,005$) quando os animais consumiram dietas com extratos vegetais associados ou não a suplementação enzimática. A expressão de mucina tipo 2 (MUC-2) foi menor ($P < 0,001$) no jejuno dos animais alimentados com dietas aditivadas quando comparadas a DC. O transportador de fosfato dependente de sódio tipo 2 (NaPi-IIb), foi mais expresso ($P < 0,001$) quando os animais receberam DCE em comparação as demais dietas.

Para o cotransportador de sódio e glicose tipo 1 (SGLT-1), a DCE provocou maior expressão ($P = 0,001$). Todas as dietas com suplementação foram superiores à dieta controle e provocaram maior expressão ($P < 0,001$) do transportador de dipeptídeos e tripeptídeos nos enterócitos (PEPT-1), principalmente a DCE+Y2.

5.6 DISCUSSÃO

5.6.1 Desempenho produtivo e incidência de diarreia

No primeiro período experimental (0 a 7 dias), o aumento do CDR dos leitões que receberam dietas com complexo enzimático (DCE) e associado ao EYS no nível de 250 g/ton (DCE+Y2) pode ter sido benéfico, uma vez que os animais comumente apresentam redução do CDR devido ao estresse pós-desmame (Shi *et al.*, 2014). Como reflexo desse aumento do CDR, leitões com maior GDP foram registrados ao final da primeira semana de experimento. De 0 a

16 dias, mesmo não sendo observada alteração para o GDP, houve uma redução no CDR, o que piorou a CA quando o EYS foi administrado sozinho (DCY).

No período total (0 a 32 dias), nosso estudo revela que houve piora no desempenho dos animais com a adição de EYS no nível de 125 g/ton (DCY) ou associado ao complexo enzimático em um nível superior de EYS (250 g/ton) (DCE+Y2). Estudos acerca da inclusão de EYS trazem resultados controversos. Há pesquisas que evidenciam leve piora no peso corporal (Gebhardt *et al.*, 2018), enquanto outras relatam melhoria na conversão alimentar (Fan *et al.*, 2022). Estudos futuros são necessários para avaliar os efeitos da inclusão de EYS a longo prazo, uma vez que é provável que ocorra possível toxicidade devido a efeitos antinutricionais causados pelas saponinas em excesso (Dos Reis *et al.*, 2016).

Em comparação com a dieta controle, não houve diferença para o desempenho produtivo no período total (0 a 32 dias) ao adicionar o complexo enzimático (DCE) ou multienzimático associado ao emulsificante (DCME), o que corrobora outros estudos (Barros *et al.*, 2014; Ao, Zhang e Kim, 2019; Brandão Melo *et al.*, 2020). O desempenho semelhante de crescimento dos leitões alimentados poderia ser explicado pelo uso de dietas altamente digestíveis, as quais foram compostas com ingredientes de alta digestibilidade. Desta forma, o efeito das enzimas para melhorar a utilização da ração e o desempenho do crescimento pode ter sido comprometido.

Entretanto, quando o complexo enzimático foi associado ao EYS (DCE+Y1), o desempenho produtivo foi melhorado no período total de experimento. Em estudo meta-analítico, Torres-Pitarch *et al.* (2017) relataram que 61% das pesquisas testando suplementação enzimática apoiam o efeito positivo de enzimas exógenas na melhoria do desempenho de crescimento e eficiência alimentar nas dietas de leitões desmamados.

A utilização de enzimas exógenas combinadas na dieta de suínos é uma ferramenta importante para reduzir os fatores antinutricionais, melhorar a eficiência da digestão e absorção de nutrientes e, conseqüentemente, melhorar o desempenho de crescimento (Duarte *et al.*, 2019). Melhorias no desempenho de leitões foram evidenciadas com inclusões de 120 a 125 g/ton de EYS, as quais foram relacionadas ao aumento da digestão e absorção de nutrientes através da melhoria das funções de barreira intestinal (Colina *et al.*, 2001; Gebhardt *et al.* 2018; Fan *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2021).

Os efeitos positivos do EYS, no nível de 125 g/ton, podem estar associados aos glicocomponentes e saponinas presentes em sua composição (Chen *et al.*, 2021), que combinados aos benefícios do complexo enzimático poderiam explicar a melhoria no desempenho produtivo de leitões aqui relatadas.

Curiosamente, a incidência de diarreia não foi influenciada pelos tratamentos dietéticos, contrariando outras pesquisas que observaram diminuição nos escores fecais diarreicos com a utilização de aditivos enzimáticos (Zhang *et al.*, 2014; Long *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Brandão Melo *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022) ou extratos de *Yucca schidigera* (Yang *et al.*, 2021; Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022).

Em contrapartida, nosso estudo está de acordo com Chen *et al.* (2021), que explicam que o EYS poderia melhorar a taxa de diarreia dos leitões aumentando a capacidade antioxidante, mas o estresse oxidativo durante o desmame pode ter sido muito extenso para ser eliminado com a suplementação.

5.6.2 Digestibilidade aparente total do trato

As melhorias na digestibilidade de MS, MO, FDN, FDA e energia com a utilização da dieta com complexo enzimático (DCE) e multienzimático com emulsificante (DCME) estão associadas a redução dos diferentes fatores antinutricionais presentes nos alimentos que se tornam substratos-alvo para as enzimas exógenas (Adeola *et al.*, 2011).

As carboidrases utilizadas (amilase, celulase, β -glucanase, pectinase e xilanase) foram destinadas a degradar principalmente os compostos presentes na parede celular dos ingredientes de origem vegetal (Ao, Zhang e Kim, 2019). Observamos aumento da disponibilidade, retenção e redução da excreção de P promovido pelas DCE, DCME e DCE+Y1, principalmente quando o complexo multienzimático foi utilizado junto ao emulsificante (DCME), efeito semelhante ao relatado por Neto *et al.* (2021).

Esse efeito também pode estar relacionado com protease presente nos aditivos enzimáticos, responsável por degradar a matriz proteica espessa que recobre os grânulos de amido, combinada com a ação da fitase, uma vez que a hidrólise da molécula de fitato também disponibiliza nutrientes e energia. Os efeitos da suplementação com fitase são bem documentados e tem sido aplicada como uma estratégia nutricional para reduzir o P em dietas de animais, contribuindo para reduzir as preocupações ambientais e econômicas (Torres-Pitarch *et al.*, 2017).

O P inorgânico é um recurso natural limitado e não renovável, e o uso de esterco como fertilizante do solo é uma fonte significativa de contaminação por P, perdendo apenas para a eutrofização da água (Menezes-Blackburn *et al.*, 2015). Logo, a otimização dos níveis de P em dietas de não-ruminantes é altamente investigada devido às preocupações com a excreção de P.

Resultados positivos para o desempenho de crescimento e eficiência alimentar dos leitões provavelmente ocorrem com o uso de combinações de enzimas em dietas à base de

alimentos com alto teor de PNAs e fibras (Kim *et al.*, 2005; Cowieson *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2018), uma vez que estes componentes atuam impedindo a atividade enzimática digestiva sobre os nutrientes dentro da parede celular vegetal.

