

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A  
LACTAÇÃO E CRECHE**

**MARCOS ELIAS DUARTE**

**RECIFE-PE  
FEVEREIRO - 2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A  
LACTAÇÃO E CRECHE**

**MARCOS ELIAS DUARTE  
(Zootecnista)**

**RECIFE-PE  
FEVEREIRO - 2018**

**MARCOS ELIAS DUARTE**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS  
DURANTE A LACTAÇÃO E CRECHE**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Wilson Moreira Dutra Júnior - Orientador

Prof. Dra. Helena Emilia Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso – Coorientador

**RECIFE-PE  
FEVEREIRO – 2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

D812u Duarte, Marcos Elias.  
Uso de Aminogut® e enzimas na dieta de suínos durante a lactação e creche  
/ Marcos Elias Duarte. – Recife, 2018.  
84 f.; il.

Orientador(a): Wilson Moreira Dutra Júnior.  
Coorientador(a): Helena Emilia Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa  
de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, BR-PE, 2018.  
Inclui referências.

1. Aminoácidos 2. Carboidratos 3. Desmame 4. Leite 5. Leitões I. Dutra Júnior,  
Wilson Moreira, orient. II. Manso, Helena Emilia Cavalcanti da Costa Cordeiro,  
III. Título

CDD 664

**MARCOS ELIAS DUARTE**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A  
LACTAÇÃO E CRECHE**

Comissão examinadora:

---

Prof. Dr. Wilson Moreira Dutra Júnior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Presidente

---

Profa. Dr. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dr. Tayara Soares de Lima  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Prof. Dr. Elton Roger Alves de Oliveira  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dr. Elenice Andrade Moraes  
Universidade Federal do Vale do São Francisco

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

MARCOS ELIAS DUARTE - Filho de Manoel Elias Sobrinho e Maria José Duarte, nasceu na cidade de Junqueiro, Alagoas, no dia 07 de janeiro de 1988. Cursou o ensino médio na Escola Agrotécnica Federal de Satuba, onde também concluiu o curso de Técnico em Agropecuária em dezembro de 2005. Em 2006 iniciou a Graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Alagoas. Em 2008 assumiu o cargo de Agente Fiscal Agropecuário/Técnico em Agropecuária na Agência de Defesa e Inspeção Agropecuária de Alagoas. Em 2011 recebeu o título de Bacharel em Zootecnia e iniciou as atividades no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Alagoas na área de nutrição de não-ruminantes. Em março de 2013 recebeu o título de mestre em Zootecnia. Em março de 2014 ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco na área de nutrição de não-ruminantes, com período sanduíche na North Carolina State University.

Dedico,

A Deus, por todas as graças alcançadas durante minha jornada.

Aos meus pais, Manoel e Maria, pelo amor incondicional e por serem o alicerce em minha vida.

Aos meus irmãos, Márcio, Mirian e Mércia, pela referência e apoio.

E ao meu porto seguro, minha esposa Talita Duarte, pelo amor, dedicação, apoio e companheirismo.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos em minha vida.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Wilson Moreira Dutra Júnior e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Emilia Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso, pelos ensinamentos, paciência, conselhos e, principalmente, pelas oportunidades a mim concedidas que abriram as portas do mundo para mim e engrandeceram muito a minha vida pessoal e profissional. Serei eternamente grato.

À minha esposa, Talita Almeida de Paula Duarte, pelo companheirismo, apoio, conselhos e, principalmente, pela paciência durante esta jornada.

Aos meus pais, Manoel e Maria, e aos meus irmãos, Márcio, Mirian e Mércia, pelo sacrifício a que passaram para construir minha base para que eu alcançasse todas as conquistas até aqui.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, pela oportunidade de conquistar mais um degrau em minha vida profissional.

À CAPES, CNPq e FACEPE, pela concessão de bolsas e auxílios.

Ao Prof. Dr. Sung Woo Kim, pela oportunidade de realizar o doutorado sanduíche em seu laboratório sob sua supervisão, pela incrível recepção e por permitir a realização de parte da minha tese durante esse período, pelos ensinamentos e apoio.

A todos os colegas orientandos do professor Wilson e Helena, em especial a Carlos Augusto, Elisama, Juliane, Jussiede, Carol, Mônica e Liliane, pela disponibilidade e ajuda durante o experimento.

Aos colegas da North Carolina State University: Jyiao, Jennifer, Lan, Wanpuech, Jun, Yinhui, Hongiu, Young Inn, Leanne, Marissa e Vitor, pela recepção e ajuda.

Ao Dr. Inkyung Park, pelos conselhos, ensinamentos e paciência durante minha estadia em Raleigh.

Aos meus sogros, Marina e Jailton, pelo apoio e por tornarem a estadia em Recife mais fácil.

Aos meus tios adotivos, Maximino de Almeida e Mariane de Almeida, pela recepção e hospedagem durante os primeiros meses de doutorado.

A todos que de alguma forma contribuíram com esta conquista, meu muito obrigado.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
Lista de tabelas.....	ix
Resumo geral.....	xi
Abstract.....	xiii
Considerações iniciais.....	15
Capítulo 1. Referencial teórico: desafios e estratégias na nutrição de suínos durante a lactação e creche .....	18
Introdução .....	19
Fatores antinutricionais em dietas a base de vegetais para leitões.....	20
Polissacarídeos não amiláceos (PNA).....	20
Proteínas de reserva da soja .....	21
Saúde intestinal .....	22
Utilização de suplementos dietéticos para leitões nas fases de lactação e creche .....	24
Enzimas.....	24
Glutamina e glutamato .....	25
Conclusão.....	27
Referências.....	27
Capítulo 2. Efeito do uso de xilanase e protease sobre o desempenho e saúde intestinal de suínos recém desmamados .....	35
Resumo.....	36
Abstract .....	38
Introdução .....	39
Material e métodos.....	40
Resultados .....	47
Discussão .....	50
Conclusão.....	54
Referências.....	54
Capítulo 3. Efeito da suplementação dietética com glutamina e glutamato sobre o desempenho de suínos nas fases de lactação e creche .....	60

Resumo.....	61
Abstract .....	62
Introdução .....	63
Material e métodos.....	64
Resultados .....	67
Discussão .....	72
Conclusão.....	78
Referências.....	78
Considerações finais e implicações.....	83

## LISTA DE TABELAS

### **Capítulo 2. Efeito do uso de xilanase e protease sobre o desempenho e saúde intestinal de suínos recém-desmamados**

	<b>Página</b>
Tabela 1. Composição nutricional das dietas basais para leitões em diferentes fases ...	42
Tabela 2. Desempenho de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease .....	47
Tabela 3. Coeficiente de Digestibilidade Ileal Aparente (com base na MS) de energia, PB e MS e características da digesta de animais alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease.....	48
Tabela 4. Estresse oxidativo e estado imune de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease.....	49
Tabela 5. Morfologia do jejuno e coeficiente de proliferação dos enterócitos de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease .....	49
Tabela 6. Proteínas das junções oclusivas do jejuno de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease.....	50

### **Capítulo 3. Efeito da suplementação dietética com glutamina e glutamato sobre o desempenho de suínos nas fases de lactação e creche**

Tabela 1. Composição das dietas basais para matrizes na fase de lactação e leitões desmamados .....	65
Tabela 2. Espessura de toucinho no ponto P2 e intervalo do desmame ao cio de matrizes suínas recebendo 1% de Aminogut .....	67
Tabela 3. Composição do leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut .....	68

Tabela 4. Concentração de aminoácidos no colostro e no leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut.....	68
Tabela 5. Desempenho de leitões na fase de lactação suplementados com Aminogut...	70
Tabela 6. Desempenho de leitões recém-desmamados alimentados com dietas suplementados com 1% de Aminogut.....	71

# USO DE AMINOGLUT<sup>®</sup> E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A LACTAÇÃO E CRECHE

## RESUMO GERAL

Dois experimentos foram realizados para avaliar o efeito do uso de suplementação com enzimas e aminoácidos na dieta de suínos durante a lactação e creche. O primeiro experimento foi realizado para avaliar o efeito da suplementação de xilanase (Xylamax, BRI, Durham, NC) e protease (Versazyme, BRI) sobre o desempenho, viscosidade da digesta, digestibilidade ileal de nutrientes e saúde intestinal de leitões. Utilizou-se 48 leitões (24 machos castrados e 24 fêmeas), com 21 dias de idade com  $7,2 \pm 0,4$  kg de peso vivo, foram alocados aleatoriamente em 4 tratamentos com 12 repetições, em delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 2 x 2 (Xylamax 0 ou 45000 XU/kg e Versazyme 0 ou 300000 U/kg) em 2 fases (fase 1: duração de 10 dias e fase 2: duração de 14 dias). Foram mensurados o desempenho dos leitões, a digestibilidade ileal aparente, a viscosidade e pH da digesta e os parâmetro da saúde intestinal. O segundo experimento foi realizado para avaliar os efeitos da suplementação com glutamina e glutamato nas fases de lactação e creche sobre a composição do leite, perda de espessura de toucinho e desempenho dos leitões. Na fase de lactação, 28 matrizes foram alocadas aleatoriamente em 2 tratamentos (Controle ou glutamina+glutamato 1%) em delineamento em blocos casualizados. Nesta fase, a alimentação dos leitões foi exclusivamente o leite materno. Na fase seguinte, 12 leitegadas de cada grupo da fase anterior foram divididas em dois grupos (Controle ou Aminogut 1%). As dietas experimentais foram formuladas para atender os requerimentos nutricionais de matrizes suínas em lactação e de leitões recém desmamados. Foram mensurados a espessura de toucinho das matrizes, composição do leite, desempenho dos leitões na lactação e na creche. O uso de xilanase proporcionou aumento no ganho de peso diário (GPD) ( $0,518 - 0,560$  kg/d) ( $P < 0,05$ ), porém, foi ainda maior com protease, na segunda fase ( $P < 0,05$ ). No período total, o uso combinado de xilanase e protease aumentou ( $P < 0,05$ ) o GPD quando comparado ao uso individual ( $0,503$  vs.  $0,442$  e  $0,437$  kg/d), enquanto que a protease melhorou ( $P < 0,05$ ) a eficiência alimentar ( $0,765 - 0,793$ ). No jejuno, a xilanase

reduziu a viscosidade da digesta (2,69 – 2,36 mPa.s) e o conteúdo de malonaldeído (MDA) na mucosa (1,14 – 0,95  $\mu$ M), profundidade de cripta (220 - 198  $\mu$ m) e a proliferação celular (20,3 – 17,6%) ( $P < 0,05$ ); enquanto que a protease aumentou a altura de vilos (439 - 493  $\mu$ m), profundidade de cripta (229 - 189  $\mu$ m) e proliferação celular na cripta (21,5 – 15,9%) ( $P < 0,05$ ). O uso combinado de xilanase e protease aumentou ( $P < 0,05$ ) a Claudina (0,047 – 0,076 intensidade da banda) e a ocludina (0,126 – 0,161 intensidade da banda) no jejuno. No experimento 2 o uso de Aminogut aumentou ( $P < 0,05$ ) as concentrações de gordura (6,507 - 7,855%), glutamina (0,341 - 0,578  $\mu$ mol/mL), glutamato (0,361 - 0,648  $\mu$ mol/mL) e glutamina+glutamato (0,709 - 1,244  $\mu$ mol/mL) no leite de matrizes suínas no 21º de lactação. As matrizes que receberam suplementação apresentaram menor perda de espessura de toucinho ( $P < 0,05$ ) durante a lactação (3,018 - 4,560 mm). Na terceira semana de lactação houve maior ( $P < 0,05$ ) GPD dos leitões (0,222 - 0,270 kg) de matrizes alimentadas com dietas contendo glutamina e glutamato. A suplementação na segunda fase aumentou ( $P < 0,05$ ) o GPD dos leitões quando comparado ao grupo controle na fase pós-desmame (0,144 - 0,183 kg). Os animais que receberam suplementação nas duas fases obtiveram uma maior ( $P < 0,05$ ) eficiência alimentar comparada aos demais tratamentos (0,784 vs. 0,717, 0,750 e 0,750). No entanto, os animais que receberam suplementação durante a lactação ou creche tiveram melhor ( $P < 0,05$ ) eficiência alimentar em relação à dieta controle (0,750 e 0,750 vs. 0,717). A xilanase melhora o desempenho dos leitões dos 7,0 aos 19 kg de peso vivo, a viscosidade da digesta ileal e o estresse oxidativo na mucosa do jejuno, e a protease melhora a eficiência alimentar e a integridade do intestino. O uso combinado de xilanase e protease melhorou o desempenho e a permeabilidade do intestino de leitões recém-desmamados. A suplementação com glutamina e glutamato melhorou a composição do leite, reduziu a perda de espessura de toucinho e melhorou o ganho de peso dos leitões durante a lactação. Na fase de lactação ou creche, a suplementação pode melhorar o ganho de peso dos leitões no período pós-desmame. Corroborando com isso, a suplementação com glutamina e glutamato nas duas fases apresentou melhor eficiência alimentar.

**Palavras-chave:** aminoácidos, carboidratos, desmame, leite, leitões.

## THE USE OF AMINOGUT® AND EZYMES IN THE DIET OF PIGS DURING LACTATION AND NURSERY

### ABSTRACT

Two experiments were accomplished to investigate the effect of the use of supplementation with enzymes and amino acids in the diet of pigs during lactation and nursery. The first experiment was to investigate the effect of supplemental xylanase (Xylamax, BRI, Durham, NC) and protease (Versazyme, BRI) on growth performance, digesta viscosity, apparent ileal digestibility of nutrients, and gut health in nursery pigs. Forty-eight pigs (24 barrows and 24 gilts at 21 d of age with  $7.2 \pm 0.4$  kg BW) were randomly allotted to 4 treatments ( $2 \times 2$  factorial arrangement). Factors were xylanase (0 or 45,000 XU/kg) and protease (0 or 300,000 U/kg) in 2 phases (phase 1 for 10 d and phase 2 for 14 d). It was measured performance of the piglets, apparent ileal digestibility, viscosity and pH of digesta and the gut health parameters. The second experiment was to investigate the effect of dietary supplementation with glutamine and glutamate during lactation and nursery on milk composition, back fat loss, and the performance of the piglet. In the lactation phase, 28 sows were randomly allotted to 2 treatments (Control or Aminogut 1%) in a block design. The farrowing rate was used as block criteria. During lactation the piglets were fed exclusively with breast milk. In the nursery phase, 12 litters from each group of previously were split in others two groups (Control or Aminogut 1%). The experimental diets were formulated to meet the nutritional requirement of lactating sows and newly weaned piglets. Back fat thickness, milk composition and the performance of piglets during lactation and nursery were measured. The use of xylanase increased ADG (0.518 to 0.560 kg/d) ( $P < 0.05$ ) which was further increased with protease ( $P < 0.05$ ). Overall, combinational use of xylanase and protease increased ADG (0.503 vs. 0.442 and 0.437 kg/d) ( $P < 0.05$ ) compared with the use of xylanase or protease alone, whereas protease improved ( $P < 0.05$ ) feed efficiency (0.765 to 0.793). In jejunum, xylanase reduced viscosity of digesta (2.69 to 2.36 mPa.s), mucosal MDA (1.14 to 0.95  $\mu$ M), crypt depth (220 to 198  $\mu$ m) and crypt cell proliferation (20.3 to 17.6%) ( $P < 0.05$ ) whereas protease increased villus height (439 to 493  $\mu$ m), crypt depth (229 to 189  $\mu$ m)

and crypt cell proliferation (21.5 to 15.9%) ( $P < 0.05$ ). Combinational use of xylanase and protease increased claudin (0.047 to 0.076 band intensity) and occludin (0.126 to 0.161 band intensity) in jejunum ( $P < 0.05$ ). The use of glutamine and glutamate enhanced ( $P < 0.05$ ) the concentration of fat (6.507 to 7.855%), glutamine (0.341 to 0.578  $\mu\text{mol/mL}$ ), glutamate (0.361 to 0.648  $\mu\text{mol/mL}$ ), and glutamine+glutamate (0.709 to 1.244  $\mu\text{mol/mL}$ ) in the milk of sow at 21 days of lactation. Sows fed supplemented diet showed lower ( $P < 0.05$ ) backfat loss (3.018 to 4.560 mm). At the third week of lactation, the piglets from sows fed supplemented diet had higher ADG (0.222 to 0.270 kg/day). In the second phase, the use of Aminogut in the nursery diet enhanced ( $P < 0.05$ ) the ADG (0.44 to 0.183 kg), and the ADFI (0.196 to 0.238 kg/day) of piglets. The piglets fed supplementation, in two phases had higher ( $P < 0.05$ ) feed efficiency compared with the other treatments (0.784 vs. 0.717, 0.750, and 0.750). However, pigs that received supplementation during lactation or nursery, had higher ( $P < 0.05$ ) feed efficiency compared with the control group in the two phases (0.750 and 0.750 vs. 0.717). Collectively, xylanase could improve growth, digesta viscosity, and oxidative stress, and protease could improve feed efficiency and gut integrity. Combinational use of xylanase and protease enhanced growth performance and tight junction proteins in newly weaned pigs. The supplementation with glutamine and glutamate reduced the backfat loss, enhanced the milk composition, and the ADG during lactation. The supplementation in the lactation or nursery phase can enhance the ADG in post-weaned phase. However, the supplementation with glutamine and glutamate in both phases showed higher feed efficiency.

**Keywords:** amino acids, carbohydrates, enzymes, milk, piglets, weaning.



## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A nutrição de leitões representa um dos maiores desafios na suinocultura; isso se deve às alterações que ocorrem no organismo desses animais a partir do nascimento, que estão relacionados, inicialmente, ao estado nutricional das matrizes. Logo, pode-se dizer que o manejo nutricional dos leitões inicia-se durante o manejo nutricional das matrizes, tendo em vista que um dos objetivos da nutrição de matrizes é proporcionar maior produção de leite com melhor qualidade.

Durante a lactação, a alimentação dos leitões é exclusivamente o leite materno. Diferentemente da dieta de animais adultos, não se pode interferir diretamente na produção e composição desta, bem como com o aumento da prolificidade das matrizes houve redução na quantidade de leite produzida para cada leitão, apesar da maior produção de leite total.

Outro ponto que deve-se levar em consideração durante a lactação é o sistema imune dos leitões que depende inicialmente do colostro para se desenvolver. O colostro e o leite, além de serem fontes de nutrientes, atuam como moduladores do sistema imune. No entanto, a composição do leite não atende às exigências para o máximo desempenho ou para o desenvolvimento e atuação do sistema imune de leitões em lactação nos sistemas que produzimos.

Depois do nascimento, o desmame é o evento mais desafiador na vida dos suínos, pois estes são expostos repentinamente às alterações nutricionais, fisiológicas, imunológicas e psicológicas. As alterações da composição da dieta, fonte e disponibilidade de nutrientes, além da forma física e da presença de fatores antinutricionais na dieta que são fatores estressantes para os leitões e vão afetar fisiologicamente e anatomicamente o seu trato digestivo, refletindo na redução do desempenho logo após o desmame.

O milho e o farelo de soja, apesar de serem os ingredientes mais utilizados na dieta de monogástricos no mundo, apresentam, quando comparado ao leite, nutrientes com menor digestibilidade e significativa quantidade de fatores antinutricionais que, associados à baixa capacidade de produção de enzimas, como a  $\alpha$ -amilase, e maior produção de lactase, podem afetar o desempenho dos leitões após o desmame.

O conteúdo fibroso, presente na parede celular vegetal, é um dos fatores que limitam o uso de vegetais na dieta de leitões, pois animais monogástricos não possuem capacidade para digerir polissacarídeos não amiláceos (PNAs). Uma vez ingeridos, os PNAs podem aumentar a viscosidade da digesta, alterar a morfologia epitelial do intestino e reduzir a digestibilidade dos nutrientes. Nos sistemas de produção de suínos, os leitões possuem o trato digestivo imaturo, devido à intensificação da produção, e isso ocasiona efeitos mais severos neles.

Da mesma forma, as principais globulinas de reserva da soja, glicinina e  $\beta$ -conglucina, apresentam efeito alergênico em leitões, que podem reduzir o desempenho e alterar a morfologia do epitélio intestinal. Além disso, a digestibilidade dessas proteínas pelas enzimas endógenas é reduzida, principalmente em animais jovens. Assim, devido à baixa digestibilidade somada à imaturidade do sistema imune de leitões, a imunorreatividade dessas proteínas é ainda mais acentuada. Fatores antinutricionais, como as globulinas alergênicas e os PNAs alteram o metabolismo dos animais, o que interfere na exigência e utilização de alguns nutrientes.

