

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECIA**

GABRIELA MIOTTO GALLI

**USO ESTRATÉGICO DE ENZIMAS EXÓGENAS E PROBIÓTICO
PARA SUÍNOS: EFEITOS SOBRE METABOLISMO DE ENERGIA E NUTRIENTES E
SAÚDE INTESTINAL**

**Porto Alegre
Novembro 2023**

GABRIELA MIOTTO GALLI

**USO ESTRATÉGICO DE ENZIMAS EXÓGENAS E PROBIÓTICO
PARA SUÍNOS: EFEITOS SOBRE METABOLISMO DE ENERGIA E NUTRIENTES E
SAÚDE INTESTINAL**

Tese apresentada como requisito para
obtenção em Grau de Doutor em Zootecnia,
na Faculdade de Agronomia, da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Ines Andretta

Coorientador: Marcos Kipper da Silva

Porto Alegre

Novembro 2023

CIP - Catalogação na Publicação

Miotto Galli, Gabriela
USO ESTRATÉGICO DE ENZIMAS EXÓGENAS E PROBIÓTICO
PARA SUÍNOS: EFEITOS SOBRE METABOLISMO DE ENERGIA E
NUTRIENTES E SAÚDE INTESTINAL / Gabriela Miotto Galli.
-- 2023.
103 f.
Orientadora: Ines Andretta.

Coorientador: Marcos Kipper.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Suínos. 2. enzimas exogenas . 3. Probioticos .
4. Leitoes . 5. Digestibilidade . I. Andretta, Ines,
orient. II. Kipper, Marcos, coorient. III. Título.

Gabriela Miotto Galli
Mestre em Zootecnia

TESE

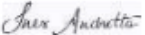
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTORA EM ZOOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil


Aprovada em: 01.11.2023
Pela Banca Examinadora:


Homologado em: 22/03/2024
Por



INES ANDRETTA
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientadora

Sergio Luiz Vieira Assinado de forma digital por
Sergio Luiz Vieira
Data: 2024.03.26 09:11:11 -0300
SERGIO LUIZ VIEIRA
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia


Aleksandro Schafer da Silva
UDESC


Jorge Yair Perez Palencia
SDState


Luciano Hauschild
UNESP

 Documento assinado digitalmente
CARLOS ALBERTO BISSANI
Data: 27/03/2024 15:29:19-0300
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

USO ESTRATÉGICO DE ENZIMAS EXÓGENAS E PROBIÓTICO PARA SUÍNOS: EFEITOS SOBRE METABOLISMO DE ENERGIA E NUTRIENTES E SAÚDE INTESTINAL

Autora: Gabriela Miotto Galli

Orientadora: Ines Andretta

Coorientador: Marcos Kipper da Silva

RESUMO

O objetivo geral desta tese foi avaliar se o uso de β -mananase isolada ou em combinação com arabinofuranosidases e xilanases poderia melhorar a digestibilidade da dieta, o metabolismo dos nutrientes e da energia e saúde intestinal em suínos na fase de crescimento e em leitões pós-desmame. Assim como, avaliar se o fornecimento de um probiótico a matrizes gestantes e lactantes e/ou às suas progênes na fase de creche poderia melhorar a digestibilidade dos nutrientes, o metabolismo de energia e a saúde intestinal de leitões pós-desmame. Ao todo, três experimentos foram realizados para responder estes objetivos. O objetivo do primeiro estudo foi avaliar se a adição de β -mananase isolada ou em combinação com um complexo de multi-carboidrases poderia aumentar a digestibilidade da dieta, metabolismo dos nutrientes e da energia e saúde intestinal de suínos em crescimento. Utilizou-se 24 suínos de 35,6 kg alimentados sem ou com a adição de β -mananase (BM; 300 g/ton) ou β -mananase mais uma mistura multienzimática de carboidrases (BM+MCC; 300 + 50 g/ton). A adição da BM e BM+MCC na dieta resultou em maiores ($P<0.05$) coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína e energia, e coeficientes de metabolizabilidade de proteína (2,87 e 2,60%) e energia (2,61 e 1,44%) em comparação ao grupo sem adição das enzimas. A adição da BM e BM+MCC reduziu o nível de calprotectina fecal em 52 e 56% em relação ao grupo sem adição das enzimas. O objetivo do segundo experimento, foi avaliar a adição de β -mananase isolada ou em combinação com um complexo de multi-carboidrases poderia melhorar a digestibilidade da dieta, metabolismo dos nutrientes e da energia e a saúde intestinal de leitões pós-desmame. Utilizou-se 30 leitões desmamados aos 28 dias (7,9 kg) alimentados sem ou com adição de β -mananase (BM; 300 g/ton) ou β -mananase mais uma mistura multienzimática de carboidrases (BM+MCC; 300 + 50 g/ton) após o desmame. A adição da BM na dieta melhorou ($P<0.05$) em 64 kcal/kg e o BM+MCC melhorou em 100 kcal/kg a energia metabolizável nos leitões. A adição da BM e BM+MCC às dietas também reduziu o nível de calprotectina fecal dos leitões em 29 e 46% em relação ao grupo controle. O objetivo do terceiro experimento foi avaliar a suplementação de um probiótico multi-especies em dietas para matrizes suínas em gestação e lactação e/ou em dietas de leitões na fase creche poderia melhorar a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo energético, bem como a saúde intestinal dos leitões na fase de creche. Assim, 32 leitões desmamados aos 21 dias (6,2 kg) foram divididos aleatoriamente em um arranjo fatorial 2×2 , no qual foram consideradas a suplementação probiótica materna (ausente ou presente) na gestação-lactação e a suplementação probiótica no período de creche (ausente ou presente) durante 21 dias. Os leitões nascidos de matrizes alimentadas com probiótico apresentaram maior ($P<0.05$) digestibilidade e metabolizabilidade da energia, o que resultou em um aumento de 46 kcal no conteúdo de energia metabolizável da dieta. A suplementação com probióticos para as matrizes