Enzimas responsáveis por degradar PNAs degradam β -glucana e arabinoxilana na parede celular do endosperma e diminuem a viscosidade da digesta no intestino delgado, fazendo com que as enzimas endógenas se aproximem mais facilmente dos substratos e trabalhem com mais eficiência, uma vez que a viscosidade pode atuar como uma barreira para impedir o contato das enzimas digestivas com seus substratos (Owusu-Asiedu 2010; Passos *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018).

Assim, o aumento da digestibilidade de nutrientes após a suplementação de enzimas combinadas pode ser devido ao resultado da degradação bem-sucedida dos fatores antinutricionais (Duarte *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021). Giang *et al.* (2010) também associaram a melhoria da digestibilidade dos nutrientes da dieta por meio de enzimas exógenas à capacidade digestiva limitada nas primeiras duas semanas pós-desmame, pois o sistema digestivo proteolítico e amilolítico dos leitões não está bem desenvolvido até a 6ª semana de idade.

De acordo com Guo *et al.* (2022), complexos multienzimáticos tiveram efeitos benéficos na utilização de ração, aminoácidos e energia em dietas a base de milho e farelo de soja para leitões nas duas primeiras semanas pós-desmame. Esses resultados indicaram que pode ser possível substituir uma dieta complexa por uma dieta mais simples, pois há possibilidade de que a partir da suplementação enzimática os leitões recém-desmamados extraíam energia e nutrientes dos ingredientes de origem vegetal de forma mais eficiente.

Em nossa pesquisa, observamos uma redução da digestibilidade de nutrientes da dieta com suplementação de complexo enzimático associado a um nível superior de EYS (250 g/ton), incluindo menor retenção e maior excreção de P. Entretanto, estudos indicam que a suplementação com EYS no nível de 125 g/ton melhora o aproveitamento do N amoniacal, o que pode estar relacionado a uma melhor digestibilidade de nutrientes (Fan *et al.*, 2022).

As saponinas presentes no EYS reduzem a concentração de amônia e fornecem um bom ambiente para a digestão e absorção de nutrientes até o nível máximo de 200 g/ton, acima dessa quantidade, efeitos colaterais são relatados (Yen e Pond, 1993). Ainda não é clara a forma de contribuição do EYS, já que se propõe que esse extrato vegetal não seja absorvido pelo trato digestivo e, portanto, não tenha efeito a nível metabólico (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2008).

Kaya, Erdogan e Erdogan (2003) indicam que a nível digestivo, a atividade tensoativa do EYS, em particular pelo seu conteúdo de saponinas, reduz a tensão da membrana celular das microvilosidades, favorecendo a absorção de nutrientes. Shi *et al.* (2014) afirmam que o nível

de inclusão influencia a eficácia das saponinas, que podem ser benéficas para os animais em baixo nível, mas prejudiciais em alto nível, como um fator antinutricional.

5.6.3 Pesos relativos de órgãos e parâmetros bioquímicos séricos

A tendência observada para a diminuição do peso relativo de fígado de leitões alimentados com DCME pode ser devido a presença do emulsificante PGRG, que pode ter contribuído para a digestão de lipídeos presentes na dieta, o que pode ter exigido menos do fígado na produção de bile, reduzindo assim o seu peso relativo.

Não evidenciamos diferenças para os pesos relativos de pâncreas e baço. Contudo, Yang *et al.* (2021) relataram aumento do pâncreas e baço com a inclusão de 120 g/ton de EYS e em doses mais elevadas, Su *et al.* (2016) registraram diminuição do baço, o que pode estar relacionado a diminuição do estado imunológico dos animais.

Dentre os parâmetros séricos avaliados ao final da primeira fase (7º dia), apenas o marcador hepático sérico gamaglutamil transferase (GGT) apresentou diferença entre os tratamentos. As dietas com inclusão de EYS apresentaram maiores concentrações de GGT, contudo os valores estão dentro do esperado para a fase (Kaneko, 1989).

As concentrações dos parâmetros bioquímicos sanguíneos também podem ser utilizadas como indicativos do desempenho produtivo dos animais e o conteúdo de creatinina está altamente correlacionado com o peso e quantidade de massa muscular corporal dos suínos (Wang *et al.*, 2021). Nesse sentido, a ausência de diferença pode ter ocorrido porque a exigência em aminoácidos estava sendo atendida para máxima deposição muscular, conforme observado pelo desempenho semelhante entre os tratamentos.

Aos 32 dias, final da terceira fase, observou-se aumento nos níveis de aspartato aminotransferase (AST) para as dietas suplementadas com EYS, exceto para a DCE+Y1, que manteve o nível igual a DC. Entretanto, os níveis de AST são considerados normais (32 a 84 U/L) por Kaneko (1989). De acordo com Tennant (1997), as enzimas GGT e AST são considerados importantes marcadores da função hepática e avaliação do perfil metabólico enzimático. Lesões no tecido hepático fazem com que essas enzimas extravasem para a circulação sistêmica, alterando assim os seus níveis séricos.

Yang *et al.* (2021) concluíram que o nível de 120 g/ton de EYS na dieta não afetou o teor do marcador hepático sérico ALT, o que indicou que esta adição é segura em leitões desmamados. Todavia, doses mais elevadas de EYS aumentaram o conteúdo de ALT em animais, resultando em efeitos colaterais (Dos Reis *et al.*, 2016).

Embora as saponinas não pareçam ser tóxicas, elas podem causar efeitos adversos quando administradas em altas concentrações (Dos Reis *et al.*, 2016). Portanto, os níveis mais elevados de ALP séricos dos leitões alimentados com DCY e DCE+Y2 podem estar relacionados com o aumento da permeabilidade intestinal e diminuição de sua integridade (Bilski *et al.*, 2017; Celi *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2022).

É sabido que a concentração sérica de P aumenta proporcionalmente com a concentração de P na dieta (Dellaert *et al.*, 1990; Eeckhout *et al.*, 1995). Além disso, a suplementação de dietas com fitase resulta em aumento de P sérico (Gentile *et al.* 2003; Beaulieu *et al.* 2007). Lu *et al.* (2016), confirmaram que leitões alimentados com dietas com maiores teores de Ca e P também apresentaram maiores concentrações séricas de Ca e P.

A suplementação enzimática não promoveu efeitos nas concentrações de Ca e P séricos. Entretanto, observamos diminuição do P sérico quando houve maior inclusão de EYS (250 g/ton) ao final da segunda fase (16º dia). Foi constatado uma redução de 28,03% no CDTT de P na DCE+Y2 em comparação a DCE, sugerindo que a suplementação com EYS no nível de 250 g/ton diminuiu a utilização de minerais, uma vez que a menor concentração sérica de P diminuiu em 24,97% nessa mesma condição.

5.6.4 Parâmetros ósseos

O fornecimento eficiente de P durante a fase inicial de produção de suínos é crucial para atingir a máxima mineralização óssea durante as fases posteriores da vida do animal (Brandão Melo *et al.*, 2020). Geralmente os efeitos da suplementação enzimática sobre os parâmetros ósseos são revelados quando os animais são alimentados com dietas com redução nutricional, principalmente nos níveis de Ca e P, que podem promover reduções na composição mineral óssea para cinzas, Ca e P (Brandão Melo *et al.*, 2020).