Nutricionalmente, os efeitos do estresse que ocorrem durante a lactação e após o desmame podem ser reduzidos de duas formas: a primeira seria o fornecimento de enzimas que hidrolisem os fatores antinutricionais da dieta, para reduzir seus efeitos, e a segunda seria fornecer nutrientes específicos, como glutamina e glutamato, para minimizar, através do suprimento nutricional, os danos do estresse.

A suplementação da dieta de leitões com xilanase tem sido associada à melhora do desempenho dos leitões devido à degradação dos arabinoxilanos na parede celular dos vegetais, que altera a viscosidade da digesta, uma vez que há uma alteração da estrutura da fibra, e provoca a liberação de nutrientes que podem estar encapsulados no interior de células intactas. O uso de proteases possibilita hidrolisar as ligações peptídicas de proteínas com a presença de pontes de enxofre, reduz a imunorreatividade destas, além de digerir as demais proteínas, tendo em vista que a atividade proteolítica em leitões é baixa. Tudo isso melhora a digestibilidade, reduz as necessidades de manutenção e melhora a eficiência na utilização dos nutrientes.

A utilização de glutamina e glutamato durante a lactação e creche também tem sido associada a melhorias no desempenho e saúde de leitões por atender o aumento das exigências desses aminoácidos nessas fases. Durante a lactação é possível modificar a

composição do leite ao alterar a dieta das matrizes suínas, o que possibilita um fornecimento extra desses aminoácidos via leite. Além de que, ao suplementar a dieta das matrizes, pode-se reduzir a mobilização das reservas corporais para produção de leite devido ao maior aporte de nutrientes na dieta.

Dessa forma, ao reduzir os efeitos dos fatores que causam estresse, com o uso desses suplementos, pode-se melhorar o desempenho de leitões lactentes e recém-desmamados, através dos benefícios no trato gastrointestinal e melhora na digestibilidade de nutrientes, bem como a suplementação com glutamina e glutamato pode melhorar a composição do leite, reduzindo a mobilização das reservas corporais das matrizes suínas.

Portanto, estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos do uso da suplementação dietética com xilanase, protease, glutamina e glutamato nas dietas de suínos durante as fases de lactação e creche.

## **CAPÍTULO 1**

---

**Referencial teórico: Desafios e estratégias na nutrição de suínos  
durante a lactação e creche**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A  
LACTAÇÃO E CRECHE**

## INTRODUÇÃO

O nascimento e o desmame são os dois eventos mais críticos na produção de suínos. Durante a lactação e após o desmame, as mudanças repentinas no ambiente e na dieta provocam alterações anatômicas e fisiológicas que fazem com que os leitões necessitem de maior atenção para alcançarem o melhor desempenho produtivo. O manejo nutricional adequado é de fundamental importância para reduzir o impacto do estresse causado durante essas fases.

Durante a lactação, a principal fonte de nutrientes dos leitões é o leite materno, que de acordo com Boyd et al. (1995), não atende a todas as necessidades nutricionais para o máximo crescimento. Dentre os nutrientes que normalmente não são secretados no leite em quantidades ideais para os leitões lactentes, alguns aminoácidos, como a glutamina e o glutamato, desempenham várias funções importantes no organismo animal e, quando consumidos em baixa quantidade, estimulam as vias para síntese de novo dos mesmos, utilizando como substratos os aminoácidos essenciais, o que pode afetar o desempenho (HOU et al., 2016; WU, 2010).

Após o desmame, além dos fatores ambientais, sociais, fisiológicos e imunológicos, a alteração da dieta representa um grande desafio para os leitões recém-desmamados. Alterações, como estado físico, composição, digestibilidade e fatores antinutricionais presentes em dietas à base de vegetais provocam alterações fisiológicas nos animais devido à imaturidade do trato digestivo (LINDBERG, 2014; WANG et al., 2010, 2014a).

No entanto, de acordo com Manso et al. (2012) e Santos de Aquino et al. (2014), pode-se alterar a concentração de glutamina, glutamato e gordura do leite através da suplementação dietética com glutamina e glutamato e, dessa forma, melhorar o suprimento desses nutrientes aos leitões via leite materno, uma vez que a suplementação via creep feed requer maiores investimentos em equipamentos e mão de obra e maiores cuidados com higiene. A suplementação da dieta de leitões com glutamina e glutamato melhora o desempenho devido aos benefícios no trato digestivo, uma vez que esses aminoácidos são utilizados como a principal fonte de energia pelos enterócitos (MARC RHOADS; WU, 2009; WU, 2014).

A utilização de enzimas na dieta de leitões tem sido utilizada para melhorar o aproveitamento dos nutrientes e para reduzir os efeitos dos fatores antinutricionais dos ingredientes vegetais, como os polissacarídeos não amiláceos (PNA) e as proteínas de reserva (OWUSU-ASIEDU et al., 2010; WANG et al., 2011a, 2011b). A redução dos fatores antinutricionais melhoram a saúde intestinal dos leitões e conseqüentemente melhoram o desempenho devido à redução das necessidades de manutenção (CADOGAN; CHOCT, 2015; ZHAO et al., 2010a).

Este trabalho descreve os desafios nutricionais na produção de suínos durante as fases de lactação e creche, seus impactos sobre os parâmetros de saúde intestinal e desempenho e algumas alternativas nutricionais utilizadas com o objetivo de melhorar o desempenho dos leitões através da redução desses desafios.

## **FATORES ANTINUTRICIONAIS EM DIETAS À BASE DE VEGETAIS PARA LEITÕES**

### **Polissacarídeos não amiláceo (PNA)**

A dieta de suínos é composta basicamente de ingredientes vegetais por apresentarem custo menor em relação aos ingredientes de origem animal. Devido à imaturidade do sistema digestivo de leitões durante as fases pré-desmame e creche utilizam-se ingredientes de origem animal por serem mais digestíveis; no entanto, a maior utilização de ingredientes de origem vegetal nessas fases é essencial para se reduzir os custos de produção (ADEOLA; COWIESON, 2011). Porém, em geral, a alimentação de monogástricos é composta de milho e farelo de soja. Esses ingredientes possuem significativa quantidade de nutrientes de baixa digestão e fatores antinutricionais que podem afetar a digestibilidade, a saúde intestinal e, conseqüentemente, o desempenho dos animais jovens (BERROCOSO et al., 2015; GUTIERREZ et al., 2014; IVARSSON et al., 2010; JHA; BERROCOSO, 2015).

Dentre esses fatores, os polissacarídeos não amiláceos (PNA) apresentam grande influência na nutrição de suínos. Em dietas para monogástricos, os principais PNAs são os arabinosilano presentes no milho (JAWORSKI et al., 2015) e xiloglucano e xilano na soja (KARR-LILIENTHAL et al., 2005). No entanto, animais monogástricos não

possuem a capacidade para digerir os PNAs. Esses nutrientes, uma vez ingeridos, podem aumentar a viscosidade da digesta, alterar a morfologia epitelial do intestino e reduzir a digestibilidade dos nutrientes (JHA; BERROCOSO, 2015; LINDBERG, 2014).

As propriedades físico-químicas dos PNAs, como solubilidade em água e fermentabilidade e suas interações são fatores que influenciam o consumo de ração (KERR; SHURSON, 2013). Em dietas à base de milho e farelo de soja, a maior fração dos PNAs é insolúvel (GUTIERREZ et al., 2014; JAWORSKI et al., 2015; NGOC; LEN; LINDBERG, 2012). A fração dos PNAs insolúvel atua impedindo a ação das enzimas digestivas sobre os nutrientes no interior da célula vegetal (NORTEY et al., 2007; O'NEILL et al., 2012; OWUSU-ASIEDU et al., 2010; TERVILÄ-WILO et al., 1996), além de aumentar da taxa de passagem e o volume do quimo (JHA; BERROCOSO, 2015; NORTEY et al., 2007).

Já os PNAs solúveis apresentam alta capacidade de retenção de água e aumento da viscosidade, o que aumenta o volume da digesta e reduz a dissociação das enzimas e substratos (BERROCOSO et al., 2015; JHA; BERROCOSO, 2015; MCDONALD et al., 2001). A distensão da parede, causada pelo aumento do volume da digesta no trato digestivo, estimula a produção de colescistoquinina (CCK), hormônio que atua no controle da saciedade, bem como estimula a síntese e secreção pancreática (MCDONALD et al., 2010), o que pode aumentar as perdas endógenas e consequentemente afetar o desempenho (AGYEKUM et al., 2015; AGYEKUM; NYACHOTI, 2017). Além disso, os PNAs solúveis tem a capacidade de aumentar a viscosidade que tem sido relacionada aos efeitos deletérios dos PNAs no lúmen intestinal (CHOCT et al., 2004; MCDONALD et al., 2001; WELLOCK et al., 2008).

### **Proteínas de reserva da soja**

A glicinina e  $\beta$ -conglucina, principais proteínas de reserva da soja, são globulinas com estrutura quaternária compostas por duas e três subunidades, respectivamente (KRISHNAN et al., 2007). Todas as subunidades possuem atividade alergênica (KRISHNAN et al., 2009) que podem reduzir o desempenho e alterar a morfologia do epitélio intestinal (WANG et al., 2010, 2014a, ZHAO et al., 2008, 2010a). A alergenicidade dessas proteínas persistem ao longo do trato intestinal de leitões devido à sua imaturidade e a presença de pontes dissulfeto entre os resíduos de cisteína em

diferentes posições de suas cadeias polipeptídicas que dificultam a digestão das mesmas, uma vez que animais monogástricos não possuem enzimas endógenas com capacidade para hidrolisar essas ligações (ZHAO et al., 2008). Esse efeito alergênico pode ser reduzido ou até mesmo desaparece em animais adultos (WANG et al., 2010, 2014a; WU et al., 2016).

Em contato com as células do intestino, a  $\beta$ -conglucina induz a síntese de proteínas quinases ativadas por mitógenos 8 (MAPK8) (CHEN et al., 2011), a qual induz tanto a apoptose quanto a proliferação dos enterócitos (RAO, 2001). Isso foi confirmado por Zhao et al. (2010), que ao adicionar glicina e  $\beta$ -conglucina na dieta de leitões constatou um aumento na taxa de proliferação, a apoptose e migração dos enterócitos, o que, de acordo com Pluske et al. (1997), estão relacionados à redução das vilosidades e da profundidade da cripta devido ao aumento da perda celular e da proliferação celular, respectivamente.

A presença de glicina e  $\beta$ -conglucina na dieta de leitões afeta o consumo de ração (ZHAO et al., 2008). Nishi et al. (2003) demonstraram, em ratos, que a  $\beta$ -conglucina se liga a componentes da parede celular do trato gastrointestinal e estimula a produção de CCK, hormônio ligado ao centro de saciedade. Dessa forma, a inclusão dietética de proteases, capazes de hidrolisar proteínas com ligações dissulfeto e reduzir seus efeitos sobre a mucosa intestinal, podem aumentar o consumo de ração (ZUO et al., 2015).

Além de estimular a secreção de CCK, a presença dessas globulinas na dieta podem ativar a resposta imune e causar danos aos enterócitos, reduzir os vilos, aumentar a profundidade das criptas e aumentar a taxa de proliferação dos enterócitos (JUN et al., 2009; PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997; ZHANG et al., 2013; ZHAO et al., 2010a). Isso pode induzir o organismo a mobilizar nutrientes para reparo do epitélio, função imune e proliferação dos enterócitos (XU, 2014).

## SAÚDE INTESTINAL

O termo saúde intestinal está relacionado a vários aspectos positivos do trato gastrointestinal, como a digestão e absorção de alimentos, a ausência de doenças



intestinais, a microbiota normal e estável, o estado imune e o bem-estar (BISCHOFF, 2011). Vários parâmetros têm sido utilizados para medir a saúde intestinal em animais, no entanto, estes não devem ser analisados de maneira isolada devido às interações entre a nutrição, sistema digestivo, sistema imune e desempenho.

O malonaldeído (MDA) e a proteína carbonil são os produtos finais da oxidação de lipídeos e proteínas, respectivamente (KWIECIEN et al., 2014), os quais têm sido usados como indicadores do estresse oxidativo (SHACTER, 2000). As condições físico-químicas da digesta devido à presença de PNAs e a presença de proteínas de difícil digestão (ADEOLA; COWIESON, 2011), podem atuar de maneira direta sobre as moléculas na parede celular causando aumento do estresse oxidativo (RUEMMELE et al., 2002). O estresse oxidativo afeta a histomorfometria no intestino, uma vez que a oxidação de moléculas, como os lipídeos e proteínas da membrana dos enterócitos, provocam a morte celular e conseqüentemente a atrofia dos vilos (ASSIMAKOPOULOS et al., 2011; ASSIMAKOPOULOS; SCOPA; VAGIANOS, 2007; SIDO et al., 2017).

Outro efeito que o estresse oxidativo (REYES et al., 2013) e a presença de glicinina e  $\beta$ -conglucina na dieta (WANG et al., 2014b; ZHAO et al., 2008, 2014) provocam sobre a saúde intestinal é a redução da permeabilidade, pois, além da digestão e absorção de nutrientes, o epitélio intestinal tem a função de barreira para restringir a entrada de substâncias e microrganismos nocivos à saúde do animal. Essa barreira está estritamente relacionada às proteínas das junções oclusivas que determinam a permeabilidade da mucosa intestinal. Tais proteínas são, principalmente, Claudina, Ocludina e Zônula ocludente 1 (ZO1) (WANG et al., 2014b; ZHAO et al., 2008, 2014).

A viscosidade da digesta está relacionada à taxa de proliferação dos enterócitos, uma vez que a menor viscosidade resulta em menor produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (SERENA; HEDEMANN; BACH KNUDSEN, 2008) e a presença destes ácidos no lúmen intestinal estimula a proliferação dos enterócitos, o que pode influenciar principalmente a profundidade de cripta no intestino delgado (KNUDSEN; HEDEMANN; LÆRKE, 2012).

A maior viscosidade no lúmen intestinal possibilita o aumento da proliferação dos microrganismos patogênicos no intestino delgado devido às condições proporcionadas pela presença de nutrientes não digeridos, a maior umidade e o maior tempo de passagem (AGYEKUM et al., 2015; AGYEKUM; NYACHOTI, 2017; KIM ET al., 2012;

MCDONALD et al., 2001; MONTAGNE et al., 2003). Além disso, reduzem a camada de muco que protege a mucosa intestinal da ação física, química e biológica da digesta, causando, assim, ativação do sistema imune (CHOCT, 1997; MOLIST et al., 2014; MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003).

## **UTILIZAÇÃO DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS PARA LEITÕES NAS FASES DE LACTAÇÃO E CRECHE**

### **Enzimas**

A dieta de leitões é composta geralmente de ingredientes altamente digestíveis, como os coprodutos lácteos, plasma sanguíneo, entre outros, com intuito de reduzir os desafios nutricionais durante a creche; no entanto, estes aumentam os custos das dietas (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997). O uso de ingredientes de fontes vegetais tendem a reduzir os custos com alimentação, porém, esses ingredientes possuem grandes quantidades de fatores antinutricionais que geralmente interferem nos processos normais de digestão ou no metabolismo de leitões com o trato digestivo ainda imaturo (KOO et al., 2017). Dessa forma, a utilização de enzimas tem sido usada com sucesso nas últimas décadas visando, principalmente, ao melhor aproveitamento dos alimentos, à redução da excreção de nutrientes no ambiente, melhora da saúde intestinal, flexibilização no uso de diferentes ingredientes e redução dos custos de produção (ADEOLA; COWIESON, 2011).

A utilização de xilanase visa a degradação dos arabinoxilano presentes na parede da célula vegetal, possibilitando a ação das enzimas endógenas dentro da célula vegetal (O'NEILL et al., 2012) e a redução da viscosidade da digesta (CHOCT, 1997). Além disso, a degradação desses fatores antinutricionais possibilitam a melhora do desempenho devido aos benefícios sobre a saúde intestinal, o estresse oxidativo e o estado imune (AGYEKUM et al., 2015; AGYEKUM; NYACHOTI, 2017; KIM ET al., 2012; MCDONALD et al., 2001; MONTAGNE et al., 2003). Muitos estudos relatam que o uso de xilanase na dieta de suínos melhoram a digestibilidade de nutrientes (CADOGAN; CHOCT, 2015; PASSOS et al., 2015; YIN et al., 2001). Isso ocorre devido a hidrólise dos PNAs que resultam em oligossacarídeos, que podem atuar como prebióticos, liberar

os nutrientes encapsulados no interior das células, melhorando a digestibilidade do alimento (AGYEKUM et al., 2015; MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003; PEDERSEN et al., 2012) e, conseqüentemente, melhora no desempenho dois animais. (KIARIE; ROMERO; NYACHOTI, 2013; KIARIE; WALSH; NYACHOTI, 2016).

O uso de protease em dietas que contêm farelo de soja é essencial, principalmente para leitões devido à presença das proteínas de reservas que possuem atividade alergênica (KRISHNAN et al., 2007; WANG et al., 2014a; ZHAO et al., 2010b). A utilização dessas proteases com capacidade para digerir proteínas com grande quantidade de pontes dissulfeto melhoram a digestibilidade da proteína bruta e reduzem os efeitos alergênicos das globulinas da soja, melhorando, assim, o desempenho dos leitões (WANG et al., 2011b; ZHAO et al., 2008).

### **Glutamina e glutamato**

Logo após o nascimento, o intestino de leitões é colonizado por microrganismos de origem materna e do ambiente (SCHOKKER et al., 2014). Após o desmame, a exposição dos leitões a desafios, como diferentes patógenos e à dieta, está relacionada a infecções gastrointestinais devido à imaturidade imunológica. No entanto, isso possibilita que o sistema imune se desenvolva rapidamente (JOHNSON et al., 2006). A ativação do sistema imune aumenta a demanda por glutamina, arginina, aminoácidos sulfurados e aminoácidos aromáticos. Inicialmente, o organismo atende a essas necessidades, ao utilizar-se dos aminoácidos livres na corrente sanguínea e nos tecidos musculares (REEDS; JAHOOR, 2001). Quando a demanda é elevada, as proteínas dos músculos esqueléticos são degradadas para suprir os requerimentos desses aminoácidos (LOBLEY; HOSKIN; MCNEIL, 2001).

A glutamina e glutamato são aminoácidos condicionalmente essenciais para leitões (WU et al., 1998). Além de serem constituintes das proteínas, desempenham várias funções metabólicas nos animais. A glutamina é a principal fonte de energia de células de multiplicação rápida, como os enterócitos, linfócitos e macrófagos, e é um importante regulador da expressão gênica e das vias de sinalização celular (MARC RHOADS; WU, 2009; WU, 1998; WU et al., 2011). Devido às várias funções metabólicas e fisiológicas, a glutamina é essencial para manter a integridade e as funções da barreira intestinal, pois em leitões recém-desmamados os danos apresentados no epitélio intestinal são associados

ao consumo inadequado e síntese endógena reduzida de glutamina (WANG et al., 2008; WU; MEIER; KNABE, 1996).

De acordo com Wu (1998), a principal fonte de glutamato para os enterócitos é a dieta, pois não há fluxo deste do plasma para os enterócitos, enquanto que a fonte de glutamina para os enterócitos além da dieta é o plasma, uma vez que ocorre um grande fluxo de glutamina do plasma para os enterócitos (WU; BORBOLLA; KNABE, 1994). Durante a lactação, o leite representa, na maioria das vezes, a única fonte exógena de glutamina e glutamato. Esses aminoácidos, na forma livre, são os mais abundantes no leite de porcas (WU; KNABE, 1994) e representam aproximadamente 20% dos resíduos de aminoácidos na proteína do leite (HAYNES et al., 2009).

No entanto, de acordo com Hou et al. (2016), apesar de a concentração de aminoácidos essenciais no leite ou em dietas à base de milho e soja atender às necessidades para deposição de proteína dos leitões, a concentração de glutamina e glutamato não atende às necessidades dos leitões para o máximo crescimento. Assim, pode ocorrer elevação na taxa de síntese de aminoácidos não essenciais em leitões neonatos, utilizando como substrato os aminoácidos essenciais, o que afetaria o desempenho dos animais (WU, 2010).