também reduziu ($P<0.05$) a permeabilidade intestinal das suas progênes em 16%. A suplementação de enzimas exógenas e probiótico melhoram a digestibilidade e metabolizabilidade dos nutrientes e a saúde intestinal de suínos.

Palavras-chave: Arabinofuranosidases, β -mananase, Digestibilidade, Probióticos, Programação fetal, Xilanases.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (105 p.) Novembro, 2023.

STRATEGIC USE OF EXOGENOUS ENZYMES AND PROBIOTICS FOR PIGS: EFFECTS ON ENERGY AND NUTRIENTS METABOLISM AND INTESTINAL HEALTH

Author: Gabriela Miotto Galli

Advisor: Ines Andretta

Co-Advisor: Marcos Kipper da Silva

ABSTRACT

Therefore, the general aim of this thesis was to assess whether the use of β -mannanase alone or in combination with a multi-carbohydrase complex, such as xylanase and arabinofuranosidases, could improve diet digestibility, nutrient metabolism, and intestinal health in post-weaned and growing pigs. In addition, assessing whether providing probiotics to gestation-lactating sows and/or their offspring in the nursery phase could improve the digestibility of nutrients, metabolism, and intestinal health of post-weaned pigs. Three trials were conducted to address these objectives. The first study aimed to evaluate whether the addition of β -mannanase alone or in combination with the multi-carbohydrase complex could act additively to improve diet digestibility, nutrient and energy metabolism, and gut health in growing pigs. Twenty-four 35.6 kg of pigs were fed with or without β -mannanase (BM; 300 g/ton) or β -mannanase plus a multi-enzyme mixture of carbohydrases (BM + MCC; 300 + 50 g/ton). The addition of BM and BM+MCC resulted in higher ($P < 0.05$) dry matter, protein, and energy digestibility coefficients, as well as protein (2.87 and 2.60%) and energy (2.61 and 1.44%) metabolizability coefficients, compared to the unadded group. The addition of BM and BM + MCC reduced the level of fecal calprotectin by 52 and 56%, respectively, compared to the unadded group. The second experiment aimed to assess whether the addition of β -mannanase alone or in combination with a multi-carbohydrase complex could improve diet digestibility, nutrient and energy metabolism, and intestinal health in post-weaned pigs. Thirty pigs weaned at 28 days of age (7.9 kg) were fed without any addition (control) or addition with β -mannanase (BM; 300 g/ton) or β -mannanase plus multi-carbohydrase complex (BM+MCC; 300 + 50 g/ton) after weaning. BM improved metabolizable energy by 64 kcal/kg ($P < 0.05$) and BM + MCC by 100 kcal/kg. The addition of BM and BM + MCC to the diets also reduced the level of fecal calprotectin by 29 and 46%, respectively, compared to the control group. The third experiment aimed to assess whether supplementation of a multi-species probiotic in diets for gestating and lactating sows and/or in diets for pigs in the nursery phase could improve the digestibility of nutrients and energy metabolism, as well as the intestinal health of pigs in the nursery phase. 32 pigs weaned at 21 days (6.2 kg) were randomly divided into a 2×2 factorial arrangement, which considered maternal probiotic supplementation (absent or present) during gestation-lactation, and probiotic supplementation during the nursery period (absent or present) for 21 days. Pigs born to sows fed probiotics showed greater ($P < 0.05$) digestibility and metabolizable energy, which resulted in an increase of 46 kcal in the dietary metabolizable energy content. Supplementing sows with probiotics also reduced the intestinal permeability of their offspring by 16 % ($p < 0.05$). Supplementation with exogenous enzymes and probiotics in

various strategies improves the digestibility and metabolizability of nutrients and the intestinal health of pigs.