Como não houve redução nutricional nas dietas em questão, a ausência de diferença para a composição mineral óssea e índice Seedor pode assim ser explicada. Contudo, o papel da fitase foi fundamental em nosso estudo, pois houve redução na excreção de P com as suplementações enzimáticas que possuem fitase em sua composição e quando associadas aos extratos vegetais. Foi proposto que carboidrases como a xilanase e a β -glucanase hidrolisem os PNAs e facilitem o acesso da fitase ao fitato, seu substrato, resultando em melhor utilização do P fítico e parâmetros ósseos aprimorados (Lu *et al.*, 2013).

Pesquisas relataram restauração das cinzas ósseas em dietas com redução de Ca e P dietético adicionadas de enzimas exógenas (Omogbenigun *et al.*, 2004; Shim *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2016). O hormônio da paratireoide (PTH) regula a concentração de Ca no sangue e o Ca

é liberado dos ossos quando o Ca da dieta é baixo (Persson *et al.*, 1993). É possível que baixos teores de Ca em dietas com redução nutricional resultem em menores teores de cinzas ósseas, talvez devido à ação do PTH, e que a suplementação enzimática aumente a disponibilidade de Ca, levando à restauração parcial das cinzas ósseas (Lu *et al.*, 2016).

Além disso, as dietas não são formuladas para alcançar o máximo ganho e eficiência alimentar porque os níveis de P nas dietas dos animais são limitados por regulamentações ambientais e elevados custos com alimentação (Cromwell *et al.*, 1980). Assim, o aumento da absorção de P promovido pela suplementação é uma estratégia eficiente para resolver problemas de deposição mineral óssea e desenvolvimento esquelético relacionados aos níveis de P nas dietas dos leitões (Brandão Melo *et al.*, 2020).

Cheke *et al.* (2006) sugeriram um possível papel dos componentes do EYS na prevenção de artrite por atividade anti-inflamatória, por meio das substâncias contidas no extrato vegetal que aumentam a absorção de nutrientes e potencialmente afetam o metabolismo ósseo.

Ainda, o EYS contém polifenólicos anti-inflamatórios, como resveratrol e yuccaols A, B, C, D e E (Oleszek *et al.*, 2001; Piacente *et al.*, 2004). Os yuccaols potencialmente mostram a ação anti-inflamatória devido à sua propriedade de inibir a expressão de óxido nítrico sintase (iNOS), enzima que catalisa a produção de óxido nítrico a partir da L-arginina, aminoácido essencial nas primeiras semanas de vida dos leitões (Marzocco *et al.*, 2004).

Em resposta aos mediadores inflamatórios, o óxido nítrico derivado da iNOS ativa os osteoclastos e pode aumentar a reabsorção óssea (Van't Hof *et al.*, 2000). A expressão de iNOS é controlada pelo ativador do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), um membro ligado à membrana da família fator de necrose tumoral (TNF), essencial para a diferenciação dos osteoclastos (Van't Hof *et al.*, 2000). Segundo Marzocco *et al.* (2004) o resveratrol e os fenólicos da EYS inibem fortemente o NF- κ B. Associados a estes componentes presentes nesse extrato vegetal, efeitos positivos na qualidade óssea em suínos no período pós-desmame foram relatados por Puzio *et al.* (2016).

5.6.5 Morfometria, células caliciformes e glicogênio hepático

O estresse do desmame foi associado à destruição da morfologia intestinal (Spreeuwenberg *et al.*, 2001) e comprometimento da barreira intestinal (Carey, Hayden e Tucker, 1994). Assim, a altura e largura de vilosidades, profundidade da cripta, relação AV/PC, espessura de mucosa e área absorptiva são índices importantes para avaliar a função de absorção do intestino delgado (Yang *et al.*, 2021). Estudos demonstraram que o estresse do desmame

pode facilmente causar alteração na morfologia intestinal, incluindo diminuição na altura de vilosidade e aumento na profundidade de cripta no intestino (Leonard *et al.*, 2011).

Isso geralmente resulta na perda de enzimas transportadoras de enterócitos maduros na borda em escova, como aminopeptidases e carboidrases, e subsequentemente reduz a digestibilidade de nutrientes, especialmente proteínas e carboidratos (Kluess *et al.*, 2010). Portanto, os leitões desmamados podem enfrentar uma redução severa na altura das vilosidades, o que pode diminuir a capacidade de absorção, uma vez que as vilosidades intestinais são o local de absorção de nutrientes (Long *et al.*, 2021).

Outro fator é o conteúdo de glicina e β -conglucina na dieta composta principalmente por milho e farelo de soja para suínos (Zhao *et al.*, 2008). A presença dessas globulinas na dieta pode ativar o sistema imunológico e causar danos aos enterócitos, reduzir o comprimento das vilosidades e aumentar a profundidade das criptas e proliferação celular (Duarte *et al.* 2019). Isso induz ao organismo mobilizar nutrientes para reparar o epitélio intestinal, função imunológica e proliferação celular (Xu, 2014).

Os valores de aumento da altura e largura de vilosidades, bem como a espessura de mucosa e área absorptiva duodenais verificados estão relacionados com a suplementação enzimática associada ou não a extratos vegetais. A profundidade de cripta acompanhou o desenvolvimento da altura de vilosidade para cada tratamento, consequentemente, não houve alteração na relação AV/PC.

As vilosidades jejunais foram aumentadas com a suplementação enzimática associada a extratos vegetais, principalmente quando o complexo multienzimático associado ao emulsificante (DCME) foi incluso. Diferentemente do duodeno, a relação AV/PC foi melhorada quando os leitões receberam DCE, DCME e DCE+Y1 em comparação a DC. Vilosidades jejunais mais largas foram observadas em função dos tratamentos DCE e DCME, com maior espessura de mucosa e área absorptiva promovidas pela DCME, provavelmente pela maior quantidade de enzimas exógenas presentes no produto, potencializadas pela ação do emulsificante.

No íleo, os resultados foram semelhantes às outras frações do intestino, indicando que a associação de enzimas exógenas com extratos vegetais melhora a morfometria intestinal, o que está diretamente relacionado com nossos resultados de digestibilidade de nutrientes e aproveitamento energético, refletidos na eficiência produtiva dos leitões. As propriedades físico-químicas da digesta, devido a maior presença de PNAs, podem atuar diretamente em moléculas do epitélio intestinal (Adeola e Cowieson, 2011; Ruemmele *et al.*, 2002).

Outros estudos também apontam melhorias na estrutura epitelial de leitões desmamados alimentados com enzimas exógenas combinadas (Yi *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2015, Duarte *et al.*, 2019; Long *et al.*, 2021). Pesquisas sugerem que a espessura da mucosa do intestino delgado também pode ser aumentada pela suplementação dietética com EYS em suínos por meio do aumento de vilosidades (Valverde Piedra *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2021; Fan *et al.*, 2022).

De acordo com Shonyela *et al.* (2020), as células epiteliais das vilosidades normalmente caem, enquanto as células esfoliadas migram, diferenciam-se e produzem células maduras no vilo, desde a base da cripta até a extremidade do vilo, enquanto a profundidade da cripta torna-se mais rasa, a taxa de maturação das células epiteliais e a capacidade de absorção das vilosidades aumentam.