Assim, a melhoria no desempenho de leitões suplementados com glutamina e glutamato durante a lactação e pós-desmame está relacionada, principalmente, a melhorias na saúde intestinal. (BLACHIER et al., 2009; EWASCHUK et al., 2011; HAYNES et al., 2009; KIM; KIM, 2017; WU, 2013; WU; BORBOLLA; KNABE, 1994; WU; MEIER; KNABE, 1996). De acordo com Wang et al. (2008) e Haynes et al. (2009), após o desmame ou após um desafio com endotoxinas ocorre redução das concentrações de glutamina no plasma, nos tecidos do jejuno e no fluido do lúmen do jejuno; no entanto, a suplementação dietética com glutamina reestabelece os níveis, reduzindo os danos intestinais e melhorando o desempenho.

Wu, Meier e Knabe (1996), ao avaliarem os efeitos da utilização de L-glutamina na dieta de leitões recém desmamados, constataram que a suplementação dietética com 1% de L-glutamina preveniu a atrofia jejunal durante a primeira semana pós-desmame e aumentou a eficiência alimentar em 25% após a segunda semana pós-desmame, enquanto Rezaei et al. (2013) relataram que leitões recém-desmamados que receberam 1,12% de glutamina na dieta durante três meses apresentaram melhor desempenho.

## CONCLUSÃO

A utilização de suplementos como enzimas e aminoácidos funcionais apresentam grande potencial na produção de suínos durante as fases de lactação e creche. No entanto, mais pesquisas são necessárias para entender os efeitos destes suplementos sobre a saúde intestinal, estado imune, estresse oxidativo e desempenho, bem como os mecanismos envolvidos nas diferentes vias metabólicas.

## REFERÊNCIAS

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, 1 out. 2011.

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**, v. 93, n. 7, p. 3483–3493, 2015.

AGYEKUM, A. K.; NYACHOTI, C. M. Nutritional and Metabolic Consequences of Feeding High-Fiber Diets to Swine: A Review. **Engineering**, v. 3, n. 5, p. 716–725, 2017.

ASSIMAKOPOULOS, S. F. et al. Intestinal epithelial cell proliferation, apoptosis and expression of tight junction proteins in patients with obstructive jaundice. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 2, p. 117–125, 2011.

ASSIMAKOPOULOS, S. F.; SCOPA, C. D.; VAGIANOS, C. E. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 48, p. 6458–6464, 28 dez. 2007.

BERROCOSO, J. D. et al. Effects of fiber inclusion on growth performance and nutrient digestibility of piglets reared under optimal or poor hygienic conditions. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 8, p. 3919–3931, 2015.

BISCHOFF, S. C. “Gut health”: a new objective in medicine? **BMC Medicine**, v. 9, n. 1, p. 24, 14 dez. 2011.

BLACHIER, F. et al. Metabolism and functions of L -glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 814–821, 2009.

BOYD, D. R. et al. Nutrient Uptake and Endocrine Regulation of Milk Synthesis by Mammary Tissue of Lactating Sows. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. July, p. 36–

56, 1995.

CADOGAN, D. J.; CHOCT, M. Pattern of non-starch polysaccharide digestion along the gut of the pig: Contribution to available energy. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 160–165, 2015.

CHEN, F. et al. Soybean-derived  $\beta$ -conglycinin affects proteome expression in pig intestinal cells in vivo and in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 3, p. 743–753, 1 mar. 2011.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, v. 191, n. June Issue, p. 13–26, 1997.

CHOCT, M. et al. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 53–61, 9 jul. 2004.

EWASCHUK, J. B. et al. Glutamine supplementation improves intestinal barrier function in a weaned piglet model of Escherichia coli infection. **The British journal of nutrition**, v. 106, n. 6, p. 870–877, 2011.

GUTIERREZ, N. A. et al. Relationships among dietary fiber components and the digestibility of energy, dietary fiber, and amino acids and energy content of nine corn coproducts fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 10, p. 4505–4517, 2014.

HAYNES, T. E. et al. L-Glutamine or L-alanyl-L-glutamine prevents oxidant- or endotoxin-induced death of neonatal enterocytes. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 131–142, 3 maio 2009.

HOU, Y. et al. Endogenous Synthesis of Amino Acids Limits Growth, Lactation, and Reproduction in Animals. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 7, n. 2, p. 331–342, 1 mar. 2016.

IVARSSON, E. et al. Growth performance, digestibility and faecal coliform bacteria in weaned piglets fed a cereal-based diet including either chicory (*Cichorium intybus* L) or ribwort (*Plantago lanceolata* L) forage. **Animal**, v. 5, n. 4, p. 558–564, 2010.

JAWORSKI, N. W. et al. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 3, p. 1103–1113, 2015.

JHA, R.; BERROCOSO, J. D. Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine. **Animal**, v. 9, n. 9, p. 1441–1452, 2015.  
JOHNSON, I. R. et al. Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 30, n. 12, p. 1191–1202, 2006.

JUN, X. et al. Influence of Glycinin and B-Conglycinin of Soybean on the Proliferation

and Immune Function of Suckling Piglets Peripheral Blood Mononuclear Cells in in Vitro Culture. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 19, n. 3, p. 115–118, 2009.

KARR-LILIETHAL, L. K. et al. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 97, n. 1, p. 1–12, 2005.

KERR, B. J.; SHURSON, G. C. Strategies to improve fiber utilization in swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2013.

KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v. 26, n. 1, p. 71–88, 2013.

KIARIE, E.; WALSH, M. C.; NYACHOTI, C. M. Performance, digestive function, and mucosal responses to selected feed additives for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 7, p. 169–180, 2016.

KIM, J. C. et al. Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 3–16, 2012.

KIM, M.-H.; KIM, H. The Roles of Glutamine in the Intestine and Its Implication in Intestinal Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 1051, 12 maio 2017.

KNUDSEN, K. E. B.; HEDEMANN, M. S.; LÆRKE, H. N. The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 41–53, abr. 2012.

KOO, B. et al. Effects of diet complexity and multicarbohydase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, intestinal morphology, and fecal score in newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 9, p. 4060, 2017.

KRISHNAN, H. B. et al. Identification of Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin Subunits that Contribute to the Increased Protein Content of High-Protein Soybean Lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 5, p. 1839–1845, mar. 2007.

KRISHNAN, H. B. et al. All Three Subunits of Soybean  $\beta$ -Conglycinin Are Potential Food Allergens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 938–943, 11 fev. 2009.

KWIECIEN, S. et al. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 65, n. 5, p. 613–22, 2014.

LINDBERG, J. E. Fiber effects in nutrition and gut health in pigs. **Journal of Animal**

**Science and Biotechnology**, v. 5, n. 15, p. 1–7, 2014.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S. O.; MCNEIL, C. J. Glutamine in Animal Science and Production. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2525S–2531S, 1 set. 2001.

MANSO, H. E. C. et al. Glutamine and glutamate supplementation raise milk glutamine concentrations in lactating gilts. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 2, 2012.

MARC RHOADS, J.; WU, G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 111–122, 8 mai 2009.

MCDONALD, D. E. et al. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly-weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, n. 4, p. 487–498, 2001.

MCDONALD, P. et al. **Animal Nutrition**. 7. ed. Harlow, United Kingdom: Pearson Education Limited, 2010.

MOLIST, F. et al. Relevance of functional properties of dietary fibre in diets for weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 189, p. 1–10, mar. 2014.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, n. 1–4, p. 95–117, ago. 2003.

NGOC, T. T. B.; LEN, N. T.; LINDBERG, J. E. Chemical characterization and water holding capacity of fibre-rich feedstuffs used for pigs in Vietnam. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 6, p. 861–868, 2012.

NISHI, T.; HARA, H.; TOMITA, F. Soybean  $\beta$ -Conglycinin Peptone Suppresses Food Intake and Gastric Emptying by Increasing Plasma Cholecystokinin Levels in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 2, p. 352–357, 1 fev. 2003.

NORTEY, T. N. et al. Effects of individual or combined xylanase and phytase supplementation on energy, amino acid, and phosphorus digestibility and growth performance of grower pigs fed wheat-based diets containing wheat millrun. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 6, p. 1432–1443, 2007.

O'NEILL, H. V. M. et al. Effect of xylanase on performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 4, p. 515–523, 2012.

OWUSU-ASIEDU, A. et al. Effect of xylanase and glucanase on growth performance and nutrient digestibility in piglets fed wheat-barley-based diets. **Livestock Science**, v.



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**, v. 1, n. 1, p. 19–23, 2015.

PEDERSEN, N. R. et al. The degradation of arabinoxylan-rich cell walls in digesta obtained from piglets fed wheat-based diets varies depending on digesta collection site, type of cereal, and source of exogenous xylanase. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. Supplement 4, p. 149–151, 1 dez. 2012.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, n. 1–3, p. 215–236, 1997.

RAO, K. M. K. MAP kinase activation in macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 69, n. 1, p. 3–10, 2001.

REEDS, P.; JAHOOOR, F. The amino acid requirements of disease. **Clinical Nutrition**, v. 20, p. 15–22, jun. 2001.

REYES, J. L. et al. Tight Junction Proteins and Oxidative Stress in Heavy Metals-Induced Nephrotoxicity. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–14, 2013.

REZAEI, R. et al. Dietary supplementation with monosodium glutamate is safe and improves growth performance in postweaning pigs. **Amino Acids**, v. 44, n. 3, p. 911–923, 2013.

RUEMMELE, F. M. et al. Lipopolysaccharide modulation of normal enterocyte turnover by toll-like receptors is mediated by endogenously produced tumour necrosis factor  $\alpha$ . **Gut**, v. 51, n. 6, p. 842–848, 2002.

SANTOS DE AQUINO, R. et al. Glutamine and glutamate (AminoGut) supplementation influences sow colostrum and mature milk composition. **Livestock Science**, v. 169, n. C, p. 112–117, nov. 2014.

SCHOKKER, D. et al. Early-life environmental variation affects intestinal microbiota and immune development in new-born piglets. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 2014.

SERENA, A.; HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Influence of dietary fiber on luminal environment and morphology in the small and large intestine of sows. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 9, p. 2217–2227, 2008.

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. **Drug Metabolism Reviews**, v. 32, n. 3–4, p. 307–326, 2000.

SIDO, A. et al. A food-based approach that targets interleukin-6, a key regulator of chronic intestinal inflammation and colon carcinogenesis. **The Journal of Nutritional**

**Biochemistry**, v. 43, p. 11–17, 2017.

TERVILÄ-WILO, A. et al. In Vitro Digestion of Wheat Microstructure with Xylanase and Cellulase from *Trichoderma reesei*. **Journal of Cereal Science**, v. 24, n. 3, p. 215–225, 1996.

WANG, D. et al. Effects of keratinase on 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, n. 12, p. 1718–1728, 2011a.

WANG, D. et al. Effects of keratinase supplementation of corn-soybean meal based diets on apparent ileal amino acid digestibility in growing pigs and serum amino acids, cytokines, immunoglobulin levels and loin muscle area in nursery pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 290–302, ago. 2011b.

WANG, J. et al. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1025–32, 2008.

WANG, T. et al. Comparative study on the residual rate of immunoreactive soybean glycinin (11S) in the digestive tract of pigs of different ages. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 3, p. 201–208, 2010.

WANG, T. et al. Advances of Research on Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin: A Review of Two Major Soybean Allergenic Proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 7, p. 850–862, 5 jan. 2014a.

WANG, Z. et al. Reduction of the allergenic protein in soybean meal by enzymatic hydrolysis. **Food and Agricultural Immunology**, v. 25, n. 3, p. 301–310, 2014b.

WELLOCK, I. J. et al. The consequences of non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on the health and performance of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 520–530, 2008.

WU, G. et al. Maternal dietary protein deficiency decreases amino acid concentrations in fetal plasma and allantoic fluid of pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. January, p. 894–902, 1998.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 8, p. 1249–1252, 1998.

WU, G. Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. **Advances in Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 31–37, 2010.

WU, G. et al. TRIENNIAL GROWTH SYMPOSIUM: Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 7, p. 2017–2030,

1 jul. 2011.

WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 407–411, 2013.

WU, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 34, 2014.

WU, G.; BORBOLLA, A G.; KNABE, D. A. The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 12, p. 2437–2444, 1994.

WU, G.; KNABE, D. A. Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 3, p. 415–24, 1994.

WU, G.; MEIER, S. A.; KNABE, D. A. Dietary Glutamine Supplementation Prevents Jejunal Atrophy in Weaned Pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. October, p. 2578–2584, 1996.

WU, J. J. et al. Induction of immune responses and allergic reactions in piglets by injecting glycinin. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, n. 1, p. 166–173, 2016.

XU, J. Effect of Glycinin and  $\beta$ -conglycinin on the Absorbing Capacity of Mouse Intestinal Epithelial Cells. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 8, n. 2, p. 73–78, 1 fev. 2014.

YIN, Y. L. et al. The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hulless barley varieties in young pigs. **Livestock Production Science**, v. 71, n. 2–3, p. 109–120, 2001.

ZHANG, J. X. et al. Soybean  $\beta$ -Conglycinin Induces Inflammation and Oxidation and Causes Dysfunction of Intestinal Digestion and Absorption in Fish. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–12, 2013.

ZHAO, Y. et al. Disappearance of immunoreactive glycinin and beta-conglycinin in the digestive tract of piglets. **Archives of animal nutrition**, v. 62, n. 4, p. 322–30, 2008.

ZHAO, Y. et al. Effects of glycinin and  $\beta$ -conglycinin on enterocyte apoptosis, proliferation and migration of piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 3, p. 209–218, 2010a.

ZHAO, Y. et al. Effects of glycinin and  $\beta$ -conglycinin on enterocyte apoptosis, proliferation and migration of piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 3, p. 209–218, 2010b.

ZHAO, Y. et al.  $\beta$  -Conglycinin Reduces the Tight Junction Occludin and ZO-1 Expression in IPEC-J2. p. 1915–1926, 2014.

ZUO, J. et al. 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.

## **CAPÍTULO 2**

---

**Efeito do uso de xilanase e protease sobre o desempenho e saúde  
intestinal de suínos recém-desmamados**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A  
LACTAÇÃO E CRECHE**

## **Efeito do uso de xilanase e protease sobre o desempenho e saúde intestinal de suínos recém-desmamados**

### **RESUMO**

Este estudo foi realizado para avaliar o efeito da suplementação de xilanase (Xylamax, BRI, Durham, NC) e protease (Versazyme, BRI) sobre o desempenho, viscosidade da digesta, digestibilidade ileal de nutrientes e saúde intestinal de leitões. Utilizaram-se 48 leitões (24 machos e 24 fêmeas), com 21 dias de idade com  $7,2 \pm 0,4$  kg de peso vivo, alocados aleatoriamente em 4 tratamentos com 12 repetições, em delineamento em blocos casualizados com arranjo fatorial  $2 \times 2$  (Xylamax 0 ou 45000 XU/kg e Versazyme 0 ou 300000 U/kg) em 2 fases (fase 1: duração de 10 dias e fase 2: duração de 14 dias). Consumo de ração e ganho de peso foram mensurados no dia 10 e 24. Dióxido de Titânio (2,5 g/kg) foi adicionado em todas as dietas como um indicador indigestível do dia 20 ao dia 24. No dia 24 todos os suínos foram eutanaziados para obtenção de digesta proveniente do jejuno e íleo para medir viscosidade e digestibilidade ileal aparente, respectivamente. Mucosa do jejuno foi coletada para mensurar o nível de estresse imune e estresse oxidativo. Tecidos do jejuno foram usados para mensurar a morfologia, a proliferação de células da mucosa através de imunohistoquímica de proteína Ki-67 e as proteínas das junções oclusivas. Na fase 2, o uso de xilanase aumentou o ganho de peso diário (GPD) (0,518 – 0,560 kg/dia) ( $P < 0,05$ ), porém, foi ainda melhor com protease ( $P < 0,05$ ). No período total, o uso combinado de xilanase e protease aumentou o GPD quando comparado ao uso individual (0,503 vs. 0,442 e 0,437 kg/d) ( $P < 0,05$ ), enquanto que a protease melhorou a eficiência alimentar (0,765 – 0,793) ( $P < 0,05$ ). No jejuno, a xilanase reduziu a viscosidade da digesta (2,69 – 2,36 mPa.s) e o conteúdo de malonaldeído (MDA) na mucosa (1,14 – 0,95  $\mu$ M), profundidade de cripta (220 - 198  $\mu$ m) e a proliferação celular (20,3 – 17,6%) ( $P < 0,05$ ), enquanto que a protease aumentou a altura de vilos (439 - 493  $\mu$ m), profundidade de cripta (229 - 189  $\mu$ m) e proliferação celular na cripta (21,5 – 15,9%) ( $P < 0,05$ ). O uso combinado de xilanase e protease aumentou a claudina (0,047 – 0,076 intensidade da banda) e a ocludina (0,126 – 0,161 intensidade da banda) no jejuno ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença entre os tratamentos sobre

a digestibilidade aparente dos nutrientes. A xilanase melhora o desempenho, a viscosidade e reduz o estresse oxidativo na mucosa intestinal, enquanto que a protease melhora a eficiência alimentar e a integridade do intestino. O uso combinado de xilanase e protease melhoram o desempenho e a permeabilidade do intestino de leitões recém-desmamados.

**Palavras-chave:** carboidratos, enzimas, globulinas, leitões.

## **Effect of the use of xylanase and protease on performance, and gut health of newly weaned pigs**

### **ABSTRACT**

This study was to investigate the effect of supplemental xylanase and protease on growth performance, digesta viscosity, apparent ileal digestibility of nutrients, and gut health in nursery pigs. Forty-eight pigs (24 barrows and 24 gilts at 21 d of age with  $7.2 \pm 0.4$  kg BW) were randomly allotted to 4 treatments ( $2 \times 2$  factorial arrangement) in 2 phases (phase 1 for 10 d and phase 2 for 24 d). Factors were xylanase (0 or 45,000 XU/kg) and protease (0 or 300,000 U/kg). Feed intake and BW gain were measured d 10 and 24. Titanium oxide (2.5 g/kg) was added to all diets as an indigestible external marker from d 20 to 24. On d 24, all pigs were euthanized to obtain jejunal and ileal digesta to measure viscosity and apparent ileal digestibility, respectively. The jejunal mucosa was collected to measure immune and oxidative stress status. Jejunal tissues were used to measure morphology, the proliferation of crypt cells by immunohistochemistry of Ki-67, and tight junction proteins. In phase 2, xylanase increased the average daily gain (ADG) ( $P < 0.05$ ) (0.518 to 0.560 kg/d) which was further increased ( $P < 0.05$ , interaction) with protease. Overall, combinational use of xylanase and protease increased ( $P < 0.05$ ) ADG (0.503 vs. 0.442 and 0.437 kg/d) compared with the use of xylanase or protease alone, whereas protease improved ( $P < 0.05$ ) feed efficiency (0.765 to 0.793). In jejunum, xylanase reduced ( $P < 0.05$ ) viscosity of digesta (2.69 to 2.36 mPa.s), mucosal malondialdehyde (MDA) (1.14 to 0.95  $\mu$ M), crypt depth (220 to 198  $\mu$ m) and crypt cell proliferation (20.3 to 17.6%), and protease increased ( $P < 0.05$ ) villus height (439 to 493  $\mu$ m), crypt depth (229 to 189  $\mu$ m) and crypt cell proliferation (21.5 to 15.9%). Combinational use of xylanase and protease increased ( $P < 0.05$ ) claudin (0.047 to 0.076 band intensity) and occludin (0.126 to 0.161 band intensity) in jejunum. Apparent ileal digestibility of nutrients was not different among treatments. Collectively, xylanase improve growth performance, digesta viscosity, and oxidative stress, and protease improve feed efficiency and gut integrity. The combinational use of xylanase and protease enhance growth performance and tight junction proteins in newly weaned pigs.

**Keywords:** carbohydrate, enzyme, globulin, piglets.



## INTRODUÇÃO

O desmame precoce é a prática de manejo mais delicada para os suínos, pois estes são expostos repentinamente às alterações nutricionais, imunológicas e psicológicas. Dentre estas mudanças, a dieta seca à base de vegetais, além de ser menos digestível e por conter fatores antinutricionais, substitui parcialmente o leite da matriz suína, que é rico em proteína, gordura e lactose, nutrientes altamente digestíveis, o que provoca alterações fisiológicas e, conseqüentemente, afeta o desempenho dos leitões recém-desmamados.