Keywords: Arabinofuranosidases, β -mannanase, Digestibility, Fetal programming, Probiotics, Xylanases.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (105 p.) Novembro, 2023.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| A SUINOCULTURA E SEUS DESAFIOS | 15 |
| DESAFIOS NA NUTRIÇÃO DE SUÍNOS JOVENS | 16 |
| <i>Polissacarídeos não amiláceos (PNA)</i> | 18 |
| <i>β-mannanos</i> | 19 |
| Arabinoxilano e Xilose | 20 |
| <i>Fatores antinutricionais da soja</i> | 21 |
| ADITIVOS COMO FERRAMENTAS ESTRATÉGICAS EM PERÍODOS DESAFIADORES | 22 |
| Enzimas exógenas | 22 |
| <i>β-mannanase</i> | 22 |
| <i>Arabinofuranosidade e xilanase</i> | 27 |
| Probióticos | 30 |
| PROBLEMA DE PESQUISA | 33 |
| HIPÓTESES | 34 |
| OBJETIVOS | 34 |
| CAPITULO II | 36 |
| Complementary effects of β -mannanase and multi-carbohydrase complex on nutrient metabolism and gut health of growing pigs | 37 |
| 1. Introduction | 37 |
| 2. Material and Methods | 38 |
| 2.1 Enzymes | 38 |
| 2.2 Animals, diets, and experimental procedures | 38 |
| 2.3 Data collection | 40 |
| 2.3.1 Digestibility and metabolism | 40 |
| 2.3.2 Feed retention rate and fecal moisture content | 40 |
| 2.3.3 Acute phase proteins | 40 |
| 2.3.4 Fecal biomarkers | 40 |
| 2.3.5 Intestinal morphometry and intestinal rupture resistance | 41 |
| 2.4 Statistical analysis | 41 |
| 3. RESULTS | 41 |
| 3.1 General observations | 41 |
| 3.2 Digestibility and metabolism | 41 |
| 3.3 Production of manure, feed retention rate, and fecal moisture content | 43 |
| 3.4 Acute phase proteins and fecal biomarkers | 44 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5 Intestinal rupture resistance and morphometry | 45 |
| 4. Discussion | 46 |
| 5. Conclusion | 48 |
| References | 49 |
| CAPITULO III..... | 51 |
| Combination of β-mannanase plus multi-carbohydase complex in simple or complex post-weaned pig diets on nutrient metabolism and gut health..... | 52 |
| 1. Introduction | 52 |
| 2. Material and Methods | 53 |
| 3. Results..... | 56 |
| 5. Conclusion | 59 |
| Author Contributions..... | 60 |
| Acknowledgments..... | 60 |
| Conflict of Interest | 60 |
| Reference | 60 |
| CAPITULO IV | 73 |
| Probiotic supplementation to gestating-lactating sows or nursery pigs: Which is the best opportunity to improve nutrient digestibility and intestinal health of weaned pigs? | 74 |
| 1 Introduction | 74 |
| 3 Results | 78 |
| 4 Discussion | 79 |
| 5 Conclusion | 81 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 94 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 95 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------------------|---|
| HCL | Ácido clorídrico |
| PNA | Polissacarídeos não amiláceos |
| PAMP | Padrões moleculares associados a patógenos |
| FIIR | Resposta imune induzida por alimento |
| β -GAL | β -galactomanano |
| IGF-1R | Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 |
| GLP-2 | Peptideo 2 tipo glucagon |
| MUC2 | Mucina 2 |
| TNF- α | Fator de necrose tumoral alfa |
| ZO-1 | Zonula Occludens proteína 1 |
| IL | Citocinas |
| RNAm | RNA mensageiro |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| NH ₃ -N | Nitrogênio amoniacal |
| ED | Energia digestível |
| Ig | Imunoglobulina |
| DDGS | Grãos secos solúveis por destilaria |

CAPITULO I

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de aditivos via ração ou água é uma prática comum na produção animal, principalmente após a proibição de antibióticos como promotores de crescimento na União Europeia em 2006 (European Commission, 2005) e a restrição parcial de algumas moléculas em outros países, como o Brasil (Portaria nº 171/2019; nº 01/2020; Brasil 2018, 2020). As enzimas exógenas e os probióticos estão entre os aditivos mais utilizados na nutrição animal. Porém, alguns usos estratégicos destes aditivos ainda precisam ser mais bem avaliados. A combinação de aditivos e os melhores momentos de uso estão entre esses fatores que ainda podem ser melhor entendidos.

O principal objetivo do uso de enzimas exógenas na nutrição de animais não ruminantes refere-se a sua capacidade de degradar compostos complexos, como os polissacarídeos não amiláceos (PNA) e, com isso, melhorar a digestibilidade dos nutrientes, o desempenho e a saúde animal, além da possibilidade de reduzir os custos das dietas (Zuo et al., 2015). Este aditivo pode ter efeitos importantes nas fases iniciais do desenvolvimento, quando os distúrbios gastrointestinais são frequentes tanto por patógenos quanto pela mudança de dieta líquida para sólida, em função da baixa atividade enzimática endógena e baixa secreção de ácido clorídrico dos leitões (Leonard et al., 2011). Portanto, a suplementação de enzimas exógenas por aumentar a digestibilidade dos componentes não lácteos da dieta pode reduzir o impacto negativo do desmame. Da mesma forma, este aditivo desempenha um papel importante na fase de crescimento em que ocorre um aumento da inclusão de ingredientes vegetais nas dietas no qual possuem uma quantidade significativa de PNA que podem afetar o desempenho animal. Dentre as diversas enzimas disponíveis comercialmente, a β -mananase, xilanase e arabinofuranosidase se destacam pelas atividades complementares que podem beneficiar a saúde intestinal dos leitões.