A integridade da morfologia e estrutura intestinal é uma condição necessária para manter o crescimento e o estado saudável dos leitões, onde a proporção entre a altura das vilosidades intestinais e a profundidade das criptas refletem diretamente na digestibilidade dos nutrientes e na função de absorção gastrointestinal (Li *et al.*, 2021). Uma relação maior entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas é mais favorável para a digestão e absorção de nutrientes por suínos (Montagne *et al.*, 2003).

O presente estudo constatou que enzimas exógenas combinadas associadas a extratos vegetais melhoraram a morfologia intestinal de leitões desmamados. Supomos que os resultados positivos observados podem ser devido ao aumento do consumo de ração de leitões desmamados nas dietas com suplementação e melhoria da digestibilidade das dietas, pois foi relatado que o alto consumo de ração após o desmame pode melhorar a morfologia do intestino delgado em leitões desmamados (Zhu *et al.*, 2022).

No intestino, as células caliciformes secretam mucinas que formam uma camada de muco, que serve como uma barreira para evitar que os antígenos se liguem ao epitélio intestinal (Xiong *et al.*, 2019). Portanto, a espessura dessa camada de muco e o número de células caliciformes são essenciais para prevenir a invasão de patógenos (Song *et al.*, 2022).

O número de células caliciformes jejunais foi aumentado pela suplementação enzimática associado ao EYS no nível de 125 g/ton (DCE+Y1), o que pode ser devido a uma morfologia intestinal melhorada. Entretanto, observamos uma diminuição na quantidade de células caliciformes jejunais e ileais quando o EYS foi adicionado em um nível superior (250 g/ton).

No intestino, toxinas podem causar inflamação e diminuir a função de barreira intestinal promovida pelo muco (Song *et al.*, 2022). Apesar da eficácia e benefícios da inclusão em baixos níveis das saponinas presentes no EYS para animais, sua administração em altas concentrações

pode causar efeitos adversos e agir como fator antinutricional (Shi *et al.*, 2014; Dos Reis *et al.*, 2016).

O fígado desempenha um papel crucial na manutenção da homeostase sistêmica da glicose, e essa função é baseada na mudança reversível entre a síntese e a degradação do glicogênio, bem como entre a glicólise e a gliconeogênese (Miethke *et al.*, 1986). Verificamos um aumento no índice de glicogênio hepático com a suplementação com complexo enzimático (DCE). Provavelmente, a maior digestibilidade de nutrientes tenha aumentado a disponibilidade de glicose para posterior absorção.

No estado absorptivo, quando a glicose proveniente da digestão de carboidratos é abundante, os níveis de insulina são elevados e o fígado aumenta a captação de glicose por meio da absorção de glicose pelos hepatócitos e subsequente transformação em glicogênio e lipídios (Xie *et al.*, 2016).

Na maioria dos tecidos, o glicogênio serve como fonte de glicose-6-fosfato (G6P) para a glicólise. No entanto, no fígado, a G6P serve como fonte de glicose para manter a homeostase da glicose sanguínea no intervalo entre as refeições (Khare e al., 1999). A G6P não é apenas um inibidor alostérico da glicogênio-fosforilase, mas também um ativador alostérico da glicogênio-sintase, aumentando assim os níveis de glicogênio hepático (Agius *et al.*, 2008).

Curiosamente, quando houve a associação com extratos vegetais, o índice de glicogênio hepático diminuiu, tornando-se equivalentes a dieta controle para esse parâmetro, exceto para a DCE+Y2, que manteve o nível elevado, semelhante a DCE.

5.6.7 Expressão gênica relativa de TNF- α e transportadores de nutrientes jejunais

O fator de necrose tumoral (TNF- α) é um tipo comum de citocina pró-inflamatória. Verificamos que a associação de enzimas exógenas combinadas a extratos vegetais diminuiu a expressão relativa de mRNA do TNF- α . O mecanismo de ação de enzimas exógenas associado à redução dos parâmetros de resposta inflamatória em leitões ainda não está claro (Moita *et al.*, 2022).

O emulsificante PGRG, presente na DCME, pode ter colaborado para uma melhor digestão lipídica e favorecido o melhor aproveitamento energético que verificamos para essa dieta, intensificando os benefícios do complexo multienzimático, o que pode ter reduzido a concentração de mRNA relativa do TNF- α .

A hidrólise de PNAs e do fitato da dieta por carboidrases e fitase, respectivamente, geram oligossacarídeos que aliados à redução na viscosidade da digesta podem contribuir para a redução de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , conhecidas como mediadoras de

resposta do sistema imunológico, o que pode ajudar a melhorar a função imunológica nos leitões (Lee *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2020; Agyekum *et al.*, 2015).

Por sua vez, o EYS é rico em resveratrol, que pode causar reduções substanciais do TNF- α (Wenzig *et al.*, 2008). Por outro lado, as saponinas, como principal substância ativa no EYS, podem reduzir a resposta inflamatória (Cheeke *et al.*, 2006). A fração de saponina de protopanaxadiol (PPD-SF) diminuiu a liberação de algumas citocinas inflamatórias, dentre elas o TNF- α , regulando negativamente a expressão de mRNA do gene (Yang *et al.*, 2015).

Estas podem ser as razões pelas quais enzimas exógenas associadas a extratos vegetais aliviam a inflamação leitões na fase inicial provocada pelo estresse do período pós-desmame. Todavia, existem poucos estudos relatando o efeito de enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais na função imune em leitões desmamados, e esse efeito pode estar relacionado ao estágio fisiológico do animal, composição da dieta e dosagem de enzimas. Logo, o achado atual ainda precisa ser mais investigado.

A barreira intestinal é composta principalmente por células epiteliais e uma camada mucosa que cobre o epitélio (France e Turner, 2017). Fan *et al.* (2022) relataram maior expressão relativa de mRNA de MUC-2 no jejuno de leitões desmamados alimentados com dietas com suplementação de 125 g/ton de EYS. Assim, sugeriram que há relação entre os componentes ativos do EYS (saponinas, fenólicos e polissacarídeos) e a função da barreira intestinal.

Apesar da produção de muco ser um indicativo de maior proteção da barreira intestinal, relacionada com a contagem de células caliciformes verificadas em nossa pesquisa, uma maior expressão relativa de mRNA de MUC-2 no jejuno dos animais alimentados com a DC também pode indicar um maior *turnover* de células intestinais causada pela menor digestibilidade de nutrientes (Lu *et al.*, 2016), indicando uma possível preservação da integridade jejunal com a suplementação enzimática associada ou não a extratos vegetais, uma vez que o MUC-2 foi menos expresso para esses tratamentos dietéticos.

Uma maior expressão relativa de mRNA do MUC-2 foi encontrado na dieta controle, corroborando Lu *et al.* (2016) em pesquisa com suplementação de carboidrases (xilanase e β -glucanase) e fitase, em que observaram maior nível do MUC-2 para a dieta controle com redução nutricional. Uma taxa mais alta de renovação de mucina geralmente resulta em uma expressão relativa mais alta do mRNA do MUC-2 (Shekels *et al.*, 2001).

O transportador intestinal de fosfato dependente de sódio tipo 2 (NaPi-IIb) é responsável pela absorção ativa de P através da membrana da borda em escova dos enterócitos (Hilfiker *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 2002). Em nossa pesquisa, a DCE promoveu um aumento de 53,12% na

expressão relativa de mRNA de NaPi-IIb no jejuno dos leitões em comparação ao grupo controle.