O milho e o farelo de soja são os ingredientes mais utilizados na dieta de monogástricos no mundo. No entanto, estes ingredientes possuem significativa quantidade de fatores antinutricionais, que podem afetar o desempenho dos animais (BERROCOSO et al., 2015; GUTIERREZ et al., 2014; IVARSSON et al., 2010; JHA; BERROCOSO, 2015). Em leitões, esses efeitos são ainda mais acentuados devido à sua baixa capacidade de digestão de dietas à base de vegetais (LINDBERG, 2014).

O conteúdo de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) na parede celular vegetal é um dos fatores que limitam o uso de vegetais na dieta de leitões. Os principais PNAs em dietas para monogástricos são: o arabinoxilano presente no milho (JAWORSKI et al., 2015), o xiloglucano e xilano na soja (KARR-LILIENTHAL et al., 2005). Animais monogástricos não possuem enzimas endógenas com capacidade para digerir PNAs; uma vez ingeridos, os PNAs podem aumentar a viscosidade da digesta, alterar a morfologia epitelial do intestino e reduzir a digestibilidade dos nutrientes (JHA; BERROCOSO, 2015; LINDBERG, 2014).

A glicinina e  $\beta$ -conglucina são as principais globulinas de reserva da soja (KRISHNAN et al., 2007), apresentam efeito alergênico que podem reduzir o desempenho e alterar a morfologia do epitélio intestinal (WANG et al., 2010, 2014, ZHAO et al., 2008, 2010). Além disso, essas proteínas possuem resistência à hidrólise pelas enzimas endógenas devido à presença de ligações dissulfeto (WANG et al., 2014). Em função da imaturidade do sistema digestório de animais jovens, a imunorreatividade dessas proteínas e seus segmentos são ainda mais acentuadas quando comparadas a animais adultos (WANG et al., 2009, 2010; ZHAO et al., 2008).

Diante disso, a suplementação dietética com enzimas exógenas, como xilanase, reduzem o conteúdo de PNAs na dieta e, conseqüentemente, melhoram o aproveitamento dos nutrientes (LÆRKE et al., 2015; PEDERSEN et al., 2012), enquanto que a protease complementa a atividade proteolítica, principalmente, ao hidrolisar proteínas resistentes às enzimas endógenas (WANG et al., 2011). Além disso, a melhora na digestibilidade devido a utilização de enzimas exógenas reduz a excreção de nutrientes (FERKET et al., 2002).

Dessa forma, ao eliminarem os efeitos dos fatores antinutricionais, essas enzimas melhoram o desempenho de suínos recém-desmamados através dos benefícios no trato gastrointestinal, melhorando a digestibilidade de nutrientes. Este estudo foi conduzido para avaliar o efeito da suplementação de xilanase e protease sobre o desempenho, viscosidade da digesta, estresse oxidativo, estado imunológico, digestibilidade ileal aparente e saúde intestinal de leitões do 21º ao 45º dia de idade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo utilizado neste estudo foi aprovado pelo Animal Care and Use Committee da Universidade do Estado da Carolina do Norte.

Utilizaram-se 48 leitões (24 machos e 24 fêmeas) de linhagem híbrida (Landrace x Large White x Duroc) recém-desmamados aos 21 dias de idade, com  $7,2 \pm 0,4$  kg de peso vivo, distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso, sendo o sexo e o peso inicial utilizados como critério para distribuição nos blocos. Utilizaram-se 4 tratamentos em um esquema fatorial 2 x 2. Os fatores foram xilanase (0 ou 45000 XU/kg, Xylamax, BRI, Durham, NC) e protease (0 ou 300000 U/kg, Versazyme, BRI). As enzimas foram adicionadas às dietas como suplemento, de acordo com o respectivo tratamento. As dietas experimentais foram formuladas para atender aos requerimentos nutricionais para leitões preconizados pelo NRC (2012) em duas fases: fase 1 (com duração de 10 dias) e fase 2 (com duração de 14 dias) (Tabela 1). Dessa forma, os 4 tratamentos dietéticos consistiram de: Controle (dieta basal sem suplementação de enzimas); Xilanase (dieta basal com 45000 XU/kg de xilanase); Protease (dieta basal com 300000 U/kg de protease); Xilanase

+ protease (dieta basal com 45000 XU/kg de xilanase e 300000 U/kg de protease), onde cada tratamento teve 12 repetições (12 gaiolas por tratamento e um leitão por gaiola).

Os animais tinham acesso livre à ração e à água. 0,25% de dióxido de titânio foi adicionado às dietas do dia 20 ao dia 24 como indicador indigestível para determinar a digestibilidade dos nutrientes. O peso dos leitões e das sobras foram aferidos individualmente no dia 10 e no dia 24 para determinação do peso corporal (PC), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD) e eficiência alimentar (G:C).

Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular de todos os leitões aos 21 dias de experimento, em vacutainers, sem anticoagulante (BD, Franklin Lakes, NJ). O soro foi obtido após centrifugação (3000 g x 15 min) em temperatura ambiente e, em seguida, armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  em tubos eppendorf, análises para determinar as concentrações de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), como um indicador da resposta inflamatória; proteína carbonil e malonaldeído (MDA), como indicadores do estresse oxidativo; e imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina A (IgA) como indicadores do estado imune.

Tabela 1. Composição nutricional das dietas basais para leitões em diferentes fases

Ingrediente, %	Fase 1	Fase 2
Milho	32,04	43,72
Farelo de soja	23,00	27,00
Plasma sanguíneo	3,30	0,00
DDGS <sup>1</sup> de milho	20,00	20,00
Permeado de soro <sup>2</sup>	12,00	2,00
Farinha de aves	5,00	3,00
L-Lys HCl	0,35	0,35
DL-Met	0,08	0,05
L-Thr	0,03	0,03
Calcário	1,30	1,10
Premix vitamínico <sup>3</sup>	0,03	0,03
Premix mineral <sup>4</sup>	0,15	0,15
Sal	0,22	0,22
Óxido de Zinco	0,25	0,25
Fosfato bicálcio	0,15	0,50
Óleo de aves	2,00	1,50
Suplemento (milho ou enzima)	0,10	0,10
Total	100,00	100,00
Composição calculada		
MS, %	90,8	89,7
EM Mcal/kg	3,41	3,37
SID <sup>5</sup> Lys, %	1,35	1,24
SID M+C, %	0,74	0,68
SID Trp, %	0,25	0,22
SID Thr, %	0,79	0,73
Ca, %	0,80	0,71
STTD P, %	0,41	0,34
Total P, %	0,63	0,59

<sup>1</sup>Grãos secos destilados com solúveis; <sup>2</sup>DairyLac80 (International Ingredient Corporation) foi usado como fonte de permeado de soro, contém  $79,3 \pm 0,8\%$  lactose. <sup>3</sup>Premix vitamínico por quilograma de dieta completa: 6613,8 UI de vitamina A como vitamina A acetato, 992,0 UI de vitamina D3, 19,8 UI de vitamina E, 2,64 mg de vitamina K como Bisulfato de sódio com menulfona, 0,03 mg de vitamina B12, 4,63 mg de riboflavina, 18,52 mg de ácido d-pantotênico como pantotenato de cálcio, 24,96 mg de niacina, e 0,07 mg de biotina. <sup>4</sup>Premix mineral por quilograma de dieta completa: 4,0 mg de Mn como óxido de manganês, 165 mg de Fe como sulfato ferroso, 165 mg de Zn como sulfato de zinco, 16,5 mg de Cu como sulfato de cobre, 0,30 mg de I como diidrodeto de etilenodiamina, e 0,30 mg de Se como selenito de sódio. <sup>5</sup> SID = Digestibilidade ileal padronizada.

No final do 24º dia de experimento, todos os suínos foram eutanasiados. Em seguida, o trato gastrointestinal foi removido para coleta de amostras. Digestas provenientes do íleo foram colocadas em containers (50mL), pesados e armazenados a -

20°C. Todas as amostras de digesta ileal foram liofilizadas, moídas e armazenadas até a realização das análises para determinação do coeficiente de digestibilidade ileal aparente (CDIA). Digesta do jejuno foi coletada em tubos falcons (50 mL), colocados em gelo e imediatamente levadas ao laboratório para medir a viscosidade. Amostras de digesta (10 mL) proveniente do cólon foram coletadas em tubos falcons (15 mL) para aferição do pH.

Amostras de mucosa do jejuno medial foram coletadas em tubos eppendorf (2 mL) para medir as concentrações de proteína carbonil, TNF- $\alpha$ , MDA, IgG e IgA. As amostras foram armazenadas a -80°C logo depois do congelamento instantâneo em nitrogênio líquido após a coleta. 500 mg de cada amostra de mucosa foram suspensas em água deionizada (1 mL) e homogeneizadas a 4°C, utilizando-se um homogeneizador de tecidos (Tissuemiser; Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA USA). O conteúdo homogeneizado foi centrifugado (14.000 g x 30 min) e o sobrenadante foi armazenado a -80°C até análise.

Seguimentos do jejuno medial foram obtidos e fixados em formalina a 10% por 3 semanas para coloração imunohistoquímica de proteínas Ki-67 para determinação do coeficiente de proliferação celular. Em seguida, realizaram-se as avaliações histológicas, mensurando a proliferação dos enterócitos, altura e largura dos vilos e profundidade das criptas. Além disso, amostras de tecido do jejuno foram coletadas e armazenadas a -80°C até análise para quantificar, através de Western Blot, as proteínas das junções oclusivas como indicadores da permeabilidade e integridade intestinal.

A metodologia utilizada para medição da viscosidade da digesta foi descrita por Passos et al. (2015). As amostras de digesta do jejuno foram divididas em 2 tubos (15 mL) e centrifugadas (3000 g x 10 min). Em seguida, o sobrenadante foi colocado em tubos eppendorf (2 mL) e centrifugados (12.500 g x 5 min). O viscosímetro (Brookfield Digital Viscometer, Model DV2TLV, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA) foi configurado a 25°C. Coletou-se 0,5 mL de sobrenadante e foi colocado no viscosímetro. O resultado final foi calculado de acordo com a média da viscosidade nas taxas de cisalhamento a 45,0 sec<sup>-1</sup> e 22,5 sec<sup>-1</sup>. Os valores foram registrados como viscosidade aparente em milipascal por segundo (mPa.s). O pH da digesta foi mensurado imediatamente após a coleta através do AB15 Basic pH meter (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA).

A concentração de dióxido de titânio de todas as amostras (ração e digesta) foi mensurada de acordo com Myers et al. (2004) para determinar a CDIA dos nutrientes. A energia bruta (EB) foi mensurada em bomba calorimétrica (Parr 6200 – Parr instrument company, Moline, Illinois). O conteúdo de nitrogênio foi mensurado utilizando o TruSpec N Nitrogen Determinator (LECO Corp., St. Joseph, MI) para calcular a proteína bruta (PB) ( $6,25 \times N$ ).

A CDIA dos nutrientes foi calculada utilizando a equação:

$$\text{CDIA [\%]} = \{1 - [(TiO_{2dieta}/TiO_{2digesta}) * (\text{Nutriente}_{digesta}/\text{Nutriente}_{dieta})]\},$$

onde,  $TiO_{2dieta}$  e  $TiO_{2digesta}$  são as concentrações de dióxido de titânio na dieta e na digesta respectivamente;  $\text{Nutriente}_{digesta}$  e  $\text{Nutriente}_{dieta}$  são as concentrações de nutriente na digesta e na dieta, respectivamente.

As concentrações de proteína total, MDA, proteína carbonil IgG, IgA e TNF- $\alpha$  foram mensuradas através do teste imunoenzimático – ELISA, utilizando kits comercialmente disponíveis e seguindo as instruções do fabricante. A absorbância foi aferida utilizando o leitor de microplaca para ELISA (Synergy HT, BioTek Instruments, Winooski, VT) e o software (Gen5 Data Analysis Software, BioTek Instruments). As concentrações dos parâmetros analisados foram calculadas com base na curva criada pela concentração e absorbância dos respectivos padrões.

A concentração de proteína total da mucosa e do soro foi determinada utilizando-se o kit Pierce BCA Protein Assay (23225#, Thermo Fisher Scientific Inc. Rockford, IL). As amostras foram diluídas (1:80) para alcançar a melhor faixa de detecção. Soro Albumina Bovina foi utilizado como padrão em um limite de detecção de 20 a 2000  $\mu\text{g/mL}$ . A absorbância foi mensurada a 562 nm e a concentração de proteína no soro e na mucosa foi expressa em  $\mu\text{g/mL}$ .

A concentração de MDA no soro e na mucosa foi determinada através do Kit de Ensaio de Substâncias Reativa a Ácido Tiobarbitúrico (STA-330, Cell Biolabs, San Diego, CA). O padrão de MDA foi diluído em água deionizada obtendo, assim, uma faixa de detecção 0,98 a 125  $\mu\text{M}$ . Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  de cada amostra e do padrão foram pipetados e colocados em microtubos de plástico, seguido por adição de 100  $\mu\text{L}$  de solução SDS lysis em todas as amostras e no padrão e incubação durante 5 minutos em temperatura ambiente. Em seguida foram adicionados 250  $\mu\text{L}$  de reagente ao ácido tiobarbitúrico (TBA) em todas as amostras e no padrão. Todos os tubos foram incubados

a 95°C por 60 min em banho-maria e em seguida colocados em gelo por 5 min antes de serem centrifugados (3000 g x 15 min). Alíquotas de 300 µL do sobrenadante foram transferidas para outro tubo juntamente com 300 µL de butanol misturados em vortex por 1 minuto e em seguida centrifugados a 10.000 g por 5 minutos. Alíquotas de 200 µL do sobrenadante foram transferidas para microplaca de 96 poços. A absorbância foi mensurada a 532 nm e a concentração de MDA no soro e na mucosa foi expressa como µmol/L e µmol/g proteína, respectivamente.

A concentração de proteína carbonil foi mensurada através do kit ELISA (STA-310, Cell Biolabs). Para proceder as análises, as amostras foram diluídas em água deionizada para se obter a concentração de proteína total de 10 µg/mL nas amostras. O padrão foi utilizado em uma faixa de determinação de 0,375 a 7,5 nmol/mg. Alíquotas de 100 µL de amostras com concentração de proteína total de 10 µg/mL ou padrão foram adicionados em uma microplaca com ligação de proteína. O conteúdo de carbonil proteína foi derivatizado para dinitrofenil (DNP) hidrazina e examinado com o anticorpo anti-DNP, seguido por incubação com um anticorpo conjugado com peroxidase de rábano (HRP). A absorbância foi mensurada a 450 nm e a concentração de proteína carbonil no soro e na mucosa foi expressa como µg/mL.

A determinação da concentração de TNFα foi realizada através do kit Porcine Immunoassay ELISA (PTA00; R&D System Inc. Minneapolis, MN). O padrão foi utilizado com uma faixa de detecção de 2,8 a 5,0 pg/mL. Alíquotas de 50 µL de amostra, do padrão e do controle foram adicionados em microplaca revestida com anticorpo monoclonal para *porcine* TNFα. A absorbância foi mensurada a 450 nm e 550 nm e a concentração de TNFα no soro e na mucosa foi expressa como ng/mL e ng/mg de proteína, respectivamente.

As análises para detecção de IgG e IgA foram realizadas de acordo (CHAYTOR et al., 2011). Para análise de IgG, as amostras de soro e mucosa foram diluídas com água deionizada para 1:160.000 e 1:1000, respectivamente e então analisadas usando o kit ELISA Pig IgG (E101-104, Bethyl Laboratories, Inc, Montgomery, TX). O padrão foi utilizado com uma faixa de detecção de 7,8 a 500 ng/mL. A absorbância foi mensurada a 450 nm e a concentração de IgG no soro e na mucosa foi expressa como µg/mL e µg/µg de proteína, respectivamente. Para análise de IgA, as amostras de mucosa foram diluídas para 1:400 com água deionizada e então analisadas usando o kit ELISA Pig IgA (E101-

102, Bethyl Laboratories, Inc). O padrão foi utilizado com uma faixa de detecção de 15,6 a 1000 ng/mL. A absorbância foi mensurada a 450 nm e a concentração de IgA na mucosa foi expressa como  $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  de proteína.

Duas secções de jejuno fixados em formalina tamponada foram transferidas para uma solução de etanol a 70% e enviadas para o laboratório de histologia da North Carolina State University (College of Veterinary Medicine, Raleigh, NC) para avaliação morfológica e coloração da proteína Ki-67. As lâminas foram analisadas através de uma câmera Infinity 2-2 digital CCD ligada a um microscópio Olympus CX31 (Lumenera Corporation, Ottawa, Canada).

A altura dos vilos foi medida do topo do vilos à junção vilos-cripta; a largura foi medida no meio do vilos e a profundidade das criptas medida da junção vilos-cripta à base da cripta. Foram mensurados 15 vilos bem orientados e intactos e suas respectivas criptas desde que intactas. As imagens de criptas intactas eram recortadas (15 criptas por animal) e então analisadas pelo software Image JS para determinação da taxa de células Ki-67 positivo, sendo realizadas as análises morfológicas pela mesma pessoa.

Seis amostras do jejuno medial dos tratamentos controle e do tratamento (Xylamax + Versazyme) foram utilizados para medir as proteínas das junções oclusivas como descrito por (YANG et al., 2015). Amostras de tecidos (500 mg) do jejuno foram pesadas e suspensas em 0,5 mL de RIPA lysis e solução tampão de extração contendo 5  $\mu\text{L}$  de coquetel inibidor de protease. As amostras foram homogeneizadas (Tissuemiser; Thermo Fisher Scientific Inc.) em gelo, depois foram centrifugadas ( $10.000 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$  por 10 min) para coleta do sobrenadante. A concentração de proteína do sobrenadante foi ajustada para 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  utilizando o teste ELISA para quantificar proteína como mencionado acima. O sobrenadante ajustado foi, então, desnaturado a  $100^\circ\text{C}$  por 5 min e foi colocado em microtubos para SDS-PAGE. Em seguida, o gel foi movido sobre membrana de polivinilideno fluoreto (PVDF) para transferência das proteínas alvo para a membrana. As proteínas foram, através de eletroforese, transferidas a 90 mV por 1 hora. Estas foram então bloqueadas em 5% de leite desnatado, e incubados por 12 horas a  $4^\circ\text{C}$  com os anticorpos primários contra claudina, ocludina, proteína de zônula ocludente 1 (ZO-1) e  $\beta$ -actina. As membranas foram subsequentemente lavadas e incubadas por 1h em temperatura ambiente com anticorpos secundários com HRP conjugado. A imunotransferência foi realizada com o kit de substrato DAB (34002; Pierce, Rockford,



IL). A densidade das bandas foi identificada pelo uso do software analisador de imagens (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE).

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o proc MIXED do SAS versão 9.4 (SAS Inc., Cary, NC, USA). A unidade experimental foi o leitão com os dois fatores e o sexo como efeito fixo e o peso inicial como efeito aleatório. As diferenças estatísticas foram consideradas significantes com  $P < 0,05$ . As probabilidades  $< 0,10$  e  $\geq 0,05$  foram consideradas tendências.

## RESULTADOS

Os dados de desempenho dos leitões alimentados com dietas contendo xilanase ou protease encontram-se na tabela 2. O uso de enzimas não afetou o peso corporal (PC) dos leitões aos 10 dias após o desmame. Quando utilizadas individualmente, a xilanase e a protease não afetaram o PC final aos 24 dias após o desmame, enquanto que o uso combinado das enzimas aumentou o PC final ( $P < 0,05$ ).

Tabela 2. Desempenho de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease

Item	Xil. <sup>1</sup> 0,00%		Xil. 0,03%		EPM	P value		
	Ver <sup>2</sup> 0,00%	Ver. 0,05%	Ver. 0,00%	Ver. 0,05%		Ver.	Xil.	Xil+Ver.
Peso corporal, kg								
Inicial	7,2	7,2	7,2	7,2	0,4	0,951	0,742	0,789
Dia 10	10,7	10,6	10,5	11,0	0,5	0,442	0,726	0,155
Dia 24	18,1	17,7	17,8	19,3	0,7	0,243	0,142	0,046
GPD, kg/d								
Dia 0 ao 10	0,354	0,335	0,321	0,380	0,025	0,416	0,799	0,121
Dia 10 ao 24	0,526	0,510	0,528	0,591	0,022	0,212	0,032	0,041
Dia 0 ao 24	0,454	0,437	0,442	0,503	0,020	0,222	0,149	0,036
CRD, kg/d								
Dia 0 ao 10	0,414	0,390	0,391	0,445	0,028	0,566	0,536	0,132
Dia 10 ao 24	0,713	0,674	0,723	0,773	0,033	0,842	0,063	0,121
Dia 0 ao 24	0,589	0,556	0,585	0,636	0,029	0,711	0,135	0,099
G:C								
Dia 0 ao 10	0,850	0,855	0,814	0,869	0,031	0,343	0,727	0,424
Dia 10 ao 24	0,740	0,760	0,733	0,771	0,018	0,118	0,897	0,615
Dia 0 ao 24	0,773	0,787	0,756	0,799	0,014	0,035	0,830	0,279

<sup>1</sup>Xilanase; <sup>2</sup>Versazyme.