Outros aditivos também podem colaborar para que os leitões enfrentem melhor o período pós-desmame. Em particular, pode ser destacado o efeito dos probióticos, que são microrganismos vivos com alto potencial para substituir os promotores de crescimento. Estes aditivos podem aumentar a digestibilidade da proteína e energia bruta da dieta, além de proporcionar melhor desempenho animal, integridade intestinal, perfil microbiano (Tang et al., 2019) e sistema imune dos suínos (Wang et al., 2019b). Os probióticos também possuem atividade anti-inflamatória (Tomosada et al., 2013) e, podem aumentar a produção de ácidos graxos de cadeia curta, que são considerados fontes de

energia para o animal (Tang et al., 2019). Neste cenário, os benefícios da suplementação de probióticos nas matrizes suínos e seus efeitos na progênie tem sido menos estudado, mas tem chamado a atenção nos últimos anos, o que indica que esta pode também ser uma fase importante para a suplementação com o objetivo de melhorar o desempenho e saúde da progênie.

Embora muitos estudos já estejam disponíveis nesta área, ainda existem poucas informações sobre o uso das β -mananases combinadas com outras carboidrases. Da mesma forma, poucos estudos investigaram a ação desta enzima em conjunto com outros aditivos, como xilanases, arabinofuranosidases. Portanto, foram realizados dois estudos para avaliar os efeitos da β -mananase, combinada ou não, com xilanase e arabinofuranosidase na dieta de leitões pós-desmame e em fase de crescimento. O terceiro estudo avaliou os efeitos de probiótico na dieta de leitões pós-desmame provenientes de mães que receberam ou não o mesmo probiótico na fase de gestação e lactação. Além disso, poucos estudos existem sobre os impactos da nutrição materna, com o emprego de probióticos durante as fases de gestação e lactação, sobre o desempenho futuro da sua respectiva prole, como foi o objetivo do nosso terceiro estudo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A SUINOCULTURA E SEUS DESAFIOS

O Brasil em 2022 produziu 4,983 milhões de toneladas de carne suína e, associado a isto, observa-se um consumo *per capita* anual de carne suína no país de 18 kg/habitante (ABPA, 2023) o qual aumentou em relação aos anos anteriores. Além disto, o Brasil é o quarto maior exportador de carne suína do mundo (ABPA, 2023). Os principais fatores relacionados com o crescimento do setor são o melhoramento genético, sanidade, ambiência, manejo, nutrição e mercado.

As dietas de animais não-ruminantes são geralmente formuladas a base de milho e farelo de soja. Apesar de sua qualidade nutricional, estes ingredientes vegetais contêm vários componentes resistentes a digestão, como a fibra encontrada na parede celular dos ingredientes vegetais (Liu et al., 2019). Os suínos e as aves não produzem enzimas suficientes para quebrar certas ligações de alguns componentes presentes nos vegetais. Desta forma, várias enzimas exógenas como as β -mananases, xilanases, α -amilases, β -glucanases, pectinases e celulasas estão sendo usadas como aditivos na dieta para auxiliar na digestão de nutrientes, aumentar a proporção de bactérias benéficas no trato intestinal, diminuir a viscosidade intestinal e economizar energia que seria utilizada nos processos metabólicos do animal.

A importância destes aditivos é ainda maior no período de pós-desmame, por ser a fase mais crítica na vida dos leitões, na qual a ocorrência de distúrbios digestivos é frequente, o que pode retardar o crescimento e provocar alta taxa de morbidade a agentes infecciosos e de mortalidade. Neste período ocorrem alterações na morfologia e fisiologia do intestino dos leitões, em função da mudança de uma dieta líquida para sólida a base de vegetais, que é menos palatável e digestível por conter fatores antinutricionais, o que altera a microbiota intestinal e diminui a imunidade, além de afetar o desempenho dos leitões (Duarte et al., 2019). Ainda neste período, o leitão possui uma baixa secreção enzimática endógena e uma secreção de ácido clorídrico inadequada, por seus órgãos não estarem completamente desenvolvidos (Leonard et al., 2011), o que também afeta a digestão e absorção dos nutrientes. Deste modo, os probióticos se tornam uma alternativa interessante para modular a microbiota benéfica, minimizando os distúrbios gastrointestinais citados acima.

Além disso, no século XXI tem se buscado alternativas alimentares para reduzir o impacto ambiental na produção animal. No entanto, ainda pouco se sabe sobre o impacto ambiental de enzimas exógenas e probióticos nos programas de alimentação para suínos. Hickmann et al. (2021) observaram que a adição de β -mananase atenuou os impactos das alterações climáticas e da eutrofização tanto quando a enzima foi adicionada para liberar 45 ou 90 kcal de energia metabolizável por ração. Estes resultados podem ser observados devido que a adição de enzimas exógenas pode diminuir a inclusão de ingredientes energéticos nas formulações, principalmente o óleo de soja no qual está associado com o alto impacto ambiental.

Attia et al. (2023) verificaram que a adição de 2 kg por ração de um probiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae* para frangos de corte melhorou o desempenho zootécnico e pode substituir promotores de crescimento (antibióticos), o que torna o sistema produtivo mais sustentável. A adição desses aditivos melhora a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal o que pode influenciar de forma indireta a sustentabilidade, como por exemplo, na redução da produção de dejetos, dos nutrientes excretados e antibióticos no meio ambiente.