Provavelmente, a presença da fitase no complexo enzimático influenciou esse aumento, correlacionado com a disponibilidade e retenção de P, elevadas em 13,93 e 14,63%, respectivamente, quando comparadas a DC. Esse efeito foi semelhante ao encontrado por Vigors *et al.* (2014), que relataram que a adição de fitase melhorou a disponibilidade de P ao passo que a expressão relativa de mRNA de NaPi-IIb jejunal aumentou.

A ausência de efeito na expressão relativa de mRNA de NaPi-IIb para as outras dietas aditivadas em nosso estudo, pode ser devido ao domínio da absorção passiva (paracelular) de P (Vigors *et al.*, 2014). Acredita-se que o modo primário de absorção intestinal de P ocorre pela via paracelular quando o P é fornecido de acordo com a exigência nutricional ou em níveis acima. Entretanto, em períodos de privação de P, a rota transcelular ativa torna-se dominante (Stein *et al.*, 2008; Sabbagh *et al.*, 2011).

Pesquisas recentes mostraram que o SGLT-1 e PEPT-1 foram amplamente localizados na mucosa intestinal, onde servem como os principais transportadores de glicose e peptídeos, respectivamente (Thongsong *et al.*, 2019). Verificamos em nosso estudo que a suplementação com protease, celulase e fitase (DCE) aumentou em 54,2% a expressão relativa de mRNA de SGLT-1 no jejuno de leitões desmamados em comparação ao tratamento controle. A suplementação enzimática associada ou não a extratos vegetais aumentou a expressão de mRNA de PEPT-1 em relação a dieta controle, com destaque para as DCY e DCE+Y2.

Como já relatado em nossa pesquisa, a suplementação com estes aditivos, por meio da hidrólise de fatores antinutricionais, pode aumentar a disponibilidade de glicose e peptídeos, sujeitos aos processos absorptivos, o que pode favorecer o aumento da expressão relativa de mRNA dos transportadores intestinais jejunais SGLT-1 e PEPT-1, explicando o aumento observado nos coeficientes de digestibilidade total do trato.

De acordo com Zhu *et al.* (2022), a suplementação enzimática com carboidrases aumentou as expressões relativas de mRNA do SGLT-1 e tendeu a elevar a de PEPT-1 no jejuno de leitões desmamados. Em pesquisa *in vitro* com enterócitos intestinais isolados do jejuno de leitões recém-nascidos não-amamentados (IPEC-J2), constatou-se que o amido foi hidrolisado pela α -amilase e aumentou a expressão relativa de mRNA do SGLT-1 (Xiang, 2011).

Nossa pesquisa está de acordo com os achados de Fan *et al.* (2022), que relataram maior expressão de mRNA relativo de SGLT-1 na mucosa jejunal de leitões desmamados alimentados com dietas com suplementação de 125 g/ton de EYS e, apesar de não ter relatado diferença para a expressão de mRNA de PEPT-1, os autores encontraram aumentos para as expressões relativas

de mRNA de transportadores de aminoácidos (CAT-1, ASCT-1 e rBAT) e ácidos graxos (FATP-4), transportadores benéficos para o transporte transmembranar de nutrientes e que desempenham papéis importantes em uma ampla gama de atividades celulares, como liberação de metabólitos e transdução de sinal.

5.7 CONCLUSÕES

Combinações de enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais (125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril) em dietas para leitões desmamados otimizam a eficiência produtiva, promovem melhorias para a digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos e morfometria intestinal, bem como contribuem na saúde intestinal e reduzem a excreção de P. Mais pesquisas são necessárias acerca dos níveis de inclusão do extrato de *Yucca schidigera* para leitões desmamados.

REFERÊNCIAS

- ADEGBEYE, M.J. *et al.* Antimicrobial and antihelminthic impacts of black cumin, pawpaw and mustard seeds in livestock production and health. **Agroforestry Systems**, p.1-14, 2019.
- ADEOLA, O. Digestion and balance techniques in pigs. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Ed.). **Swine nutrition**. 2 th ed. Boca Raton: CRC Press., p. 903-916, 2001.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve on ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, 89, n. 10, p. 3189–3218, 2011.
- AGIUS, L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. **Biochemical Journal**, 414, n.1, p.1-18, 2008.
- AGYEKUM, A.K. *et al.* Effect of supplementing a fibrous diet with a xylanase and glucanase blend on growth performance, intestinal glucose uptake, and transport-associated gene expression in growing pigs. **Journal of Animal Science**, n.93, p. 3483-3493, 2015.
- AO, X.; ZHANG, S.; KIM, I. H. Effect of carbohydrases on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, and fecal microbiota in weanling pigs fed reduced energy diet. **Canadian Journal of Animal Science**, 100, n. 1, p. 126-132, 2020.
- ARANDA-AGUIRRE, E.; ROBLES-JIMENEZ, L. E.; OSORIO-AVALOS, J.; VARGAS-BELLO-PEREZ, E. *et al.* A systematic review on the role of exogenous enzymes on the productive performance at weaning, growing and finishing in pigs. **Veterinary and Animal Science**, 2021.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official methods of analysis**, volume 2, 18th edition. AOAC, Maryland, USA, 2005.
- BARROS, P. C.; DE OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C. E.; NUNES, R. V. Effect of enzymes addition on the total tract apparent digestibility of piglet diets. **Semina: Ciências Agrárias**, 35, n. 4, p. 2211-2218, 2014.
- BEAULIEU, A.D., BEDFORD, M.R., PATIENCE, J.F. Supplementing corn or corn–barley diets with and *E. coli* derived phytase decreases total and soluble P output by weanling and growing pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, n.87, p. 353–364, 2007.
- BILSKI, J., *et al.* The role of intestinal alkaline phosphatase in inflammatory disorders of gastrointestinal tract. **Mediators of Inflammation**, 2017
- BONTEMPO, V., COMI, M., JIANG, X.R. The effects of a novel synthetic emulsifier product on growth performance of chickens for fattening and weaned piglets. **Animals** 10, 592–597, 2016.
- BRANDÃO MELO, A. D.; DE OLIVEIRA, A. C. D. F.; DA SILVA, P.; OS SANTOS, J. B. *et al.* 6-phytase and/or endo- β -xylanase and -glucanase reduce weaner piglet's diarrhea and improve bone parameters. **Livestock Science**, v. 238, 2020.

CAREY, H.V.; HAYDEN, U.L.; TUCKER, K.E. Fasting alters basal and stimulated ion transport in piglet jejunum. **American Physiological Society Journal**, n. 267, p. 156–163, 1994.

CELI, P. *et al.* Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health. **Animal Feed Science and Technology**, v.250, p. 9–31, 2019.

CHEEKE, P.R., PIACENTE, S., OLESZEK, W. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Yucca schidigera*: A review. **Journal of Inflammation**, n.3, p. 6-12, 2006.

CHEN, F.; LV, Y.; ZHU, P.; CUI, C. *et al.* Dietary *Yucca schidigera* Extract Supplementation During Late Gestating and Lactating Sows Improves Animal Performance, Nutrient Digestibility, and Manure Ammonia Emission. **Frontiers in veterinary science**, 8, p. 676324–676324, 2021.

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, 2020.