A utilização individual ou combinada de xilanase e protease não afetou o GPD na fase 1. No entanto, na fase 2, a xilanase aumentou o GPD ( $P < 0,05$ ) que foi ainda maior quando suplementada juntamente com protease ( $P < 0,05$ ). Durante o período total, o uso

combinado de xilanase e protease aumentou o GPD ( $P < 0,05$ ). O CRD não foi afetado pela suplementação dietética com as enzimas na fase 1. Porém, durante a fase 2, houve tendência para aumento do CRD com a suplementação de xilanase ( $P = 0,063$ ), enquanto que durante o período total houve tendência para aumento do CRD com a suplementação combinada de xilanase e protease ( $P = 0,099$ ).

A suplementação enzimática não afetou significativamente a eficiência alimentar quando cada fase foi analisada separadamente, mas no período total houve melhora na eficiência alimentar devido à suplementação com protease ( $P < 0,05$ ).

Na tabela 3 são mostrados os coeficientes de digestibilidade da EB, PB e MS e as características das digestas. O uso de xilanase na dieta de leitões reduziu a viscosidade da digesta ileal ( $P < 0,05$ ), entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos sobre o pH ou a digestibilidade dos nutrientes avaliados.

Tabela 3. Coeficiente de Digestibilidade Ileal Aparente (com base na MS) de energia, PB e MS e características da digesta de animais alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease

Item	Xil. <sup>1</sup> 0,00%		Xil. 0,03%		SEM	P value		
	Ver. <sup>2</sup> 0,00%	Ver. 0,05%	Ver. 0,00%	Ver. 0,05%		Ver.	Xil.	Xil+Ver.
EB, %	0,672	0,661	0,667	0,688	0,029	0,855	0,705	0,586
PB, %	0,785	0,794	0,787	0,796	0,016	0,557	0,888	0,982
MS, %	0,671	0,611	0,644	0,601	0,032	0,138	0,635	0,720
pH da digesta	6,268	6,348	6,297	6,448	0,101	0,258	0,529	0,725
Viscosidade da digesta mPa.s	2,674	2,710	2,477	2,240	0,137	0,452	0,016	0,307

<sup>1</sup>Xilanase; <sup>2</sup>Versazyme.

Os resultados das avaliações do estado imune e estresse oxidativo são demonstrados na tabela 4. O estado imune dos leitões determinado pelas concentrações de TNF- $\alpha$ , IgG e IgA no soro e na mucosa não foram afetados estatisticamente pela suplementação individual ou combinada com xilanase ou protease. Contudo, a xilanase reduziu a concentração de MDA na mucosa ( $P < 0,05$ ), bem como tendeu a reduzir a concentração de proteína carbonil na mucosa ( $P = 0,066$ ) indicando uma melhora no estresse oxidativo na mucosa do jejuno de leitões aos 24 dias após o desmame.

Tabela 4. Estresse oxidativo e estado imune de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease

Item	Xil. <sup>1</sup> 0,00%		Xil. 0,03%		SEM	P value		
	Ver. <sup>2</sup> 0,00%	Ver. 0,05%	Ver. 0,00%	Ver. 0,05%		Ver.	Xil.	Xil+Ver.
Proteína Carbonil, nmol/mg								
Mucosa	1,152	1,073	0,959	0,794	0,143	0,322	0,066	0,724
Soro	0,619	0,579	0,552	0,514	0,093	0,647	0,443	0,991
MDA								
Mucosa, µM/ mg protein	1,212	1,066	0,975	0,923	0,105	0,212	0,022	0,500
Soro, µM	23,124	20,848	23,419	18,455	3,911	0,301	0,763	0,699
IgA, µg/µg protein								
Mucosa	1,121	0,819	1,163	1,103	0,177	0,143	0,187	0,315
IgG								
Mucosa, µg/µg protein	3,553	3,482	3,715	3,444	0,416	0,597	0,846	0,755
Soro, ug/mL	5,341	5,169	4,760	4,818	0,488	0,895	0,288	0,791
TNF-α								
Mucosa, pg/µg protein	1,170	0,930	0,940	0,996	0,190	0,625	0,664	0,432
Soro, pg/mL	126,700	112,640	121,740	115,400	7,220	0,171	0,881	0,600

<sup>1</sup>Xilanase; <sup>2</sup>Versazyme.

Os dados sobre a morfologia do jejuno e coeficiente de proliferação dos enterócitos no jejuno de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease encontram-se na tabela 5.

Tabela 5. Morfologia do jejuno e coeficiente de proliferação dos enterócitos de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease

Item <sup>1</sup>	Xil. <sup>2</sup> 0,00%		Xil. 0,03%		SEM	P value		
	Ver. <sup>3</sup> 0,00%	Ver. 0,05%	Ver. 0,00%	Ver. 0,05%		Ver.	Xil.	Xil+Ver.
Altura dos Vilos	422,090	474,050	456,260	512,490	21,428	0,014	0,092	0,919
Largura dos Vilos	97,095	98,143	101,600	96,969	3,891	0,624	0,649	0,439
Profund. de Cripta	238,310	201,730	220,020	176,420	9,077	<0,001	0,019	0,695
Relação V:C <sup>4</sup>	1,774	2,381	2,118	2,942	0,121	<0,001	<0,001	0,346
Ki67 <sup>5</sup> (%)	23,3	18,3	19,7	15,5	1,400	<0,001	0,011	0,739

<sup>1</sup>Medidas em µm; <sup>2</sup>Xilanase; <sup>3</sup>Versazyme; <sup>4</sup>Relação vilos/cripta; <sup>5</sup>Coeficiente de proliferação celular

O uso de xilanase na dieta de leitões tendeu a aumentar a altura dos vilos ( $P = 0,09$ ), enquanto que a protease aumentou a altura de vilos no jejuno de leitões aos 24 dias após o desmame ( $P < 0,05$ ). O uso individual das enzimas reduziu a profundidade das criptas e a proliferação dos enterócitos (ki67) e aumentou a relação V:C ( $P < 0,05$ ).

Para avaliar o estado da permeabilidade da mucosa intestinal foi avaliada a expressão das proteínas das junções oclusivas. Os resultados dessa análise são apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Proteínas das junções oclusivas do jejuno de leitões alimentados com dietas suplementadas com xilanase e protease

Ítem	Controle	Protease + Xilanase	EPM	P valor
-----Intensidade da Banda (% do controle) normalizado com $\beta$ -actina-----				
Claudina	0,047	0,076	0,006	0,012
Ocludina	0,126	0,161	0,007	0,007
ZO-1	0,110	0,120	0,014	0,321

O uso combinado de xilanase e protease melhorou a permeabilidade entérica no jejuno medial devido ao aumento na expressão de claudina e ocludina ( $P < 0,05$ ). No entanto, a expressão de Zo-1 não foi alterada significativamente pelos tratamentos.

## DISCUSSÃO

O uso de enzimas exógenas na dieta de leitões é uma ferramenta importante para redução dos fatores antinutricionais, melhorar a eficiência na digestão e absorção de nutrientes e, conseqüentemente, melhorar o desempenho dos animais (ADEOLA; COWIESON, 2011; KIARIE; ROMERO; NYACHOTI, 2013). Porém, os resultados relacionados ao uso de xilanase e protease apresentados na literatura não são consistentes. Aparentemente, isso se deve às interações entre a idade dos animais, composição das dietas e forma de utilização das enzimas (ADEOLA; COWIESON, 2011; KERR; SHURSON, 2013; KIARIE; ROMERO; NYACHOTI, 2013; LINDBERG, 2014).

Neste estudo, o peso final dos leitões melhorou apenas quando xilanase e protease foram utilizadas em conjunto. Esse efeito no peso final foi conseqüência do GPD, que apresentou efeitos semelhantes na segunda fase e no período total de experimento. O aumento no GPD pode ser explicado pela tendência no aumento do CRD na segunda fase, causado pelo uso da xilanase e no período total quando as duas enzimas foram utilizadas juntas, assim como pela maior eficiência alimentar promovida pelo uso da protease no período total.

Um dos fatores que influenciam o consumo de ração são as propriedades físico-químicas dos PNAs, como solubilidade e fermentabilidade em água e suas interações (KERR; SHURSON, 2013). Em dietas à base de milho e farelo de soja, a maior fração dos PNAs é insolúvel (GUTIERREZ et al., 2014; JAWORSKI et al., 2015; NGOC; LEN;

LINDBERG, 2012), bem como com a crescente disponibilidade e utilização de subprodutos como o DDGS nas dietas. É importante salientar que, geralmente, o conteúdo de PNAs nos subprodutos é maior do que nos respectivos grãos de origem (CHOCT, 2015; GUTIERREZ et al., 2014; JAWORSKI et al., 2015).

A fração dos PNAs insolúvel atua impedindo a ação das enzimas digestivas sobre os nutrientes no interior da célula vegetal (NORTEY et al., 2007; O'NEILL et al., 2012; OWUSU-ASIEDU et al., 2010; TERVILÄ-WILO et al., 1996), além de aumentar da taxa de passagem e o volume do quimo (JHA; BERROCOSO, 2015; NORTEY et al., 2007). Já os PNAs solúveis apresentam alta capacidade de retenção de água e aumento da viscosidade, o que aumenta o volume da digesta (BERROCOSO et al., 2015; JHA; BERROCOSO, 2015; MCDONALD et al., 2001). A distensão da parede, causada pelo aumento do volume da digesta no trato digestivo, estimula a produção de colescistoquinina (CCK), hormônio que atua no controle da saciedade, bem como estimula a síntese e secreção pancreática (MCDONALD et al., 2010), o que pode aumentar as perdas endógenas e conseqüentemente afetar o desempenho (AGYEKUM et al., 2015; AGYEKUM; NYACHOTI, 2017).

Diante disso, o aumento do GPD devido ao uso de xilanase na segunda fase pode ser explicado pela degradação dos arabinoxilanos que foi comprovada pela redução de 13% na viscosidade da digesta ileal. A capacidade de aumentar a viscosidade tem sido relacionada aos efeitos deletérios dos PNAs no lúmen intestinal (CHOCT et al., 2004; MCDONALD et al., 2001; WELLOCK et al., 2008). Além disso, a hidrólise parcial dos PNAs resulta em oligossacarídeos, que podem atuar como prebióticos, liberando os nutrientes encapsulados no interior das células (AGYEKUM et al., 2015; MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003; PEDERSEN et al., 2012), o que pode estar relacionado à melhora no desempenho (KIARIE; ROMERO; NYACHOTI, 2013; KIARIE; WALSH; NYACHOTI, 2016).

Outro fator que afeta o consumo de ração é a presença de glicinina e  $\beta$ -conglucininina na dieta de leitões (ZHAO et al., 2008). Nishi et al. (2003) demonstraram, em ratos, que a  $\beta$ -conglucininina se liga a componentes da parede celular do trato gastrointestinal e estimula a produção de CCK. Dessa forma, a inclusão dietética de protease, capaz de hidrolisar proteínas com ligações dissulfeto e reduzir seus efeitos sobre a mucosa intestinal, pode aumentar o consumo de ração (ZUO et al., 2015). No entanto,

o efeito da protease utilizada nesse estudo sobre o consumo tendeu a ser maior quando combinada com xilanase devido à redução da viscosidade, pois de acordo com Adeola e Cowieson (2011), a maior viscosidade reduz o acesso das enzimas aos substratos.

A melhora na eficiência alimentar com o uso de protease durante o período total pode indicar redução da necessidade nutricional para manutenção devido à degradação da glicinina e  $\beta$ -conglucina. Isso ocorre porque, além de estimular a secreção de CCK, a presença dessas globulinas na dieta podem ativar a resposta imune e causar danos aos enterócitos, reduzir os vilos, aumentar a profundidade das criptas e aumentar a taxa de proliferação dos enterócitos (JUN et al., 2009; PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997; ZHANG et al., 2013; ZHAO et al., 2010). Isso induz o organismo a mobilizar nutrientes para reparo do epitélio, função imune e proliferação dos enterócitos (XU, 2014).

Dessa forma, mesmo com a significativa melhora do desempenho observada nesse estudo, a suplementação dietética com xilanase ou protease não afetou a digestibilidade da MS, PB ou energia da dieta, apesar de vários estudos relatarem que o uso de xilanase (CADOGAN; CHOCT, 2015; PASSOS et al., 2015; YIN et al., 2001) e protease (CHEN et al., 2017; WANG et al., 2011; YIN et al., 2001; ZUO et al., 2015) na dieta de suínos melhoram a digestibilidade de nutrientes. Isso pode ser devido à alta relação entre os PNAs insolúveis e solúveis em dietas à base de milho e farelo de soja, pois, de acordo com Urriola e Stein (2010), os PNAs insolúveis interferem menos na digestibilidade do que os solúveis. Além disso, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos pela fermentação dos carboidratos não são totalmente contabilizados na análise de digestibilidade ileal aparente, apesar de contribuírem no desempenho (OWUSU-ASIEDU et al., 2006, 2010). A maior parte da fermentação dos PNA ocorre no seguimento cecocolon (MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003; SERENA; HEDEMANN; BACH KNUDSEN, 2008), principalmente em leitões recém-desmamados (KNUDSEN; HEDEMANN; LÆRKE, 2012), por não possuírem o trato digestivo totalmente desenvolvido e apresentarem maior taxa de passagem da digesta (CADOGAN; CHOCT, 2015; LINDBERG, 2014).

Apesar da redução da viscosidade, a suplementação dietética com xilanase e protease não afetou o estado imune dos leitões. A redução da viscosidade é correlacionada com a redução da proliferação dos microrganismos patogênicos no intestino delgado

(AGYEKUM et al., 2015; AGYEKUM; NYACHOTI, 2017; KIM ET al., 2012; MCDONALD et al., 2001; MONTAGNE et al., 2003). Provavelmente, isso se deve a maior relação PNA insolúvel/solúvel, bem como a maior taxa de passagem da digesta em leitões, o que reduz a proliferação de microrganismos no intestino delgado (CHOCT, 1997; MOLIST et al., 2014; MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003).

Além disso, condições físico-químicas da digesta devido à presença de PNAs e a presença de proteínas de difícil digestão (ADEOLA; COWIESON, 2011), podem atuar de maneira direta sobre as moléculas na parede celular (RUEMMELE et al., 2002), o que pode explicar a melhora no estresse oxidativo devido à suplementação com xilanase. O MDA e a proteína carbonil são os produtos finais da oxidação de lipídeos e proteínas, respectivamente (KWIECIEN et al., 2014), os quais têm sido usados como indicadores do estresse oxidativo (SHACTER, 2000).

A melhora no estresse oxidativo na mucosa intestinal pode explicar a tendência no aumento da altura das vilos e a redução da profundidade das criptas e da proliferação celular quando as dietas foram suplementadas com xilanase, pois os produtos do estresse oxidativo podem afetar moléculas importantes na parede celular, como lipídeos e proteínas, causando a sua destruição e, conseqüentemente, redução dos vilos (ASSIMAKOPOULOS et al., 2011; ASSIMAKOPOULOS; SCOPA; VAGIANOS, 2007; SIDO et al., 2017). De acordo com Pluske et al. (1997), a redução das vilosidades devido ao aumento da perda celular é associado ao aumento da proliferação celular e, conseqüentemente, aumento da profundidade da cripta.

A taxa de proliferação dos enterócitos pode ter sido reduzida com o uso de xilanase devido à redução da viscosidade, uma vez que a menor viscosidade resulta em menor produção de AGCC (SERENA; HEDEMANN; BACH KNUDSEN, 2008) e a presença destes no lúmen intestinal estimula a proliferação dos enterócitos (KNUDSEN; HEDEMANN; LÆRKE, 2012).

A suplementação com protease foi mais eficiente na manutenção da morfologia intestinal do que a xilanase, uma vez que aumentou a altura dos vilos e reduziu a profundidade de cripta e a proliferação celular. De acordo com Chen et al. (2011), a presença de  $\beta$ -conglucininina nas células do intestino induz a síntese de proteínas quinases ativadas por mitógenos 8 (MAPK8) que, de acordo com Rao (2001), induz tanto a apoptose quanto a proliferação dos enterócitos. Isso foi confirmado por Zhao et al. (2010)

que ao adicionar glicinina e  $\beta$ -conglucina na dieta de leitões, constatou um aumento na taxa de proliferação, apoptose e migração dos enterócitos.

Além da digestão e absorção de nutrientes, o epitélio intestinal tem a função de barreira para restringir a entrada de substâncias e microrganismos nocivos à saúde do animal. Como parte das avaliações da saúde intestinal, a permeabilidade está estritamente relacionada às proteínas das junções oclusivas. Essas proteínas são, principalmente, claudina, ocludina e ZO1. A suplementação com protease e xilanase aumentou a concentração de claudina e ocludina. Um dos mecanismos envolvidos na redução das proteínas oclusivas é o estresse oxidativo (REYES et al., 2013), bem como a digestão das proteínas alergênicas pode aumentar a concentração das proteínas das junções oclusivas, pois, de acordo com Zhao et al. (2014), a  $\beta$ -conglucina reduz a concentração de ocludina e ZO1 na mucosa intestinal de leitões.

## CONCLUSÃO

A xilanase melhorou o desempenho, reduz a viscosidade da digesta e o estresse oxidativo, e a protease melhorou a eficiência alimentar e a integridade do intestino. O uso combinado de xilanase e protease melhorou o desempenho e a permeabilidade epitelial em leitões recém-desmamados.

## REFERÊNCIAS

ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3189–3218, 1 out. 2011.

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**, v. 93, n. 7, p. 3483–3493, 2015.

AGYEKUM, A. K.; NYACHOTI, C. M. Nutritional and Metabolic Consequences of Feeding High-Fiber Diets to Swine: A Review. **Engineering**, v. 3, n. 5, p. 716–725, 2017.

ASSIMAKOPOULOS, S. F. et al. Intestinal epithelial cell proliferation, apoptosis and



expression of tight junction proteins in patients with obstructive jaundice. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 2, p. 117–125, 2011.

ASSIMAKOPOULOS, S. F.; SCOPA, C. D.; VAGIANOS, C. E. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 48, p. 6458–6464, 28 dez. 2007.

BERROCOSO, J. D. et al. Effects of fiber inclusion on growth performance and nutrient digestibility of piglets reared under optimal or poor hygienic conditions. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 8, p. 3919–3931, 2015.

CADOGAN, D. J.; CHOCT, M. Pattern of non-starch polysaccharide digestion along the gut of the pig: Contribution to available energy. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 160–165, 2015.

CHAYTOR, A. C. et al. Effects of chronic exposure of diets with reduced concentrations of aflatoxin and deoxynivalenol on growth and immune status of pigs. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 1, p. 124–135, 2011.

CHEN, F. et al. Soybean-derived  $\beta$ -conglycinin affects proteome expression in pig intestinal cells in vivo and in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 3, p. 743–753, 1 mar. 2011.

CHEN, H. et al. Impacts of energy feeds and supplemental protease on growth performance, nutrient digestibility, and gut health of pigs from 18 to 45 kg body weight. **Animal Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 359–365, 2017.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, v. 191, n. June Issue, p. 13–26, 1997.

CHOCT, M. et al. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 53–61, 9 jul. 2004.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: classification and function. **Animal Production Science**, v. 55, n. 11–12, p. 1360–1366, 2015.

FERKET, P. R. et al. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. **Journal of animal science**, v. 80, n. March, p. 168–182, 2002.

GUTIERREZ, N. A. et al. Relationships among dietary fiber components and the digestibility of energy, dietary fiber, and amino acids and energy content of nine corn coproducts fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 10, p. 4505–4517, 2014.

IVARSSON, E. et al. Growth performance, digestibility and faecal coliform bacteria in weaned piglets fed a cereal-based diet including either chicory (*Cichorium intybus* L) or ribwort (*Plantago lanceolata* L) forage. **Animal**, v. 5, n. 4, p. 558–564, 2010.