DESAFIOS NA NUTRIÇÃO DE SUÍNOS JOVENS

A nutrição dos suínos jovens é uma área bastante complexa e repleta de desafios. Muitos destes desafios são intrínsecos a idade do animal em que o desmame normalmente é realizado (imaturidade fisiológica e imunológica) de maneira abrupta com que a nova condição de vida é apresentada aos leitões (troca de dieta, separação da mãe, formação de novos grupos sociais, etc.). É possível afirmar que parte destes fatores são associados ao animal. Porém, uma parcela importante do desafio também está associada aos alimentos ofertados nesta idade do animal.

O desmame é uma das fases mais críticas da vida de um leitão especialmente nas duas primeiras semanas devido a imaturidade do sistema digestivo, que está relacionado com a incapacidade de digestão e absorção dos nutrientes. Na nutrição de suínos jovens é importante estabelecer uma boa barreira e função gástrica (Hutingetal et al., 2021). O estômago é responsável por secretar ácido clorídrico (HCL) e enzimas que hidrolisam os carboidratos, proteínas e gorduras. A secreção de HCL reduz o pH gástrico no qual possui dois propósitos: (1) facilitar a digestão proteica e (2) criar uma barreira natural (Hutingetal et al., 2021). Deste modo, a capacidade do estômago digerir os nutrientes depende do

pH gástrico e velocidade de esvaziamento gástrico, composição da dieta, tamanho das refeições e a quantidade de secreções gástricas produzidas (Mennah-Govela et al., 2019). Os leitões produzem baixa quantidade de HCL, o que resulta em alto pH estomacal o que provoca uma digestão ineficiente dos nutrientes. Neste contexto, o alto pH estomacal aumenta a quantidade de proteína não digerida que entra no trato intestinal o que aumenta o risco de diarreia devido fornecer substrato para a proliferação de bactérias nocivas (Heo et al., 2013) e disfunção da barreira gástrica (Warneboldt et al., 2016)

Além da imaturidade fisiológico os leitões são imaturos imunologicamente. Os leitões nascem sem imunidade passiva das matrizes suínas (Hutingetal et al., 2021). Deste modo, os leitões dependem da transmissão de imunoglobulinas por meio do colostro das matrizes suínas. O colostro é uma importante fonte de energia para termorregulação, deposição de energia, atividade física e de manutenção (Hutingetal et al., 2021). O desmame normalmente ocorre entre 21 ou 28 dias. Durante este período ocorre um declive da imunidade passiva e começa ocorrer um aumento da imunidade ativa. No entanto, os leitões desmamados aos 21 dias são mais susceptíveis a doenças devido a um maior gap no sistema imune.

Ainda neste cenário, leitões desmamados aos 28 dias apresentaram maior consumo de ração em relação aos leitões desmamados aos 21 dias (Ming et al., 2021). No entanto, os autores não encontraram diferença para a conversão alimentar ao comparar as duas idades de desmame. Porém, observaram menor incidência de diarreia nos leitões desmamados os 28 dias, menor pH estomacal, melhor status antioxidante e altura de vilosidade em relação aos leitões desmamados aos 21 dias (Ming et al., 2021).

Diversos programas nutricionais podem ser utilizados na fase pós-desmame, assim como vários ingredientes e aditivos são comumente usados. Um dos grandes debates recentes é a viabilidade do uso de dietas simples ou complexas na fase pós-desmame. Dietas complexas são formuladas com maior inclusão de ingredientes de alto valor biológico, que são mais digestíveis e palatáveis aos animais. Entre esses ingredientes, podem ser citados o soro de leite em pó, plasma sanguíneo desidratado, os isolados proteicos, entre outros, que também apresentam benefícios imunológicos aos animais. As dietas complexas podem facilitar a adaptação dos animais ao processo normalmente abrupto e precoce de desmame. Porém, essas dietas são mais caras e nem sempre sua viabilidade econômica é completamente conhecida nos sistemas comerciais de produção.

Koo et al. (2020) forneceram dieta simples e complexa para leitões pós-desmamados e verificaram que os leitões alimentados com dieta simples tiveram maiores concentrações de $\text{NH}_3\text{-N}$ na digesta do jejuno em relação aos leitões alimentados com dieta complexa. No entanto, estes autores não observaram diferença no desempenho zootécnico dos leitões ao comparar dieta simples *versus* dieta complexa. Em contrapartida, Wang et al. (2018) constataram que leitões pós-desmamados alimentados com dieta complexa tiveram maior consumo alimentar e ganho de peso em comparação àqueles que receberam dieta simples. Porém, não verificaram diferença para a concentração sérica de citocinas (IL-1 α ; IL-1 β ; IL-1Ra; IL-2; IL-4; IL-8; IL-10; IL-12; IL-18 e TNF α) e para a microbiota fecal ao comparar as dietas fornecidas (simples e complexa).

Quando o nutricionista opta por programas alimentares com dietas mais complexas ou mais simples, ele acaba alterando o grau de desafio por fatores antinutricionais ao qual os animais serão expostos. Nesta parte da revisão bibliográfica, vários pontos críticos da nutrição de leitões associados aos alimentos comumente usados serão abordados, com foco nos fatores antinutricionais presentes nas dietas dos suínos e no seu impacto sobre a saúde intestinal e a digestibilidade dos nutrientes em leitões.