COLINA, J. J.; LEWIS, A. J.; MILLER, P. S.; FISCHER, R. L. Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. **Journal of animal science**, 79, n. 12, p. 3096-3103, 2001.

COWIESON, A.J., RUCKEBUSCH, J.P., SORBARA, J.O.B., WILSON, J.W. *et al.* A systematic view on the effect of microbial phytase on ileal amino acid digestibility in pigs. **Animal Feed Science and Technology**, n. 231, p. 138–149, 2017.

CROMWELL, G.L. Biological availability of phosphorus for pigs. **Feedstuffs**, n. 52, v.9, p. 38–42, 1980.

DELLAERT, B.M.; VAN DER PEET, G.F.V.; JONGBLOED, A.W.; BEERS, S. A comparison of different techniques to assess the biological availability of feed phosphates in pig feed. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, n. 38, p. 555–566, 1990.

DOS REIS, J.S; ZANGERÔNIMO, M.G; OGOSHI, R.C.; FRANÇA, J. *et al.* Inclusion of *Yucca schidigera* extract in diets with different protein levels for dogs. **Animal Science Journal**, n. 8, p. 19-27, 2016.

DUARTE, M. E.; ZHOU, F. X.; DUTRA, 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, n. 4, p. 351-358, 2019.

ECKHOUT, W.; DE PAEPE, M.; WARNANTS, N.; BEKAERT, H. An estimation of the mineral P requirements for growing finishing pigs, as influenced by the Ca level of the diet. **Animal Feed Science and Technology**, n.52, p.29–40, 1995.

ESPINOSA-MUÑOZ, V. *et al.* Efecto del extracto de *Yucca schidigera* en el perfil bioquímico y hemático de cerdos en crecimiento y engorde. **Revista Científica (Maracaibo)**, v. 18, n. 1, p. 51-58, 2008.

FAN, X.; XIAO, X.; CHEN, D.; YU, B. *et al.* *Yucca schidigera* extract decreases nitrogen emission via improving nutrient utilisation and gut barrier function in weaned piglets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 106, n. 5, p. 1036-1045, 2022.

FRANCE, M. M.; TURNER, J. R. The mucosal barrier at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 130, n. 2, p. 307–314, 15 jan. 2017.

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**, n. 81, p. 2751–2757, 2003.

GIANG, H. H.; VIET, T. Q.; LINDBERG, J. E.; OGLE, B. Effects of microbial enzymes and a complex of lactic acid bacteria and *Saccharomyces boulardii* on growth performance and total tract digestibility in weaned pigs. **Livestock Research for Rural Development**, 22, n. 10, 2010.

GUO, J.; WILSON, T. B.; CHIBA, L. I.; SPANGLER, E. A. *et al.* Effect of diet complexity and dietary fish peptide and enzyme complex supplementation on weanling pigs. **Livestock Science**, 263, 2022.

HILFIKER, H.; HATTENHAUER, O.; TRAEBERT, M.; FORSTER, I.; MURER, H.; BIBER, J. Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.95, p. 14564-14569, 1998.

JIANG, X.R.; AWATI, A; AGAZZI, A; VITARI, F; FERRARI, A; BENTO, H; CRESTANI, M; DOMENEGHINI, C; BONTEMPO, V. Effects of a blend of essential oils and an enzyme combination on nutrient digestibility, ileum histology and expression of inflammatory mediators in weaned piglets. **Animal**, n.9, p.417–426, 2015.

KAYA, S.; ERDOGAN, Z.; ERDOGAN, S. Effect of different dietary levels of *Yucca schidigera* powder on the performance, blood parameters and yolk cholesterol of laying quails. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 50, p. 14-17, 2003.

KHARE, S.; BISSONNETTE, M.; WALI, R. *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D-3 but not TPA activates PLD in caco-2 cells via pp60 (c-src) and RhoA. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.276, n. 4, p. 1005-1015, 1999.

KIM, J. C.; SIMMINS, P. H.; MULLAN, B. P.; PLUSKE, J. R. The effect of wheat phosphorus content and supplemental enzymes on digestibility and growth performance of weaner pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 118, n. 1-2, p. 139-152, 2005.

KLUESS, J.; SCHOENHUSEN, U; SOUFFRANT, W. B; JONES, P. H.; MILLER, B. G. Impact of diet composition on ileal digestibility and small intestinal morphology in early-weaned pigs fitted with a T-cannula. **Animal**, n. 4, p. 586–594, 2010.

LEE, S.A.; BEDFORD, M.R. Inositol—An effective growth promotor? **World's Poultry Science Journal**, v. 72, p. 743–760, 2016.

LEONARD, S. G.; SWEENEY, T.; BAHAR, B.; LYNCH, B. P.; O'DOHERTY, J. V. Effects of dietary seaweed extract supplementation in sows and post-weaned pigs on performance,

intestinal morphology, intestinal microflora and immune status. **British Journal of Nutrition**, n. 1, p. 1–12, 2011.

LI, Q.; GABLER, N. K.; LOVING, C. L.; GOULD, S. A. *et al.* A dietary carbohydrase blend improved intestinal barrier function and growth rate in weaned pigs fed higher fiber diets. **Journal of Animal Science**, 96, n. 12, p. 5233-5243, 2018.

LI, Z.; TANG, L.; LIU, N.; ZHANG, F. *et al.* Comparative Effects of Compound Enzyme and Antibiotics on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Biochemical Index, and Intestinal Health in Weaned Pigs. **Frontiers in Microbiology**, 12, p. 768767, 2021.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2[−]ΔΔCT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LONG, S.; HU, J.; MAHFUZ, S.; MA, H. *et al.* Effects of dietary supplementation of compound enzymes on performance, nutrient digestibility, serum antioxidant status, immunoglobulins, intestinal morphology and microbiota community in weaned pigs. **Archives of Animal Nutrition**, 75, n. 1, p. 31-47, 2021.

LU, H.; ADEDOKUN, S.A.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P.A., ADEOLA, O.; AJUWON, K.M. Impact of exogenous carbohydrases and phytase on growth performance and nutrient digestibility in broilers. **Canadian Journal of Animal Science**, n. 93, p. 243–249, 2013.

LU, H.; PREYNAT, A.; LEGRAND-DEFRETIN, V.; GERAERT, P. A. *et al.* 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, n. 2, p. 243-251, 2016.

MA, K.; ZHANG, H.; BALOCH, Z. Pathogenetic and therapeutic applications of tumor necrosis factor-α (TNF-α) in major depressive disorder: A Systematic Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 733, 2016.

MARZOCCO, S.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; OLESZEK, W.; STOCHMAL, A.; PINTO, A.; SORRENTINO, R.; AUTORE, G. Inhibition of inducible nitric oxide synthase expression by yuccaol C from *Yucca schidigera roezl.* **Life Sciences**, n. 75, p. 1491–1501, 2004.

MENDOZA, S.M., VAN HEUGTEN, E. Effects of dietary lipid sources on performance and apparent total tract digestibility of lipids and energy when fed to nursery pigs. **Journal of Animal Science**, 92, 627–636, 2014.

MENEZES-BLACKBURN, D., GABLER, S., GREINER, R. Performance of seven commercial phytases in an in vitro simulation of poultry digestive tract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2015.