JAWORSKI, N. W. et al. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 3, p. 1103–1113, 2015.

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

JUN, X. et al. Influence of Glycinin and B-Conglycinin of Soybean on the Proliferation and Immune Function of Suckling Piglets Peripheral Blood Mononuclear Cells in in Vitro Culture. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 19, n. 3, p. 115–118, 2009.

KARR-LILIENTHAL, L. K. et al. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 97, n. 1, p. 1–12, 2005.

KERR, B. J.; SHURSON, G. C. Strategies to improve fiber utilization in swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2013.

KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v. 26, n. 1, p. 71–88, 2013.

KIARIE, E.; WALSH, M. C.; NYACHOTI, C. M. Performance, digestive function, and mucosal responses to selected feed additives for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 7, p. 169–180, 2016.

KIM, J. C. et al. Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 3–16, 2012.

KNUDSEN, K. E. B.; HEDEMANN, M. S.; LÆRKE, H. N. The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 41–53, abr. 2012.

KRISHNAN, H. B. et al. Identification of Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin Subunits that Contribute to the Increased Protein Content of High-Protein Soybean Lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 5, p. 1839–1845, mar. 2007.

KWIECIEN, S. et al. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 65, n. 5, p. 613–22, 2014.

LÆRKE, H. N. et al. Effect of xylanases on ileal viscosity, intestinal fiber modification, and apparent ileal fiber and nutrient digestibility of rye and wheat in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 9, p. 4323–4335, 2015.

LINDBERG, J. E. Fiber effects in nutrition and gut health in pigs. **Journal of Animal**

**Science and Biotechnology**, v. 5, n. 15, p. 1–7, 2014.

MCDONALD, D. E. et al. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly-weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, n. 4, p. 487–498, 2001.

MCDONALD, P. et al. **Animal Nutrition**. 7. ed. Harlow, United Kingdom: Pearson Education Limited, 2010.

MOLIST, F. et al. Relevance of functional properties of dietary fibre in diets for weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 189, p. 1–10, mar. 2014.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, n. 1–4, p. 95–117, ago. 2003.

MYERS, W. D. et al. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide<sup>1</sup>. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 179–183, 1 jan. 2004.

NGOC, T. T. B.; LEN, N. T.; LINDBERG, J. E. Chemical characterization and water holding capacity of fibre-rich feedstuffs used for pigs in Vietnam. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 6, p. 861–868, 2012.

NISHI, T.; HARA, H.; TOMITA, F. Soybean  $\beta$ -Conglycinin Peptone Suppresses Food Intake and Gastric Emptying by Increasing Plasma Cholecystokinin Levels in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 2, p. 352–357, 1 fev. 2003.

NORTEY, T. N. et al. Effects of individual or combined xylanase and phytase supplementation on energy, amino acid, and phosphorus digestibility and growth performance of grower pigs fed wheat-based diets containing wheat millrun. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 6, p. 1432–1443, 2007.

NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. 11th revis ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2012.

O'NEILL, H. V. M. et al. Effect of xylanase on performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 4, p. 515–523, 2012.

OWUSU-ASIEDU, A. et al. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs<sup>1,2</sup>. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 4, p. 843–852, 1 abr. 2006.

OWUSU-ASIEDU, A. et al. Effect of xylanase and glucanase on growth performance

and nutrient digestibility in piglets fed wheat-barley-based diets. **Livestock Science**, v. 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**, v. 1, n. 1, p. 19–23, 2015.

PEDERSEN, N. R. et al. The degradation of arabinoxylan-rich cell walls in digesta obtained from piglets fed wheat-based diets varies depending on digesta collection site, type of cereal, and source of exogenous xylanase. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. Supplement 4, p. 149–151, 1 dez. 2012.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, n. 1–3, p. 215–236, 1997.

RAO, K. M. K. MAP kinase activation in macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 69, n. 1, p. 3–10, 2001.

REYES, J. L. et al. Tight Junction Proteins and Oxidative Stress in Heavy Metals-Induced Nephrotoxicity. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–14, 2013.

RUEMMELE, F. M. et al. Lipopolysaccharide modulation of normal enterocyte turnover by toll-like receptors is mediated by endogenously produced tumour necrosis factor  $\alpha$ . **Gut**, v. 51, n. 6, p. 842–848, 2002.

SERENA, A.; HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Influence of dietary fiber on luminal environment and morphology in the small and large intestine of sows. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 9, p. 2217–2227, 2008.

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. **Drug Metabolism Reviews**, v. 32, n. 3–4, p. 307–326, 2000.

SIDO, A. et al. A food-based approach that targets interleukin-6, a key regulator of chronic intestinal inflammation and colon carcinogenesis. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 43, p. 11–17, 2017.

TERVILÄ-WILO, A. et al. In Vitro Digestion of Wheat Microstructure with Xylanase and Cellulase from *Trichoderma reesei*. **Journal of Cereal Science**, v. 24, n. 3, p. 215–225, 1996.

URRIOLA, P. E.; STEIN, H. H. Effects of distillers dried grains with solubles on amino acid, energy, and fiber digestibility and on hindgut fermentation of dietary fiber in a corn-soybean meal diet fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 4, p. 1454–1462, 2010.

WANG, D. et al. Effects of keratinase supplementation of corn-soybean meal based diets on apparent ileal amino acid digestibility in growing pigs and serum amino acids,

cytokines, immunoglobulin levels and loin muscle area in nursery pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 290–302, ago. 2011.

WANG, T. et al. Comparative study on the stability of soybean ( *Glycine max* )  $\beta$ -conglycinin in vivo. **Food and Agricultural Immunology**, v. 20, n. 4, p. 295–304, 2009.

WANG, T. et al. Comparative study on the residual rate of immunoreactive soybean glycinin (11S) in the digestive tract of pigs of different ages. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 3, p. 201–208, 2010.

WANG, T. et al. Advances of Research on Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin: A Review of Two Major Soybean Allergenic Proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 7, p. 850–862, 5 jan. 2014.

WELLOCK, I. J. et al. The consequences of non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on the health and performance of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 520–530, 29 mar. 2008.

XU, J. Effect of Glycinin and  $\beta$ -conglycinin on the Absorbing Capacity of Mouse Intestinal Epithelial Cells. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 8, n. 2, p. 73–78, 1 fev. 2014.

YANG, F. et al. *Lactobacillus reuteri* I5007 modulates tight junction protein expression in IPEC-J2 cells with LPS stimulation and in newborn piglets under normal conditions. **BMC Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2015.

YIN, Y. L. 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**, v. 71, n. 2–3, p. 109–120, 2001.

ZHANG, J. X. et al. Soybean  $\beta$ -Conglycinin Induces Inflammation and Oxidation and Causes Dysfunction of Intestinal Digestion and Absorption in Fish. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–12, 2013.

ZHAO, Y. et al. Disappearance of immunoreactive glycinin and beta-conglycinin in the digestive tract of piglets. **Archives of animal nutrition**, v. 62, n. 4, p. 322–30, 2008.

ZHAO, Y. et al. Effects of glycinin and  $\beta$ -conglycinin on enterocyte apoptosis, proliferation and migration of piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 3, p. 209–218, 2010.

ZHAO, Y. et al.  $\beta$  -Conglycinin Reduces the Tight Junction Occludin and ZO-1 Expression in IPEC-J2. p. 1915–1926, 2014.

ZUO, J. et al. 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.

## **CAPÍTULO 3**

---

**Efeito da suplementação dietética com Glutamina e Glutamato sobre o desempenho de suínos nas fases de lactação e creche**

**USO DE AMINOGUT® E ENZIMAS NA DIETA DE SUÍNOS DURANTE A LACTAÇÃO E CRECHE**

## **Efeito da suplementação dietética com glutamina e glutamato sobre o desempenho de suínos nas fases de lactação e creche**

### **RESUMO**

Este estudo foi realizado para avaliar os efeitos da suplementação com glutamina e glutamato nas fases de lactação e creche sobre a composição do leite, perda de toucinho e desempenho dos leitões. Na fase de lactação, 28 matrizes foram alocadas aleatoriamente em 2 tratamentos (Controle ou Aminogut 1%) em delineamento em blocos casualizados. A ordem de parto foi utilizada como critério para distribuição nos blocos. Nessa fase, a alimentação dos leitões foi exclusivamente o leite materno. Na fase 2, 12 leitegadas de cada grupo da fase anterior foram divididas em dois grupos (Controle ou Aminogut 1%). As dietas experimentais foram formuladas para atender aos requerimentos nutricionais de matrizes suínas em lactação e de leitões recém-desmamados. Foram mensurados a espessura de toucinho das matrizes, composição do leite, desempenho dos leitões na lactação e na creche. Os dados foram analisados utilizando-se o Proc MIXED do SAS. O uso de Aminogut aumentou ( $P<0,05$ ) as concentrações de gordura (6,507 - 7,855%), glutamina (0,341 - 0,578  $\mu\text{mol/mL}$ ), glutamato (0,361 - 0,648  $\mu\text{mol/mL}$ ) e glutamina+glutamato (0,709 - 1,244  $\mu\text{mol/mL}$ ) no leite de matrizes suínas no 21º de lactação. As matrizes que receberam suplementação apresentaram menor perda de toucinho ( $P<0,05$ ) durante a lactação (3,018 - 4,560 mm). Na terceira semana de lactação, houve maior ( $P<0,05$ ) GPD dos leitões (0,222 - 0,270 kg) de matrizes alimentadas com dietas contendo Aminogut. A suplementação na segunda fase aumentou ( $P<0,05$ ) o GPD dos leitões quando comparado ao grupo controle na fase pós-desmame (0,144 - 0,183 kg). O CRD no período total da creche foi maior ( $P<0,05$ ) nos animais que receberam suplementação apenas na fase pós-desmame (0,196 - 238 kg/dia). Os animais que receberam suplementação nas duas fases obtiveram uma maior ( $P<0,05$ ) eficiência alimentar comparada aos demais tratamentos (0,784 vs. 0,717, 0,750 e 0,750). No entanto, os animais que receberam suplementação durante a lactação ou creche tiveram melhor ( $P<0,05$ ) eficiência alimentar em relação a dieta controle (0,750 e 0,750 vs. 0,717). A suplementação com Aminogut melhora a composição do leite, reduz a perda de toucinho e melhora o ganho de peso dos leitões durante a lactação. A suplementação na fase de lactação ou creche aumenta o ganho de peso dos leitões no período pós-desmame. A suplementação de Aminogut nas duas fases melhora a eficiência alimentar dos leitões.

**Palavras-chave:** aminoácidos, leitões, leite, matrizes, pós-desmame.

**Effects of dietary supplementation with glutamine and glutamate on performance of pigs during lactation and nursery**

**ABSTRACT**

This study was to investigate the effect of dietary supplementation with Glutamine and Glutamate during lactation and nursery on milk composition, back fat loss, and piglets performance. In the lactation phase, 28 sows were randomly allotted to 2 treatments (Control or Aminogut 1%) in a block design. The farrowing rate was used as block criteria. During lactation the piglets were fed exclusively with breast milk. In the nursery phase, 12 litters from each group of previously were split in others two groups (Control or Aminogut 1%). The experimental diets were formulated to meet the nutritional requirement of lactating sows and newly weaned piglets. Back fat thickness, milk composition and the performance of piglets during lactation and nursery were measured. The data were analyzed using the MIXED procedure in SAS. The use of Aminogut enhanced ( $P < 0,05$ ) the concentration of fat (6.507 to 7.855%), glutamine (0.341 to 0.578  $\mu\text{mol/mL}$ ), glutamate (0.361 to 0.648  $\mu\text{mol/mL}$ ), and glutamine+glutamate (0.709 to 1.244  $\mu\text{mol/mL}$ ) in the milk of sow at 21 days of lactation. Sows fed supplemented diet showed lower ( $P < 0,05$ ) backfat loss (3.018 to 4.560 mm). At the third week of lactation, the piglets from sows fed supplemented diet had higher ADG (0.222 to 0.270 kg/day). In the second phase, the use of Aminogut in the nursery diet enhanced ( $P < 0,05$ ) the ADG (0.44 to 0.183 kg), and the ADFI (0.196 to 0.238 kg/day) of piglets. The piglets fed supplementation, in two phases had higher ( $P < 0,05$ ) feed efficiency compared with the other treatments (0.784 vs. 0.717, 0.750, and 0.750). However, pigs that received supplementation during lactation or nursery, had higher ( $P < 0,05$ ) feed efficiency compared with the control group in the two phases (0.750 and 0,750 vs. 0.717). The supplementation with Aminogut enhanced the milk composition, reduce the backfat loss and enhanced the weight gain of the piglets during lactation. The supplementation during lactation or nursery improved the weight gain of the piglets in the post-weaning phase. The supplementation in both phases enhance the feed efficiency of the piglets.

**Keywords:** amino acids, milk, piglets, post-weaning, sows.



## INTRODUÇÃO

Na produção moderna de suínos, as matrizes aumentaram o tamanho da leitegada e a produção de leite, elevando, assim, as necessidades nutricionais. Durante a lactação existe uma grande demanda de nutrientes como a glutamina para síntese de leite. No entanto, os nutrientes providos pela dieta não são suficientes para atender aos requerimentos nutricionais das matrizes suínas, principalmente, no final da gestação e na lactação devido ao baixo apetite nesses períodos (KIM et al., 2013). Assim, as matrizes entram em estado catabólico, mobilizando nutrientes das reservas corporais e os direcionam à produção de leite (AULDIST et al., 1998; KIM; BAKER; EASTER, 2001; KIM; EASTER, 2001; QUESNEL; ETIENNE; PÈRE, 2007).

A redução do tecido muscular acompanhada pela redução dos níveis de glutamina no plasma e no músculo observada em éguas em lactação (MANSO FILHO et al., 2008) indicam um aumento da necessidade de glutamina para produção de leite (KIM; WU, 2009). Essa demanda é atendida pelo aumento da síntese de glutamina, utilizando como substrato os aminoácidos da dieta e da proteólise muscular (MANSO FILHO et al., 2008; WATFORD, 2015). No entanto, apesar da glutamina e o glutamato serem os aminoácidos mais abundantes no leite de matrizes suínas (WU; KNABE, 1994), de acordo com Boyd et al. (1995), a composição do leite pode não atender às necessidades para o máximo desempenho dos leitões.

A suplementação da dieta de matrizes suínas em lactação com glutamina e glutamato aumenta a concentração destes aminoácidos no leite (KITT et al., 2002; MANSO et al., 2012; SANTOS DE AQUINO et al., 2014), o que possibilita o fornecimento de maiores níveis desses aminoácidos para os leitões em lactação via leite materno, bem como pode reduzir a perda de massa muscular durante a lactação (WATFORD, 2015).

A glutamina e o glutamato desempenham várias funções metabólicas em diferentes tecidos (LI et al., 2007; WATFORD, 2015; WATFORD; PHIL, 2014; WU, 2013; WU et al., 2014). Em leitões, a glutamina é essencial para manter a integridade e as funções da barreira intestinal durante a lactação e no período pós-desmame (BLACHIER et al., 2009; MARC RHOADS; WU, 2009; WANG et al., 2008; WU et al., 2011; WU; MEIER; KNABE, 1996). Vários estudos indicam que a suplementação

dietética com glutamina é benéfica para leitões em lactação (CABRERA et al., 2013; HAYNES et al., 2009) e recém-desmamados (CABRERA et al., 2013; KITT et al., 2002; REZAEI et al., 2013; WANG et al., 2008; WU; MEIER; KNABE, 1996; XIAO et al., 2012). Manso (2006) demonstrou que o uso de Aminogut na dieta de matrizes suínas aumenta os níveis de glutamina no leite aos 21 dias de lactação, bem como tende a manter os níveis elevados deste aminoácido no músculo durante a lactação e no sangue durante o período pré-parto até os 21 dias de lactação.

No entanto, na literatura não está clara qual a melhor fase para suplementação com glutamina e glutamato, bem como quais seriam os efeitos da suplementação durante a lactação sobre o desempenho dos leitões após o desmame, além dos efeitos da suplementação na fase de lactação seguido por suplementação na fase de creche. Diante disso, foi hipotetizado que a suplementação dietética com glutamina e glutamato na fase de lactação e na creche melhora a composição do leite, reduz a mobilização das reservas corporais das matrizes suínas e melhora o desempenho de leitões. Portanto, este estudo foi conduzido para avaliar os efeitos da suplementação dietética com glutamina e glutamato sobre a composição do leite, perda de reserva corporal de matizes e desempenho dos leitões lactentes e desmamados na creche.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo utilizado nesse estudo foi aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

O experimento foi realizado em granja comercial em Vitória do Santo Antão, Pernambuco, Brasil. O experimento foi dividido em duas fases: fase 1 (do 7º dia antes do parto ao 21º dia de lactação, totalizando 28 dias) e fase 2 (15 dias pós-desmame). Na fase 1, 28 matrizes foram separadas em dois grupos: Lactação 1, 14 matrizes sem suplementação, e lactação 2, 14 matrizes com suplementação de 1% de Aminogut (Ajinomoto do Brasil, São Paulo, Brazil). Foram utilizadas matrizes com 3 ordens de parto diferentes (3, 4 e 5), que foram utilizadas como critério para distribuição nos blocos. O tamanho da leitegada foi equacionado em 12 leitões. Na fase 2, 24 leitegadas da fase

anterior foram desmamadas e divididas em outros 4 grupos com seis leitegadas cada. Assim, os tratamentos experimentais foram distribuídos da seguinte forma:

1. Fase 1 - lactação:
  - a. Lactação 1 – 14 matrizes, dieta basal;
  - b. Lactação 2 – 14 matrizes, dieta basal + 1% de Aminogut.
2. Fase 2 – Creche:
  - a. Creche 1 – 6 leitegadas da lactação 1 - Dieta basal;
  - b. Creche 2 – 6 leitegadas da lactação 1 - Dieta basal + 1% de Aminogut;
  - c. Creche 3 – 6 leitegadas da lactação 2 - Dieta basal;
  - d. Creche 4 – 6 leitegadas da lactação 2 - Dieta basal + 1% de Aminogut.

O Aminogut é um suplemento dietético contendo uma mistura de L-glutamato e L-glutamina (mínimo 95%). Foram utilizadas dietas comerciais para atender aos requerimentos nutricionais de matrizes em lactação e leitões na fase de creche (tabela 1).

Para avaliação da mobilização de gordura corporal para produção de leite, a espessura de gordura dorsal das matrizes foi mensurada no ponto P2 no dia do parto e a cada 7 dias durante a lactação, utilizando-se um ultrassom (Lean-Meater TC-302, Renco Corp., Golden Valley, MN, USA). Os valores foram registrados em milímetros (mm).

Tabela 1. Composição das dietas basais para matrizes na fase de lactação e leitões desmamados

Ingrediente, %	Lactação	Creche
Milho	61,40	34,40
Farelo de soja	31,00	21,00
Núcleo Lactação <sup>1</sup>	3,00	-
Núcleo Creche <sup>2</sup>	-	40,00
Óleo vegetal	4,00	4,00
L-Lys HCl	0,32	0,25
DL-Met	0,20	0,12
L-Thr	0,18	0,13
Total	100,00	100,00

<sup>1</sup>Núcleo Lactação (446B NC sui lactação, Tectron Nutrição e Saúde animal, Toledo, PR, Brasil); <sup>2</sup> Núcleo Creche (405X NC leitão pre-250, Tectron).  
Níveis do núcleo e composição calculada

Foram coletadas amostras de colostro e leite das matrizes, aproximadamente 1 hora após o primeiro fornecimento de ração do dia. Para facilitar a coleta de leite foi injetado 0,5 ml de ocitocina na veia auricular. As amostras foram coletadas das tetas

peitorais. Para determinação das concentrações de glutamato, glutamina e alanina, amostras de colostro e leite foram coletadas no dia do parto, com 7, 14 e 21 dias de lactação. As análises foram realizadas como descrito anteriormente por Manso et al. (2012). Para desproteínização das amostras, ácido perclórico (PCA) a 10% foi adicionado à amostra na proporção de 1:1 (1 ml de amostra em 1 ml de PCA).

Em seguida, as amostras suspensas em ácido foram centrifugadas (5000 g x 15 minutos). O sobrenadante foi neutralizado com hidróxido de potássio (KOH 1M) e armazenado a -20°C até análise. A glutamina das amostras foi hidrolisada a glutamato pela glutaminase; em seguida, o glutamato foi determinado enzimaticamente, utilizando a glutamato desidrogenase.