Polissacarídeos não amiláceos (PNA)

Os PNA são uma parte significativa dos vegetais e, podem corresponder de 10 a 75% dependendo do ingrediente na alimentação de não ruminantes (Choct, 2015). Além disto, dependendo da quantidade de PNA solúveis presentes nos grãos, estes são classificados como viscosos ou não. No caso dos cereais viscosos, isto inclui trigo, cevada, triticale e aveia, enquanto os não viscosos, incluem sorgo, milho, arroz e soja (Choct, 2015).

Os PNA presentes nos grãos de cereais e subprodutos possuem efeitos negativos no trato gastrointestinal de não ruminantes. Estes podem funcionar como substrato para aumentar a viscosidade, desta forma, aumenta-se o tempo de trânsito da digesta (Ellis et al., 1995), a taxa de renovação celular da mucosa, a secreção de mucina e o conteúdo não digerido (Dong et al., 2018), o que pode aumentar a excreção endógena de aminoácidos (Angkanaporn et al., 1994). Os PNA insolúveis não geram grandes interações no trato digestivo em relação aos PNA solúveis, que interferem na digestibilidade (Urriola & Stein 2010). Os PNA solúveis impedem a ação de várias enzimas, além de aumentar a produção de saliva, bile, suco pancreático, e diminuir a

energia metabolizável. Neste contexto, os PNA podem alterar a microbiota intestinal por meio do aumento de proteína não digerida, que serve como substrato para a proliferação microbiana, como também, reduz a interação substrato e enzimas digestivas (Owusu-Asiedu et al., 2006).

O milho é utilizado como principal fonte de energia em dietas de não ruminantes, por sua fácil digestão e disponibilidade no mercado. A energia do milho é oriunda principalmente do amido, mas sua digestibilidade pode variar conforme os PNA presentes nas dietas (Cowieson, 2005). O grão inteiro do milho contém 27-32 g de xilose/kg (Knudsen, 1997) como arabinoxilanos no pericarpo e aleurona (Landis et al., 2001), estes são responsáveis pelo menor valor nutricional do milho. Já o farelo de soja é utilizado nas dietas como fonte de proteína de alta qualidade, no entanto, este contém 23% dos seus carboidratos na forma de PNA (Upadhaya et al., 2016). Portanto, é fundamental compreender os efeitos dos PNA solúveis e insolúveis na fisiologia da digestão e no consumo voluntário dos alimentos.

β-mananos

Os β-mananos são fatores antinutricionais encontrados principalmente em torno de 1 a 2% do peso seco do farelo de soja (Liu et al., 2019). Um dos problemas enfrentados pela nutrição é que este componente não é inativado nos processos de aquecimento e secagem do farelo (Hsiao et al., 2006). Este é classificado como um polissacarídeo linear, sendo composto por unidades repetidas de resíduos de β-1,4-manose ou galactose e/ou glicose (Zly et al., 2010). Estes podem ocorrer de quatro formas nos vegetais sendo estas: glucomanano, galactomanano, glucogalactomanano e glucuronomanano (Aman & Graham, 1990). As aves e os suínos não possuem enzimas para realizar a quebra das ligações β-1, 4-manosil e α-1, 6-galactosil (Veum & Odle, 2001) e isto ocasiona menor utilização dos nutrientes e piora no desempenho animal. Além disto, podem reduzir a absorção de glicose e os níveis circulantes do fator de crescimento da insulina tipo 1 (Petty et al., 2002), o que pode estar relacionado com um desempenho zootécnico inferior.

Os β-mananos influenciam a resposta imune em aves e suínos. Deste modo, ao ser ativado, o sistema imune gera uma resposta inflamatória e imunológica com o objetivo de induzir mecanismos para restaurar a integridade e função do tecido alvo, enquanto na presença de patógenos esses mecanismos têm o intuito de destruir e/ou controlar sua disseminação e colonização sistêmica (Goldszmid & Trinchieri, 2012). As células do

sistema imune inato reconhecem os patógenos por meio de várias moléculas, conhecidas como padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), que são expressas na superfície dos patógenos (Smith, 2018). Portanto, os PAMP se ligam aos receptores presentes nas células imunes inatas e as ativam (Osvaldova et al., 2017). Os β -mananos, como o β -galactomanano (β GAL), podem causar resposta imune induzida pelo alimento (FIIR) em frangos de corte (Arsenault et al., 2017), o que afeta negativamente o sistema imune e a proliferação microbiana no intestino (Saeed et al., 2019). A FIIR ocorre porque os β -mananos possuem uma estrutura molecular semelhante a alguns patógenos (Saeed et al., 2019), como os fungos, bactérias e vírus (Hsiao et al., 2006).

Desta forma, o organismo não consegue fazer esta diferenciação e isso ocasiona uma estimulação do sistema imune inato. Esta estimulação causa a proliferação de macrófagos e monócitos, além do aumento na produção de citocinas e da resposta inflamatória, o que provoca um gasto energético desnecessário (Scapini et al., 2019), pois ocorre redirecionamento dos nutrientes para produzir moléculas do sistema imune ao invés de serem usadas para manutenção e/ou crescimento (Ferreira et al., 2016).