MIETHKE, H.; WITTIG, B.; NATH, A. *et al.* Gluconeogenic-glycolytic capacities and metabolic zonation in liver of rats with streptozotocin, non-ketotic as compared to alloxan, ketotic diabetes, **Histochemistry**, v.85, n.6, p. 483-489, 1986.

- MONTAGNE, L.; PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, n. 108, p. 95–117, 2003.
- MOREIRA FILHO, A.L.B.; OLIVEIRA, C.J.B.; OLIVEIRA, H.B. *et al.* High Incubation Temperature and Threonine Dietary Level Improve Ileum Response Against Post Hatch Salmonella Enteritidis Inoculation in Broiler Chicks. **Plos One**, 2015.
- NETO, M. A. T.; GALLARDO, C.; PERNA, F.; DADALT, J. C. Apparent total and ileal digestibility of rice bran with or without multicarbohydase and phytase in weaned piglets. **Livestock Science**, 245, 2021.
- OLESZEK, W.; SITEK, M.; STOCHMAL, A.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; CHEEKE, P. Resveratrol and other phenolics from the bark of *Yucca schidigera* Roezl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 49, p. 747–752, 2001.
- OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. Dietary supplementation with multienzyme preparations improves nutrient utilization and growth performance in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, 82, n. 4, p. 1053-1061, 2004.
- OWUSU-ASIEDU, A.; SIMMINS, P. H.; BRUFAU, J.; LIZARDO, R. *et al.* Effect of xylanase and beta-glucanase on growth performance and nutrient digestibility in piglets fed wheat-barley-based diets. **Livestock Science**, 134, n. 1-3, p. 76-78, 2010.
- PARK, S.; LI, W. T.; ST-PIERRE, B.; WANG, Q. *et al.* Growth performance, nutrient digestibility, and fecal microbial composition of weaned pigs fed multi-enzyme supplemented diets. **Journal of Animal Science**, 98, n. 10, 2020.
- PASSOS, A. A.; PARK, I.; FERKET, P.; VON HEIMENDAHL, E. *et al.* 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**, 1, p. 19–23, 2015.
- PERSSON, P.; GAGNEMO-PERSSON, R.; HÅKANSON, R. The effect of high or low dietary calcium on bone and calcium homeostasis in young male rats. **Calcified Tissue International**, n.52, p.460–464, 1993.
- PIACENTE, S.; MONTORO, P.; OLESZEK, W.; PIZZA, C. *Yucca schidigera* bark: Phenolic constituents and antioxidant activity, **Journal of Natural Products**, n. 67, p. 882–885, 2004.
- RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tta McGraw – Hill, Publishing Company Limited, p. 94-95, 1979.
- ROSTAGNO, H.S. *et al.* **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 2017.
- RUEMMELE, F.M.; BEAULIEU, J.F.; DIONNE, S.; LEVY, E.; SEIDMAN, E.G.; CERF-BENSUSSAN, N.; LENTZE, M.J. Lipopolysaccharide modulation of normal enterocyte turnover by toll-like receptors is mediated by endogenously produced tumors necrosis factor α . **Gut**, n. 51, p. 842–848, 2002.

SABBAGH, Y.; GIRAL, H.; CALDAS, Y.; LEVI, M.; SCHIAVI, S. C. Intestinal phosphate transport. **Advances in Chronic Kidney Disease**, n. 18, p. 85-90, 2011.

SEEDOR, J.G.; QUARRACCIO, H.H.; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.

SHEKELS, L.L.; ANWAY, R.E.; LIN, J.Z.; KENNEDY, M.W.; GARSIDE, P.; LAWRENCE, C.E.; HO, S.B. Coordinated Muc2 and Muc3 mucin gene expression in *Trichinella spiralis* infection in wild-type and cytokine-deficient mice. **Digestive Diseases and Sciences**, n.46, p. 1757–1764, 2001.

SHI, Y. *et al.* Effects of alfalfa saponin extract on growth performance and some antioxidant indices of weaned piglets. **Livestock Science**, v. 167, p. 257–262, 1 set. 2014.

SHIM, Y. H.; CHAE, B. J.; LEE, J. H. Effects of phytase and enzyme complex supplementation to diets with different nutrient levels on growth performance and ileal nutrient digestibility of weaned pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 17, n. 4, p. 523-532, 2004.

SHONYELA, S.M.; FENG, B.; YANG, W.T.; YANG, G.L.; WANG, C.F. The regulatory effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on T lymphocyte and the development of intestinal villi in piglets of different periods. **AMB Express**, n.10, p. 76–86, 2020.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3ª edição. Editora UFV. 235p. 2006.

SONG, M. *et al.* Effects of dietary protease supplementation on growth rate, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 64, n. 3, p. 462–470, 1 maio 2022.

SPREEUWENBERG, M.A.; VERDONK, J.M.; GASKINS, H.R.; VERSTEGEN, M.W. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **The Journal of Nutrition**, n.131, p. 1520–1527, 2001.

STEIN, H. H.; KADZERE, C. T.; KIM, S. W.; MILLER, P. S. Influence of dietary phosphorus concentration on the digestibility of phosphorus in monocalcium phosphate by growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 1861-1867, 2008.

SU, J.L.; SHI, B.L.; ZHANG, P.F.; SUN, D.S., LI, T.Y., YAN, S.M. Effects of yucca extract on feed efficiency, immune and antioxidative functions in broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, n. 59, 2016.

SUN, H. Y.; KIM, I. H. Evaluation of an emulsifier blend on growth performance, nutrient digestibility, blood lipid profiles, and fecal microbial in growing pigs fed low energy density diet. **Livestock Science**, 227, p. 55-59, 2019.

THONGSONG, B.; WIYAPORN, M.; KALANDAKANOND-THONGSONG, S. Blood glucose, amino acid profiles and nutrient transporter gene expressions in the small intestine of low and normal birthweight piglets during the early suckling period. **The Veterinary Journal**, v. 247, p. 1–7, 2019.

TORRES-PITARCH, A.; HERMANS, D.; MANZANILLA, E. G.; BINDELLE, J. *et al.* Effect of feed enzymes on digestibility and growth in weaned pigs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, 233, p. 145-159, 2017.

VALVERDE PIEDRA, J.L. *et al.* Combined effect of butyrate and *Yucca schidigera* extract on the gastrointestinal tract of pigs around weaning. **Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme**, v. 51, n. 1, p. 11–18, 6 maio 2009.

VAN'T HOF, R. J.; ARMOUR, K. J.; SMITH, L. M.; K. E. ARMOUR, K. E.; WEI, X. Q.; LIEW, F. Y.; RALSTON, S. H. Requirement of the inducible nitric oxide synthase pathway for IL-1-induced osteoclastic bone resorption. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 97, p. 7993–7998, 2000.

VIGORS, S.; SWEENEY, T.; O'SHEA, C. J.; BROWNE, J. A. *et al.* Improvements in growth performance, bone mineral status and nutrient digestibility in pigs following the dietary inclusion of phytase are accompanied by modifications in intestinal nutrient transporter gene expression. **British Journal of Nutrition**, 112, n. 5, p. 688-697, 2014.

WANG, W.; ZHENG, D.; ZHANG, Z.; YE, H. *et al.* Efficacy of combination of endo-xylanase and xylan-debranching enzymes in improving application of cereal bran in piglet diet. **Animal Bioscience**, 2022.