A análise da composição do leite foi feita como descrito anteriormente por Santos de Aquino et al. (2014). Aproximadamente 40 ml de leite foram coletados em frascos contendo Bromopol fornecidos pelo laboratório PROGENE® nos dias 7, 14 e 21. As concentrações de proteína, gordura, lactose, ureia e caseína do leite foram determinadas através de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (Bentley 2000 Lactoscooper, Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota, USA). A contagem de células somáticas foi realizada através de citometria de fluxo com fluorescência (SomaScope MKII/Somacount 300, Delta Instruments).

Para determinar o peso corporal (PC), ganho de peso diário (GPD) e eficiência alimentar (EA) os leitões foram pesados, individualmente, logo após o parto e a cada 7 dias até o final da segunda fase. As sobras de ração, na fase de creche, foram pesadas a cada sete dias.

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste Tukey para comparação das médias utilizando o proc MIXED do SAS versão 9.4 (SAS Inc., Cary, NC, USA). A unidade experimental foi a porca ou a leitegada com os tratamentos como efeito fixo e a ordem de parto efeito aleatório. As diferenças estatísticas foram consideradas significantes com  $P < 0,05$ . Probabilidades entre  $< 0,10$  e  $\geq 0,05$  foram consideradas como tendências.

## RESULTADOS

Os dados da espessura, perdas de espessura de toucinho mensuradas no ponto P2 e tempo de retorno ao cio encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Espessura de toucinho no ponto P2 e intervalo do desmame ao cio de matrizes suínas recebendo 1% de Aminogut

Item	Controle	Aminogut	EPM	P valor
Espessura de toucinho P2, mm				
Parto	24,441 <sup>a</sup>	24,646 <sup>a</sup>	1,033	0,843
Dia 7	22,441 <sup>b</sup>	24,014 <sup>a</sup>	1,004	0,121
Dia 14	21,155 <sup>b</sup>	23,293 <sup>ab</sup>	1,010	0,037
Dia 21	19,155 <sup>c</sup>	21,760 <sup>b</sup>	1,019	0,012
Perda de toucinho, mm				
Parto ao dia 21	4,560	3,018	0,543	0,019
Intervalo desmame/cio, dias	7,961	4,835	1,085	0,020

<sup>a,b,c</sup>Médias com letras diferentes nas colunas foram significativamente diferentes no tempo de coleta ( $P < 0,05$ ).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos na espessura de toucinho no parto e no 7º dia de lactação. No entanto, no 14º e no 21º dia de lactação os animais do grupo-controle apresentaram menor espessura de toucinho em relação aos animais suplementados ( $P < 0,05$ ). No grupo-controle, a espessura de toucinho foi menor ( $P < 0,05$ ) no 7º e no 21º dia de lactação, comparado à espessura no dia do parto e nos demais períodos avaliados, respectivamente. Entre o 7º e 14º dia de lactação não houve diferença significativa na espessura de toucinho.

Enquanto que as matrizes que receberam suplementação com Aminogut não apresentaram diferenças significativas na espessura de toucinho até o 14º dia de lactação, a espessura de toucinho foi menor no 21º dia de lactação comparado à espessura no parto e aos 7 dias pós-parto ( $P < 0,05$ ), porém, não diferiu significativamente entre o dia 14 e o dia 21. A suplementação com Aminogut na dieta de matrizes suínas em lactação reduziu ( $P < 0,05$ ) as perdas de toucinho do parto ao 21º dia de lactação. A suplementação dietética com Aminogut reduziu o tempo de retorno ao cio após o desmame ( $P < 0,05$ ).

Os dados da composição do colostro e do leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut encontram-se na tabela 3.

Tabela 3. Composição do leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut

Item	7 dias		14 dias		21 dias		EPM	P valor		
	CO <sup>1</sup>	AG <sup>2</sup>	CO	AG	CO	AG		TRT <sup>3</sup>	Tempo	TRT x Tempo
Proteína <sup>4</sup>	4,567	4,667	4,381	4,605	4,601	4,720	0,153	0,135	0,204	0,783
Gordura <sup>4</sup>	7,817	8,285	6,931	7,788	6,507	7,855	0,462	0,007	0,034	0,442
Lactose <sup>4</sup>	5,346	5,344	5,442	5,433	5,467	5,520	0,059	0,735	0,008	0,775
Sólidos <sup>4</sup>	19,416	19,498	18,740	18,717	18,547	18,478	0,480	0,991	0,011	0,970
CCS <sup>5</sup>	337,00	436,50	328,80	352,60	349,89	393,27	82,26	0,451	0,891	0,921
Ureia <sup>6</sup>	52,450	53,959	53,905	54,345	54,485	55,294	3,489	0,663	0,713	0,967

<sup>1</sup>Tratamento controle; <sup>2</sup>Tratamento Aminogut; <sup>3</sup>Efeito do Tratamento; <sup>4</sup>g/100g; <sup>5</sup>x1000 Células/ml; <sup>6</sup>mg/dl.

A suplementação com Aminogut não afetou significativamente a concentração de proteína total no leite de matrizes suínas durante a lactação (7, 14 e 21 dias). No 21º dia de lactação houve aumento da concentração de gordura no leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo Aminogut quando comparadas à dieta-controle ( $P < 0,05$ ). Nas matrizes suínas que receberam dieta-controle houve redução da concentração de gordura no leite no último dia de coleta quando comparado à coleta do dia 7 ( $P < 0,05$ ), enquanto que nas matrizes suínas suplementadas com Aminogut não houve diferença significativa entre os 3 períodos de coleta.

A suplementação dietética com Aminogut não afetou significativamente as concentrações de lactose no leite, mas houve aumento em relação ao tempo de coleta ( $P < 0,05$ ), sendo o mesmo efeito observado na concentração dos sólidos totais, apesar da redução da concentração dos níveis de sólidos totais no dia 21 quando comparado à coleta do dia 7 ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os tratamentos nas variáveis CCS e ureia.

Os dados da concentração de aminoácidos no colostro e no leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Concentração de aminoácidos no colostro e no leite de matrizes suínas alimentadas com dietas contendo 1% de Aminogut

Item ( $\mu\text{mol/mL}$ )	Colostro		7 dias		21 dias		EPM	P valor		
	CO <sup>1</sup>	AG <sup>2</sup>	CO <sup>1</sup>	AG <sup>2</sup>	CO <sup>1</sup>	AG <sup>2</sup>		TRT <sup>3</sup>	Tempo	TRT x Tempo
GLN <sup>4</sup>	0,160	0,261	0,390	0,502	0,341	0,661	0,079	0,003	>0,001	0,242
GLU <sup>5</sup>	0,207	0,253	0,388	0,478	0,361	0,648	0,069	0,013	0,002	0,186
GLN + GLU <sup>6</sup>	0,353	0,506	0,750	0,974	0,705	1,321	0,119	0,001	>0,001	0,115
ALA <sup>7</sup>	0,167	0,238	0,344	0,430	0,359	0,419	0,085	0,180	0,015	0,975

<sup>1</sup>Tratamento controle; <sup>2</sup>Tratamento Aminogut; <sup>3</sup>Efeito do Tratamento; <sup>4</sup>GLN: Glutamina; <sup>5</sup>GLU: Glutamato; <sup>6</sup>GLN + GLU: Glutamina + Glutamato; <sup>7</sup>ALA: Alanina.

Independente do tratamento, a concentração de glutamina foi maior no leite, nas coletas do dia 7 e 21 de lactação, do que no colostro ( $P < 0,05$ ). No entanto, entre as coletas do dia 7 e 21 não houve diferença significativa. A suplementação com Aminogut na dieta de matrizes suínas aumentou a concentração de glutamina no leite no 21º dia de lactação quando comparada ao controle ( $P < 0,05$ ).

A suplementação com Aminogut aumentou a concentração de glutamato no leite no dia 21 quando comparada à dieta controle ( $P < 0,05$ ). No grupo alimentado com dietas suplementadas com Aminogut, a concentração de glutamato no leite nos dias 7 e 21 foi maior do que no colostro ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa na concentração de glutamato no leite entre as coletas do dia 7 e 21 em ambos os tratamentos. No leite do grupo-controle, a concentração de glutamato foi maior no dia 7 do que no colostro ( $P < 0,05$ ), no entanto não houve diferença significativa entre o colostro e o leite do dia 21.

A suplementação com Aminogut aumentou a concentração de glutamina + glutamato no 21º dia de lactação quando comparado ao grupo-controle ( $P < 0,05$ ), bem como quando avaliada apenas no leite; no 7 e 21 dias, a concentração de glutamina + glutamato foi maior do que no colostro ( $P < 0,05$ ), porém, tanto no grupo-controle quanto no grupo suplementado não houve diferença significativa entre as coletas do dia 7 e 21. A suplementação com Aminogut não afetou significativamente a concentração de alanina no colostro ou no leite quando comparada ao controle, no entanto, foi maior no leite, nos dias 7 e 21 do que no colostro ( $P < 0,05$ ).

Os dados de desempenho dos leitões lactentes encontram-se na tabela 5.

Tabela 5. Desempenho de leitões na fase de lactação suplementados com Aminogut

Item	Controle	Aminogut	EPM	P valor
Peso da leitegada (kg)				
Parto	19,215	18,869	0,601	0,576
Dia 7	33,277	33,421	2,225	0,950
Dia 14	50,693	49,739	2,383	0,697
Dia 21	67,439	70,641	2,603	0,244
Ganho de peso diário – leitegada (kg)				
Parto ao dia 7	1,962	2,061	0,351	0,785
Dia 7 ao dia 14	2,407	2,254	0,230	0,522
Dia 14 ao dia 21	2,438	2,953	0,198	0,024
Parto ao dia 21	2,272	2,465	0,121	0,137
Peso leitão kg				
Parto	1,601	1,572	0,050	0,576
Dia 7	2,773	2,785	0,185	0,950
Dia 14	4,608	4,522	0,217	0,697
Dia 21	6,131	6,422	0,237	0,244
Ganho de peso diário - leitão (kg)				
Parto ao dia 7	0,164	0,177	0,021	0,567
Dia 7 ao dia 14	0,255	0,240	0,020	0,478
Dia 14 ao dia 21	0,222	0,270	0,018	0,019
Parto ao dia 21	0,213	0,231	0,011	0,135

A suplementação com Aminogut na dieta de matrizes em lactação não afetou significativamente o peso da leitegada durante 21 dias de lactação. No entanto, no período na última semana de lactação houve aumento no ganho de peso diário da leitegada proveniente de matrizes suínas que receberam dietas contendo Aminogut ( $P < 0,05$ ). Assim como o desempenho da leitegada, a suplementação da dieta das matrizes com Aminogut não afetou ( $P > 0,05$ ) o peso dos leitões durante a lactação, porém houve aumento ( $P < 0,05$ ) no ganho de peso diário dos leitões de matrizes que alimentadas com dietas suplementadas com Aminogut no período do dia 14 ao dia 21.

Os dados de desempenho dos leitões na fase pós-desmame alimentados com dietas suplementadas com Aminogut encontram-se na Tabela 6. A suplementação dietética com Aminogut na fase de lactação (CO-AG e AG-AG) aumentou o peso dos leitões na primeira semana pós-desmame quando comparado ao controle (CO-CO) ( $P < 0,05$ ). Aos 15 dias após o desmame, o peso final foi maior nos leitões que receberam suplemento na fase de lactação e creche (AG-AG) comparado aos que não receberam suplementação na segunda fase (CO-CO e AG-CO) ( $P < 0,05$ ). No entanto, nesse período não houve diferença significativa no peso dos leitões suplementados com Aminogut na creche (CO-AG e AG-AG).



Tabela 6. Desempenho de leitões recém-desmamados alimentados com dietas suplementadas com 1% de Aminogut

Item	CO-CO <sup>1</sup>	CO-AG <sup>2</sup>	AG-CO <sup>3</sup>	AG-AG <sup>4</sup>	EPM	P valor
Peso leitão, kg						
Inicial	6,574	6,479	6,536	6,468	0,180	0,951
Dia 7	7,025 <sup>a</sup>	7,426 <sup>b</sup>	7,264 <sup>ab</sup>	7,467 <sup>b</sup>	0,158	0,046
Dia 15	8,489 <sup>a</sup>	8,937 <sup>bc</sup>	8,656 <sup>ab</sup>	9,141 <sup>c</sup>	0,242	0,011
GPD, kg/dia						
Dia 0 ao dia 7	0,064 <sup>a</sup>	0,135 <sup>b</sup>	0,104 <sup>ab</sup>	0,143 <sup>b</sup>	0,023	>0,001
Dia 7 ao dia 15	0,209 <sup>a</sup>	0,214 <sup>a</sup>	0,198 <sup>a</sup>	0,240 <sup>b</sup>	0,010	0,034
Dia 0 ao dia 15	0,137 <sup>a</sup>	0,175 <sup>bc</sup>	0,151 <sup>ab</sup>	0,191 <sup>c</sup>	0,012	>0,001
CRD, kg/dia						
Dia 0 ao dia 7	0,091 <sup>a</sup>	0,187 <sup>b</sup>	0,138 <sup>c</sup>	0,186 <sup>b</sup>	0,022	0,002
Dia 7 ao dia 15	0,287	0,279	0,268	0,301	0,031	0,740
Dia 0 ao dia 15	0,189 <sup>a</sup>	0,233 <sup>b</sup>	0,203 <sup>ab</sup>	0,243 <sup>b</sup>	0,021	0,030
Eficiência alimentar						
Dia 0 ao dia 7	0,702 <sup>a</sup>	0,728 <sup>ab</sup>	0,752 <sup>bc</sup>	0,772 <sup>c</sup>	0,018	0,003
Dia 7 ao dia 15	0,731 <sup>a</sup>	0,772 <sup>bc</sup>	0,741 <sup>ab</sup>	0,795 <sup>c</sup>	0,018	0,011
Dia 0 ao dia 15	0,717 <sup>a</sup>	0,750 <sup>bc</sup>	0,750 <sup>b</sup>	0,784 <sup>c</sup>	0,016	0,001

<sup>1</sup>Tratamento controle na lactação e no pós-desmame; <sup>2</sup>Tratamento controle na lactação e Aminogut no período pós-desmama; <sup>3</sup>Tratamento Aminogut na lactação e controle no pós-desmama; <sup>4</sup>Tratamento Aminogut na lactação e no pós-desmame. <sup>a,b,c</sup>Médias com letras sobrescritas diferentes nas linhas foram significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Os animais que receberam Aminogut em pelo menos uma das fases (CO-AG, AG-CO e AG-AG) não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) no GPD na primeira semana pós-desmame. No entanto, os animais que receberam o suplemento na segunda fase (CO-AG e AG-AG) apresentaram GPD maior ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo sem suplementação nas duas fases (CO-CO), enquanto que não houve diferença significativa no GPD entre os animais sem suplementação na fase pós-desmame (CO-CO e AG-CO).

Durante a segunda semana pós-desmame, a suplementação com Aminogut na lactação e na creche (AG-AG) aumentou o GPD dos leitões ( $P < 0,05$ ). Considerando o período total pós-desmame, o GPD foi maior nos leitões que receberam suplemento na fase de lactação e creche (AG-AG) comparado aos que não receberam suplementação na segunda fase (CO-CO e AG-CO) ( $P < 0,05$ ). No entanto, nesse período não houve diferença significativa no GPD dos leitões suplementados com Aminogut na segunda fase (CO-AG e AG-AG).

Leitões que receberam suplementação com Aminogut em pelo menos uma das fases, lactação ou pós-desmame (CO-AG, AG-CO e AG-AG), aumentaram o CRD na primeira semana pós-desmame comparado aos animais do grupo controle (CO-CO). Porém, o CRD dos animais com suplementação na segunda fase (CO-AG e AG-AG) foi maior do que os que receberam dietas suplementadas apenas na lactação (AG-CO)

( $P < 0,05$ ). Não houve efeito significativo da suplementação com Aminogut no CRD na segunda semana pós-desmame. No período total, o maior CRD foi observado nos grupos que receberam suplementação na segunda fase (CO-AG e AG-AG) ( $P < 0,05$ ). Os animais que não receberam suplementação na segunda fase (CO-CO e AG-CO) não diferiram significativamente entre si.

Na primeira semana de creche, a eficiência alimentar foi maior nos animais que receberam suplementação na fase de lactação (AG-CO e AG-AG) ( $P < 0,05$ ), sendo que os animais que receberam suplemento nas duas fases (AG-AG) apresentaram eficiência alimentar maior do que os animais do grupo-controle na lactação (CO-CO e CO-AG) ( $P < 0,05$ ). No entanto, não houve diferença significativa entre os animais que receberam Aminogut em pelo menos uma das fases (AG-CO e CO-AG).

Na segunda semana pós-desmame, a eficiência alimentar foi melhor ( $P < 0,05$ ) nos animais que receberam suplementação na fase de creche (CO-AG e AG-AG), bem como os animais que receberam suplemento nas duas fases (AG-AG) apresentaram eficiência alimentar melhor ( $P < 0,05$ ) do que os animais que não receberam suplementação na segunda fase (CO-CO e AG-CO). Porém, não houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os animais que receberam Aminogut em uma das fases (AG-CO e CO-AG).

Considerando o período total, os animais que receberam suplementação nas duas fases (AG-AG) obtiveram maior eficiência alimentar que aos demais tratamentos (CO - CO, AG-CO e CO-AG) ( $P < 0,05$ ), e os que receberam suplementação durante a lactação ou creche (AG-CO e CO-AG) tiveram maior eficiência alimentar que o grupo-controle (CO-CO) ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A glutamina e o glutamato representam uma grande proporção no pool de aminoácidos no organismo, na forma livre e incorporado às proteínas (WATFORD, 2008, 2015) e estão presentes em diversas reações metabólicas (WATFORD, 2008; WU, 2013; WU; BORBOLLA; KNABE, 1994). O metabolismo da glutamina envolve a sua hidrólise a glutamato, que posteriormente é utilizado nas diversas vias metabólicas (CURTHOYS; WATFORD, 1995).

Em fêmeas suínas durante a lactação, a necessidade de nutrientes aumenta consideravelmente para a produção de leite (BOYD et al., 1995; KIM; WU, 2009). Inicialmente esse requerimento é atendido pela dieta, bem como pela mobilização de nutrientes livres no organismo, como a glutamina presente no músculo e no sangue (WU; BORBOLLA; KNABE, 1994). No entanto, com o aumento da demanda, o animal entra em estado catabólico para suprir suas necessidades nutricionais (BERCHIERI-RONCHI et al., 2011; KIM; EASTER, 2001; MANSO FILHO et al., 2008).

As matrizes do tratamento controle apresentaram redução na espessura de toucinho após a primeira semana de lactação, enquanto que nos animais suplementados essa redução foi constatada apenas no 21º dia pós-parto. No entanto, a diferença na espessura de toucinho entre os tratamentos ocorreu a partir da segunda semana de lactação.

As matrizes que receberam suplementação durante a lactação tiveram uma redução na espessura de toucinho de 12,2% enquanto que os animais do grupo-controle perderam 18,6% durante a lactação. No entanto, em outros trabalhos com glutamina e glutamato na dieta de suínos não foram encontrados efeitos sobre a redução na perda de toucinho durante a lactação (AQUINO, 2012; MANSO et al., 2012; PARAZZI, 2014); porém, estes autores relataram espessuras de toucinho no dia do parto menores do que as aqui relatadas, o que, provavelmente, explica o efeito do Aminogut sobre a perda de espessura de toucinho encontrado neste estudo, pois matrizes suínas com maior espessura de toucinho apresentam maior perda de gordura independente de suplementação (SAUBER et al., 1998). Assim, a suplementação com glutamina e glutamato para matrizes com maior capacidade para perda de toucinho pode ser mais eficiente.

Manso et al. (2012) relataram que a suplementação com Aminogut mantém os níveis de glutamina no músculo o que, conseqüentemente, reduz a mobilização. Assim, a menor mobilização de tecidos confirma que os animais com dieta suplementada tinham uma melhor condição nutricional. De acordo com Kim et al. (2013), uma condição catabólica elevada durante a lactação pode reduzir a longevidade e a produtividade das matrizes. Dessa forma, pode-se dizer que, ao reduzir a perda de espessura de toucinho, a suplementação pode melhorar a longevidade das matrizes.