Arabinosilano e Xilose

A hemicelulose possui uma grande fração de arabinosilano presente nos grãos de cereais e subprodutos, desta forma, a adição da enzima xilanase e da arabinofuranosidade é de grande interesse para os nutricionistas de suínos (Jaworski et al., 2015), pois a xilose é o componente primário do arabinosilano (Huntley & Patience, 2018). Além do que, normalmente as dietas de suínos em crescimento contém de 3 a 5% de xilose polimérica, se está mesma quantidade for xilose livre, pode afetar a nutrição e, conseqüentemente, o desempenho animal (Huntley & Patience, 2018).

Portanto, a xilose começou a ser estudada por Wise et al. (1954) em 1954, apesar disto, ela vem sendo pouco estudada desde então. Desta forma, é de suma importância saber os mecanismos pela qual a xilose desaparece no trato intestinal, seja pela absorção do açúcar intacto ou por fermentação microbiana, com isso, pode se tentar determinar o seu impacto no metabolismo energético. Huntley & Patience (2018) constataram que os suínos podem metabolizar a xilose, porém, com menor eficiência que a glicose. Estes também observaram que os suínos podem se adaptar ao longo do tempo para utilizar a xilose, e desta forma, diminuir sua excreção via urina. O seu principal metabólico encontrado na urina é o D-treitól, seguido por xilitol, ácido D-xilônico e D-xilulose (Huntley

& Patience, 2018). Além disto, a concentração de 8 % de xilose na dieta diminuiu a energia metabolizável. A via metabólica da xilose para gerar energia pode ser por meio da via pentose fosfato, com isso, está é oxidada em CO₂, o que gera energia (Huntley & Patience, 2018). Neste contexto, é importante saber o quanto a xilanase libera de energia da xilose. Além disto, os mesmos autores observaram que o consumo de xilose influencia também no consumo de água e conseqüentemente na produção de urina. Estes utilizaram 2, 4 e 8% de xilose na dieta, e observaram que conforme aumentou se a quantidade de xilose, aumentou-se também a excreção de água, isto possivelmente ocorreu para equilibrar a osmolaridade da urina.

O arabinoxilano diminui a digestibilidade da proteína e dos aminoácidos em 5% no trato gastrointestinal devido ao menor tempo de passagem dos nutrientes pelo trato. Isto resulta em menor tempo de acesso das proteases digestivas ao bolo alimentar e conseqüentemente menor absorção (Zhang et al., 2015). Além do que, aumenta a capacidade de retenção de água da digesta devido a presença de uma fibra alimentar solúvel (Zhang et al., 2015).

Fatores antinutricionais da soja

A soja é o principal ingrediente usado como fonte de proteína, por possuir altos níveis nutricionais e, com isso, proporcionar crescimento muscular (Feng et al., 2020). Porém, possui fatores alergênicos, que são resistentes a quebra por enzimas endógenas por conter ligação de dissulfeto, em que afetam principalmente leitões jovens (Wang et al., 2011). Desta forma, o acúmulo da proteína não digerida pode promover a fermentação microbiana e a proliferação de microrganismos patogênicos, o que pode causar problemas entéricos.

Entre os fatores antinutricionais da soja podemos destacar os inibidores de enzimas digestivas, lectinas, alérgenos, fitoestrogênios, oligossacarídeos e fitina (Liener, 1994; Jo et al., 2012). Alguns destes fatores podem ser reduzidos com o tratamento térmico, no entanto, alguns fatores não são desativados como os inibidores de Bowman-Brick e os inibidores de Kunitz da quimotripsina e tripsina (Friedman & Brandon, 2001). Além disto, este processo térmico reduz a disponibilidade de alguns aminoácidos como lisina e arginina (McDonald et al., 2011). Por fim, os inibidores de protease reduzem a disponibilidade de proteína no trato gastrointestinal, pois ao se ligarem inativam a tripsina e quimotripsina (Sklan et al., 1975). Portanto, afetam a digestibilidade da dieta e a saúde dos suínos de forma negativa.

A inclusão de farelo de soja nas dietas de leitões jovens é normalmente limitada por conta do impacto destes fatores antinutricionais. Esta é uma das principais características das dietas complexas utilizadas no período pós-desmame. Porém, a inclusão do farelo de soja é mais alta nas dietas simples, que vêm ganhando espaço nos sistemas de produção especialmente em momentos economicamente desafiadores, com altos preços de matérias-primas.

ADITIVOS COMO FERRAMENTAS ESTRATÉGICAS EM PERÍODOS DESAFIADORES

Enzimas exógenas

As enzimas exógenas podem degradar os PNA e, com isso, melhorar o desempenho animal, digestibilidade dos nutrientes e as respostas perante os desafios. No entanto, os efeitos benéficos da utilização de enzimas, depende do tipo e quantidade de PNA presentes nos ingredientes para que se possa usar uma dose adequada (Kim et al., 2017). Ainda neste contexto, as enzimas exógenas podem ser de origem bacteriana e fúngica (Torres-Pitarch et al., 2017) e são comumente utilizadas com o objetivo de reduzir os custos de alimentação, o que torna a produção de suínos mais lucrativa (Zuo et al., 2015).