WANG, J. *et al.* Serum biochemical parameters and amino acids metabolism are altered in piglets by early weaning and proline and putrescine supplementations. **Animal nutrition**, v.7, n.2, p. 334-345, 2021.

WENZIG, E.M.; OLESZEK, W.; STOCHMAL, A.; KUNERT, O.; BAUER, R. Influence of phenolic constituents from *Yucca schidigera* bark on arachidonate metabolism *in vitro*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8885–8890, 2008.

XIANG, Z.T. Effects of Different Starch Sources on Intestinal Microflora and Intestinal Health of Weaned Piglets. **Ph.D. Thesis**, Sichuan Agricultural University, Ya'an, China, 2011.

XIE, C.; WANG, Q.; WANG, J.; TAN, B. *et al.* Developmental changes in hepatic glucose metabolism in a newborn piglet model: A comparative analysis for suckling period and early weaning period. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 470, n. 4, p. 824-830, 2016.

XIONG, X.; TAN, B.; SONG, M.; JI, P.; KIM, K.; YIN, Y. *et al.* Nutritional intervention for the intestinal development and health of weaned pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 2019.

XU, H.; COLLINS, J.F.; BAI, L.; KIELA, P.R.; GHISHAN, F.K. Age-dependent regulation of rat intestinal type IIb sodiumphosphate cotransporter by 1, 25-(OH)₂ vitamin D3. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, n.282, p.487–493, 2002.

XU, J. Effect of Glycinin and β -conglycinin on the Absorbing Capacity of Mouse Intestinal Epithelial Cells. **Asian Journal of Animal Sciences**, n. 8, p. 73–78, 2014.

WANG, J. *et al.* Serum biochemical parameters and amino acids metabolism are altered in piglets by early weaning and proline and putrescine supplementations. **Animal nutrition**, v. 7, 2021.

YANG, Y.; LEE, J.; RHEE, M.H.; YU, T.; BAEK, K.S.; SUNG, N.Y.; KIM, Y.; YOON, K.; KIM, J.H.; KWAK, Y.S.; *et al.* Molecular mechanism of protopanaxadiol saponin fraction-mediated anti-inflammatory actions. **Journal of Ginseng Research**. v.39, p. 61–68, 2015.

YANG, Z.; WANG, Y.; HE, T.; ZIEMA BUMBIE, G. *et al.* Effects of Dietary *Yucca schidigera* Extract and Oral *Candida utilis* on Growth Performance and Intestinal Health of Weaned Piglets. **Frontiers in Nutrition (Lausanne)**, 8, p. 685540-685540, 2021.

YEN, J. T.; POND, W. G. Effects of carbadox, copper, or *Yucca schidigera* extract on growth performance and visceral weight of young pigs. **Journal of Animal Science**, 71, n. 8, p. 2140-2146, 1993.

YI, J. Q.; PIAO, X. S.; LI, Z. C.; ZHANG, H. Y. *et al.* The Effects of Enzyme Complex on Performance, Intestinal Health and Nutrient Digestibility of Weaned Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 26, n. 8, p. 1181-1188, 2013.

ZENG, Z.K., LI, Q.Y., TIAN, Q.Y., XU, Y.T., PIAO, X.S. The combination of carbohydrases and phytase to improve nutritional value and non-starch polysaccharides degradation for growing pigs fed diets with or without wheat bran. **Animal Feed Science and Technology**, n. 235, 138–146, 2018.

ZHANG, G. G.; YANG, Z. B.; WANG, Y.; YANG, W. R. *et al.* Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance, nutrient digestibility, small intestinal digestive enzyme activities, and large intestinal selected microbiota in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, 92, n. 5, p. 2063-2069, 2014.

ZHAO, Y.; QIN, G.; SUN, Z.; ZHANG, X.; BAO, N.; WANG, T.; ZHANG, B.; ZHANG, B.; ZHU, D.; SUN, L. Disappearance of immunoreactive glycinin and beta-conglycinin in the 584 digestive tract of piglets. **Archives of Animal Nutrition**, p. 62, p. 322–330, 2008.

ZHU, D.; CHE, L.; YU, B.; CHEN, D. Extruded Enzyme-Added Corn Improves the Growth Performance, Intestinal Function, and Microbiome of Weaning Piglets. **Animals**, 12, n. 8, 2022.

ZÚÑIGA-SERRANO, A.; BARRIOS-GARCÍA, H. B.; ANDERSON, R. C.; HUME, M. E. *et al.* Antimicrobial and Digestive Effects of *Yucca schidigera* Extracts Related to Production and Environment Implications of Ruminant and Non-Ruminant Animals: A Review. **Agriculture**, 12, n. 8, p. 1198, 2022.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Os complexos enzimáticos são aditivos essenciais que melhoram o aproveitamento das dietas e contribuem para a criação de leitões desmamados. De acordo com a amplitude da revisão sistemática aqui realizada, foi possível observar o panorama mundial da utilização de complexos enzimáticos e que maioria das pesquisas concluem que dosagens únicas e crescentes de complexos enzimáticos resultam em melhoria no desempenho produtivo dos leitões e digestibilidade das dietas. Entretanto, há controvérsias, necessitando de mais estudos voltadas à composição da dieta, quantidade e número de enzimas adicionadas.

Com relação a inclusão do extrato de *Yucca schidigera*, ainda há muito a ser explorado sobre seus efeitos em dietas para leitões. O extrato de *Yucca schidigera* é um aditivo fitogênico interessante para leitões devido aos benefícios relacionados a sua composição química, principalmente as frações de saponinas e compostos polifenólicos, o que implica em melhorias no desempenho produtivo, trato gastrointestinal, saúde intestinal, microbiota e redução do impacto ambiental causado pelas excreções e emissões de poluentes da suinocultura.

No que diz respeito a nossa primeira pesquisa, observamos que a utilização de complexos enzimáticos com protease (140,0 a 2800,0 HUT/Kg), fitase (60,0 SPU/Kg) e celulase (8,0 a 18,0 CMCU/Kg) melhora a disponibilidade e diminuem a excreção fecal de minerais em dietas totalmente vegetais para leitões na fase inicial. Níveis maiores de protease (2800,0 HUT/Kg) e celulase (18,0 CMCU/Kg) são necessários para melhorar a digestibilidade das frações fibrosas da dieta.

Na segunda pesquisa, concluímos que combinações de enzimas exógenas associadas ou não a extratos vegetais (125 g/ton de extrato de *Yucca schidigera* e 52 g/kg de polietilenoglicol ricinoleato gliceril) em dietas para leitões desmamados otimizam a eficiência produtiva, promovem melhorias para a digestibilidade e absorção de nutrientes dietéticos e morfometria intestinal, bem como contribuem na saúde intestinal e reduzem a excreção de poluentes.

A suinocultura necessita de ações efetivas e sustentáveis que suportem a produção e minimize o potencial poluente, o que evidencia a relevância de nosso estudo. Contudo, mais pesquisas são necessárias acerca dos níveis de inclusão de complexos enzimáticos associados ou não a extratos vegetais com o intuito de potencializar a ação de ambos para leitões desmamados, principalmente àqueles aspectos relacionados a expressão de genes do metabolismo de nutrientes, saúde e microbiota intestinal dos leitões.