A melhor condição corporal ao final da lactação possibilita um menor intervalo entre o desmame e o cio das matrizes, como observado neste estudo, além de aumentar a

taxa de ovulação e de sobrevivência de embriões, o que pode maximizar o número de leitões por matriz por ano (ZAK et al., 1997). A redução do intervalo do desmame ao cio em 3 dias quando as fêmeas foram suplementadas com Aminogut pode representar uma redução nos custos de produção, além dos benefícios reprodutivos devido ao melhor escore corporal ao desmame.

O conteúdo proteico do leite coletado aos 7, 14 e 21 dias de lactação não foi afetado pela suplementação dietética com glutamina e glutamato, apesar de a glutamina e o glutamato representarem aproximadamente 20% dos resíduos de aminoácidos na proteína do leite (HAYNES et al., 2009) e serem os aminoácidos livres mais abundantes no leite de matrizes suínas (WU; KNABE, 1994). Provavelmente, isso ocorre devido à ação da glutamina como regulador da síntese proteica na glândula mamária (LOBLEY; HOSKIN; MCNEIL, 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por Santos de Aquino et al. (2014) ao suplementarem a dieta de matrizes suínas com 1,5% de Aminogut durante a lactação.

O aumento na concentração de gordura no leite na terceira semana de lactação devido ao uso de Aminogut também foi observado por Santos de Aquino et al. (2014). Os resultados deste estudo mostram que o uso de glutamina e glutamato como suplementos na dieta de fêmeas suínas em lactação mantém a concentração de gordura constante durante esse período, diferentemente dos animais da dieta-controle que apresentaram uma redução nos níveis e gordura no leite ao longo da lactação.

Essa redução no teor de gordura no final da lactação no tratamento controle pode ocorrer devido aumento da concentração de lactose nesse período, pois de 35 a 68% da glicose na glândula mamária são usados para síntese de lactose Boyd et al. (1995). A glicose que não é oxidada ou utilizada na síntese de lactose é então direcionada para síntese de lipídeos e aminoácidos (FARMER et al., 2008). Logo, com o aumento da síntese de lactose, menos glicose ficaria disponível para lipogênese. No entanto, não se sabe os mecanismos pelos quais a concentração de lactose no leite de matrizes suínas aumenta durante o período de lactação.

Já no tratamento com Aminogut, em que o nível de gordura permaneceu estável, o consumo extra de glutamina e glutamato pode ter reduzido o uso de glicose para síntese de aminoácidos, e dessa forma a glicose excedente é utilizada para lipogênese. Além disso, os aminoácidos representam cerca de 22% da energia absorvida pela glândula

mamária, podendo ser usados como doadores de carbono para síntese de gordura (BOYD et al., 1995).

A suplementação não afetou esta variável; no entanto, a concentração de sólidos totais foi menor no leite coletado no 21º dia de lactação, concordando com Klobasa, Werhahn e Butler (1987) que relataram redução dos sólidos totais do leite quando comparado ao colostro. Os valores de sólidos totais do leite de matrizes suínas encontrado neste estudo foram semelhantes aos encontrado pelos referidos autores e por Santos de Aquino et al. (2014).

Diferente de Santos de Aquino et al. (2014), neste estudo não foram encontradas diferenças na contagem de célula somática no leite. As células somáticas são compostas por células do sistema imune e por células provenientes da descamação do epitélio da glândula mamária (SCHAREK-TEDIN et al., 2015). Esse resultado pode indicar um estado imune adequado na glândula mamária, tendo em vista que o aumento de células somáticas pode indicar uma infecção aguda (SCHAREK-TEDIN et al., 2015).

Apesar de a glutamina ser a principal fonte de energia de células de multiplicação rápida, como as células do sistema imune (WU; KNABE, 1994), algumas células de defesa utilizam a glutamina como fonte de energia, apenas quando este é ativado (REN et al., 2017). Além disso, 60 a 89% das células somáticas no leite de matrizes suínas após uma semana de lactação são de origem epitelial (MAGNUSSON; RODRIGUEZ-MARTINEZ; EINARSSON, 1991). De acordo com Scharek-Tedin et al. (2015), no 17º dia de lactação apenas 6% das células somáticas do leite de matrizes suínas são do sistema imune.

O aumento da concentração de glutamina e alanina no leite durante a lactação, independente do tratamento, pode ser um reflexo do aumento da taxa de extração destes aminoácidos da artéria para a glândula mamária. Trottier, Shipley e Easter (1994) relataram que há um aumento na taxa de absorção de alanina e glutamina de 75 e 52%, respectivamente, do dia 11 ao dia 21. Apesar disso, o volume de glutamina absorvida do plasma é menor que o secretado no leite, indicando que há síntese de glutamina *de novo* na glândula mamária. Já a quantidade de glutamato absorvida da corrente sanguínea é muito próxima da secretada no leite (SHENNAN; PEAKER, 2000).

A síntese de glutamina e glutamato na glândula mamária ocorre através metabolização de aminoácidos de cadeia ramificada (LI et al., 2009), tendo em vista que

a absorção destes pela glândula mamária excede os requerimentos para síntese de leite (TROTIER; SHIPLEY; EASTER, 1997). Além disso, Li et al. (2009) relataram que não detectaram glutaminase no tecido mamário, o que maximiza a disponibilidade de glutamina para produção de proteínas do leite e para secreção no lúmen alveolar, devido à ausência de catabolismo deste, bem como matrizes suínas em lactação mobilizam suas reservas de proteína para fornecer aminoácidos para produção de leite (KIM; EASTER, 2001). No entanto, essa mobilização deve ser limitada, fazendo com que matrizes suínas lactantes não sejam capazes de sintetizar aminoácidos suficientes para máxima produção de leite (WU et al., 2014). Assim, um maior aporte de glutamina e glutamato via dieta pode reduzir a utilização dos aminoácidos das reservas, deixando-os disponíveis para outras funções, como a produção de leite.

Nesse estudo, a suplementação com apenas 1% mostrou-se eficaz para aumentar os níveis desses aminoácidos durante a lactação, consequentemente aumentou o fornecimento de glutamina e glutamato para os leitões via leite. Tais resultados corroboram com Manso et al. (2012) e Santos de Aquino et al. (2014), que já haviam relatado que a suplementação com Aminogut 2,55 e 1,5%, respectivamente, aumenta as concentrações de glutamina e glutamato no leite de matrizes suínas. Jang et al. (2014) relataram maior concentração de glutamato no leite de matrizes suínas que receberam dietas com mais proteínas.

Já está bem estabelecido que a utilização de glutamina e glutamato é benéfica aos leitões durante a lactação e pós-desmame devido, principalmente, às melhorias na saúde intestinal (BLACHIER et al., 2009; EWASCHUK et al., 2011; HAYNES et al., 2009; KIM; KIM, 2017; WU, 2013; WU; BORBOLLA; KNABE, 1994; WU; MEIER; KNABE, 1996).

A melhora no desempenho da progênie de matrizes alimentadas com dietas contendo Aminogut observada neste estudo pode ser explicado pela melhora na composição do leite, pois, normalmente, a concentração de aminoácidos essenciais no leite excede as necessidades para deposição de proteína dos leitões. No entanto, considerando a concentração dos aminoácidos não essenciais, apenas asparagina e serina, ultrapassam-se as necessidades dos leitões, enquanto que os demais aminoácidos não atendem à demanda para deposição de proteína (HOU et al., 2016). Diante disso, ocorre elevada taxa de síntese desses aminoácidos em leitões neonatos, utilizando como

substrato os aminoácidos essenciais (WU, 2010), o que pode afetar o crescimento desses animais. Portanto, a suplementação com aminoácidos não essenciais ou seus precursores é necessária para melhorar o desempenho de leitões (HOU et al., 2016; MATEO et al., 2008).

O aumento no ganho de peso dos leitões, neste estudo, coincidiu com o aumento da concentração de aminoácidos e gordura no leite na terceira semana de lactação. O nível de proteína e aminoácidos na dieta das matrizes está relacionado ao desempenho de leitões, pois matrizes que recebem dietas com maior teor de proteína e aminoácidos produzem leitões de maior ganho de peso diário e, conseqüentemente, maior peso ao desmame (JANG et al., 2014; MCNAMARA; PETTIGREW, 2002).

O desmame representa um grande desafio na vida dos leitões, posto que esta fase está associada a mudanças no metabolismo dos aminoácidos, disfunção intestinal e redução do crescimento (WU et al., 2011). De acordo com Hou et al. (2016), a concentração de glutamina e glutamato em dietas à base de milho e farelo de soja não atendem às exigências de leitões desmamados, pois estes não conseguem sintetizar arginina, glutamina, glutamato ou prolina suficientes para suas necessidades, demonstrando, assim, a importância da suplementação da dieta na fase pós-desmame.

Wang et al. (2015; 2008) atribuem a melhora no peso final e no ganho de peso de leitões desmamados à suplementação com 1% de glutamina na dieta. Wu, Meier e Knabe (1996) relataram que a suplementação com 1% de glutamina preveniu a atrofia do jejuno durante a primeira semana pós-desmame e aumentou a eficiência alimentar na segunda semana pós-desmame.

Apesar das melhorias durante a lactação e pós-desmame, acima descritas, não era claro quais os efeitos da suplementação durante a fase de lactação sobre a fase subsequente, suplementada ou não. Cabrera et al. (2013) avaliaram os efeitos da suplementação durante as fases de lactação (creep feed) e pós-desmame, e relataram uma redução na idade de desmame pela melhora no desempenho dos leitões na fase de lactação e menor na taxa de conversão alimentar dos animais que receberam glutamina nas duas fases. No entanto, na fase de lactação de nosso estudo, a suplementação foi fornecida via dieta das matrizes que resultou no aumento da concentração de glutamina, glutamato e gordura em relação ao grupo-controle, enquanto que Cabrera et al. (2013) forneceram ração (creep feed) aos leitões na fase de lactação.

Mesmo não recebendo a suplementação na segunda fase, os resultados apresentados no nosso trabalho indicam que o desempenho de leitões durante a primeira semana após o desmame é afetado pela suplementação da lactação, provavelmente pela maior reserva de glutamina endógena nesses animais em comparação ao grupo CO-CO, mas, que após uma semana sem a suplementação, essa reserva pode ter sido consumida.

De acordo com Wang et al. (2008), após o desmame há redução das concentrações de glutamina no plasma, nos tecidos do jejuno e no fluido do lúmen do jejuno; no entanto, a suplementação dietética com glutamina aumenta esses níveis. Assim, no grupo CO-AG, a suplementação apenas na segunda fase, aparentemente, forneceu quantidade suficiente de glutamina e glutamato para suprir às necessidades dos leitões. Já no grupo suplementado nas duas fases, o desempenho foi superior aos demais tratamentos devido ao fornecimento contínuo destes aminoácidos desde a lactação até a segunda semana pós-desmame.

## CONCLUSÃO

A suplementação durante a lactação com Aminogut melhora o teor de gordura e aminoácidos do leite, reduz a perda de espessura de toucinho das matrizes e melhora o ganho de peso dos leitões durante a lactação.

A suplementação na fase de lactação ou creche aumenta o ganho de peso dos leitões no período pós-desmame. A suplementação de Aminogut nas duas fases melhora a eficiência alimentar dos leitões.

## REFERÊNCIAS

AQUINO, R. S. D. E. **Efeito da Glutamina em Matrizes Suínas Lactantes**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012.

AULDIST, D. E. et al. The influence of litter size on milk production of sows. **Animal Science**, v. 67, n. 2, p. 333–337, 2 out. 1998.

BERCHIERI-RONCHI, C. B. et al. Oxidative stress status of highly prolific sows during gestation and lactation. **Animal**, v. 5, n. 11, p. 1774–1779, 2011.



BLACHIER, F. et al. Metabolism and functions of L -glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 814–821, 2009.

BOYD, D. R. et al. Nutrient Uptake and Endocrine Regulation of Milk Synthesis by Mammary Tissue of Lactating Sows. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. July, p. 36–56, 1995.

CABRERA, R. A. et al. Effects of creep feeding and supplemental glutamine or glutamine plus glutamate (Aminogut) on pre- and post-weaning growth performance and intestinal health of piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 29, 2013.

CURTHOYS, N. P.; WATFORD, M. Regulation of Glutaminase Activity and Glutamine Metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 133–159, jul. 1995.

EWASCHUK, J. B. et al. Glutamine supplementation improves intestinal barrier function in a weaned piglet model of Escherichia coli infection. **The British journal of nutrition**, v. 106, n. 6, p. 870–877, 2011.

FARMER, C. et al. Review: Current knowledge on mammary blood flow, mammary uptake of energetic precursors and their effects on sow milk yield. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 88, p. 195–204, 2008.

HAYNES, T. E. et al. L-Glutamine or L-alanyl-L-glutamine prevents oxidant- or endotoxin-induced death of neonatal enterocytes. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 131–142, 3 maio 2009.

HOU, Y. et al. Endogenous Synthesis of Amino Acids Limits Growth, Lactation, and Reproduction in Animals. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 7, n. 2, p. 331–342, 1 mar. 2016.

JANG, Y. D. et al. Effects of dietary protein levels for gestating gilts on reproductive performance, blood metabolites and milk composition. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 83–92, 2014.

KIM, M.-H.; KIM, H. The Roles of Glutamine in the Intestine and Its Implication in Intestinal Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 1051, 12 maio 2017.

KIM, S. et al. Improving efficiency of sow productivity: nutrition and health. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 26, 2013.

KIM, S. W.; BAKER, D. H.; EASTER, R. A. Dynamic ideal protein and limiting amino acids for lactating sows: The impact of amino acid mobilization. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 9, p. 2356–2366, 2001.

KIM, S. W.; EASTER, R. A. Nutrient mobilization from body tissues as influenced by litter size in lactating sows. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 8, p. 2179–2186, 2001.

KIM, S. W.; WU, G. Regulatory role for amino acids in mammary gland growth and milk synthesis. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 89–95, 6 mai. 2009.

KITT, S. J. et al. Effects of Glutamine on Growth Performance and Small Intestine Villus Height in Weanling Pigs Effects of Glutamine on Growth Performance and Small Intestine Villus Height in Weanling Pigs. **Nebraska Swine Reports**, p. 28, 2002.

KLOBASA, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J. E. Composition of sow milk during lactation. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 1458–1466, 1987.

LI, P. et al. Amino acids and immune function. **The British journal of nutrition**, v. 98, n. 2, p. 237–252, 2007.

LI, P. et al. Lactating Porcine Mammary Tissue Catabolizes Branched-Chain Amino Acids for Glutamine and Aspartate Synthesis. **Journal of Nutrition**, v. 139, n. 8, p. 1502–1509, 2009.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S. O.; MCNEIL, C. J. Glutamine in Animal Science and Production. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2525S–2531S, 1 set. 2001.

MAGNUSSON, U.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; EINARSSON, S. A simple, rapid method for differential cell counts in porcine mammary secretions. **Veterinary Record**, v. 129, n. 22, p. 485–490, 1991.

MANSO, H. E. C. et al. Glutamine and glutamate supplementation raise milk glutamine concentrations in lactating gilts. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 2, 2012.

MANSO, H. E. C. DA C. C. **Avaliação da glutamina sintetase e da concentração da glutamina no terço final da gestação e na lactação de camundongos fêmeas e matrizes suínas primíparas**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2006.

MANSO FILHO, H. C. et al. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolic state in the transition mare. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 12, p. 3424–3431, 2008.

MARC RHOADS, J.; WU, G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 111–122, 8 mai. 2009.

MATEO, R. D. et al. Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 4, p. 827–835, 2008.

MCNAMARA, J. P.; PETTIGREW, J. E. Protein and fat utilization in lactating sows: I. Effects on milk production and body composition. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 9, p. 2442–2451, 2002.

PARAZZI, L. J. **Efeito da suplementação de L-glutamina e L-ácido glutâmico na dieta de marrãs sobre o desempenho reprodutivo e produtivo da progênie**.

Pirassununga: Universidade de São Paulo, 29 ago. 2014.

QUESNEL, H.; ETIENNE, M.; PÈRE, M. C. Influence of litter size on metabolic status and reproductive axis in primiparous sows. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 1, p. 118–128, 2007.

REN, W. et al. Amino-acid transporters in T-cell activation and differentiation. **Cell Death and Disease**, v. 8, n. 3, p. 1–9, 2017.

REZAEI, R. et al. Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young Pigs. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 7, 2013.

SANTOS DE AQUINO, R. et al. Glutamine and glutamate (AminoGut) supplementation influences sow colostrum and mature milk composition. **Livestock Science**, v. 169, n. C, p. 112–117, nov. 2014.

SAUBER, T. E. et al. Effect of Lean Growth Genotype and Dietary Amino Acid Regimen on the Lactational Performance of Sows. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 4, p. 1098–1111, 1998.

SCHAREK-TEDIN, L. et al. Probiotic treatment decreases the number of CD14-expressing cells in porcine milk which correlates with several intestinal immune parameters in the piglets. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. March, p. 1–10, 2015.

SHENNAN, D. B.; PEAKER, M. Transport of milk constituents by the mammary gland. **Physiological reviews**, v. 80, n. 3, p. 925–51, 2000.

TROTTIER, N. L.; SHIPLEY, C. F.; EASTER, R. A. Plasma amino acid uptake by the mammary gland of the lactating sow. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 5, p. 1266, 1997.

WANG, H. et al. Glutamine Enhances Tight Junction Protein Expression and Modulates Corticotropin-Releasing Factor Signaling in the Jejunum of Weanling Piglets. **Journal of Nutrition**, v. 145, n. 1, p. 25–31, 2015.

WANG, J. et al. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1025–32, 2008.

WATFORD, M. Glutamine metabolism and function in relation to proline synthesis and the safety of glutamine and proline supplementation. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 8, p. 2003S–2007S, 2008.

WATFORD, M. Glutamine and glutamate: Nonessential or essential amino acids? **Animal Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 119–122, 2015.

WATFORD, M.; PHIL, D. FUNCTIONAL AMINO ACIDS AND INTESTINAL IMMUNE FUNCTION IN NEONATES. 2014.

WU, G. Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. **Advances in Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 31–37, 2010.

WU, G. et al. TRIENNIAL GROWTH SYMPOSIUM: Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 7, p. 2017–2030, 1 jul. 2011.

WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 407–411, 2013.

WU, G. et al. Amino Acid Nutrition in Animals: Protein Synthesis and Beyond. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 2, n. 1, p. 387–417, fev. 2014.

WU, G.; BORBOLLA, A G.; KNABE, D. A. The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 12, p. 2437–2444, 1994.

WU, G.; KNABE, D. A. Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 3, p. 415–24, 1994.

WU, G.; MEIER, S. A.; KNABE, D. A. Dietary Glutamine Supplementation Prevents Jejunal Atrophy in Weaned Pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. October, p. 2578–2584, 1996.

XIAO, Y. P. et al. Response to dietary l-glutamine supplementation in weaned piglets: A serum metabolomic comparison and hepatic metabolic regulation analysis. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p. 4421–4430, 2012.

ZAK, L. J. et al. Pattern of feed intake and associated metabolic and endocrine changes differentially affect postweaning fertility in primiparous lactating sows The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide. **Journal of Animal Science**, n. January, p. 208–216, 1997.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

O uso de xilanase na dieta de leitões melhora o desempenho, reduz a viscosidade e o estresse oxidativo, enquanto que a protease melhora a eficiência alimentar e a integridade do intestino. O uso combinado de xilanase e protease melhora o desempenho de leitões recém-desmamados, através da melhora na saúde intestinal. A melhora no desempenho dos animais que receberam xilanase ou protease, ou as duas juntas, indicam uma redução nas necessidades de manutenção desses animais, pois não houve melhora na digestibilidade dos nutrientes.

A suplementação com Aminogut melhora o ganho de peso dos leitões durante a lactação. A suplementação na fase de lactação ou creche pode melhorar o ganho de peso dos leitões no período pós-desmame. No entanto, a suplementação durante as duas fases apresentou melhor eficiência alimentar. Além disso, a suplementação na lactação não só melhora a composição do leite como também reduziu a mobilização corporal da matriz o que pode afetar sua longevidade e produtividade.

Novas pesquisas e outras análises são necessárias para compreender melhor os efeitos fisiológicos e metabólicos da suplementação durante lactação sobre o desempenho dos animais na fase subsequente sem suplementação.

Há melhora da eficiência alimentar com o uso de aminoácidos e enzimas, sendo esses ingredientes potenciais para a redução das despesas com alimentação que representam a maior parte dos custos de produção.