***β*-mananase**

A enzima *β*-mananase é uma endocarboidrase responsável por começar a degradação dos mananos (Zly et al., 2010; Moreira et al., 2008). Portanto, como produtos desta hidrólise podemos citar a manobiose, manotriose e manose (Dhawan & Kaur, 2007). Além disto, esta enzima pode reduzir a resposta imune, provocada pela diminuição das imunoglobulinas (Li et al., 2010) e leucócitos (Mehri et al., 2010), isso ocorre pois os mananos presentes na ração, estimulam o sistema imune, o que gera um gasto de ATP e nutrientes desnecessários, criando um sinal falso da presença de patógenos no organismo.

Ferreira et al. (2016) forneceram 0 e 500 g/ton da *β*-mananase oriunda de *Bacillus subtilis* na dieta de frangos de corte, e observaram maior ganho de peso e menor conversão alimentar de 1-42 dias. Isto pode estar relacionado com o aumento da energia

metabolizável aparente para o balanço de nitrogênio (kcal/kg) em 1,5% em relação ao grupo sem enzima, além de diminuir em 2,2% a excreção de nitrogênio (grama/ave/dia). Ainda neste contexto, Ferreira et al. (2016) observaram que a suplementação da enzima aumentou o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira dos aminoácidos, como lisina, metionina, arginina, glutâmico, valina, treonina entre outros. Além disso, aumentou a digestibilidade da proteína bruta em 2,0%. A melhora no coeficiente de digestibilidade dos nutrientes pode acontecer porque a enzima reduz o tamanho das moléculas que compõem os nutrientes (Cho & Kim, 2013), o que permite uma maior área de contato e absorção. Este resultado positivo também pode estar relacionado com uma diminuição da viscosidade da digesta ileal e células caliciformes (Mehri et al., 2010). Assim, a produção de mucina diminui, conforme melhora a digestão das fibras (Romero et al., 2013). Com isso, menos aminoácidos são perdidos, principalmente a treonina que é destinada a produção de mucopolissacarídeo. Ferreira et al. (2016) verificaram que a enzima liberou 48 kcal/kg de energia metabolizável aparente para o balanço de nitrogênio. Desta forma, pode se reduzir os níveis de nutrientes das dietas, além dos ingredientes energéticos, sem que haja perda no desempenho, o que reflete na redução dos custos de produção.

Li et al. (2010) observaram que a adição da β -mananase pode reduzir o tamanho do trato gastrointestinal em frangos de corte. Esta redução no trato gastrointestinal reduz o metabolismo basal o que ajuda a produzir menos calor no processo de digestão e, conseqüentemente melhora o uso da energia. Pettey et al. (2002) forneceram 0,05% da β -mananase em dieta a base de milho e farelo de soja na fase de crescimento e terminação para suínos e verificaram melhora no ganho de peso final, ganho de peso diário, além do aumento no ganho magro de carcaça, o que pode estar relacionado com maior eficiência energética. Estes autores indicam que a enzima fornece o equivalente a 100 kcal/kg de energia metabolizável, o que também explica o melhor desempenho animal, apesar destes não terem verificado diferença na digestibilidade aparente da energia, nitrogênio e matéria seca.

Yoon et al. (2010) suplementaram 400 U/kg da β -mananase em dietas com 15% de DDGS (grãos secos solúveis por destilação) para suínos na fase de terminação, e observaram um aumento no ganho de peso diário, além do aumento de triglicerídeo, glicose e colesterol no soro destes animais. Isto pode estar relacionado com um aumento na digestibilidade da proteína bruta, energia bruta e matéria seca. Jeon et al. (2019) forneceram 0,05% da β -mananase produzida a partir de *Bacillus subtilis* na dieta de

suínos em crescimento, e observaram que está melhorou a digestibilidade ileal padronizada dos aminoácidos, a digestibilidade aparente total do trato e da proteína bruta. Portanto, pode se diminuir os níveis de aminoácidos da dieta sem que haja comprometimento do desempenho animal, além de reduzir os custos da ração, pois são ingredientes caros. Segundo os autores, isto pode ter ocorrido pela maior absorção dos nutrientes nas seções distais do intestino, e com isso, menor fluxo de nutrientes a seção proximal, isso faz com que ocorra uma maior taxa de fermentação, e também pode estar relacionado com a menor viscosidade da digesta o que facilita a quebra entre as unidades de β -mananos. Além disso, estes relataram uma diminuição do nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) com o uso da enzima, o que também indica melhor utilização dos nutrientes.

Lv et al. (2013) adicionaram 0, 200, 400 e 600 U/kg da β -mananase para suínos oriunda do fungo *Aspergillus sulphureus*, e observaram que o nível ótimo de inclusão foi de 400 U/kg da enzima, em que aumentou o ganho de peso em 14,6% e a eficiência alimentar em 17,7% em comparação ao grupo que não recebeu a enzima. Já em um segundo experimento estes autores forneceram 400 U/kg da β -mananase em dietas com baixa energia (3.250 kcal/kg energia digestível ED) e, observaram que o desempenho dos suínos que receberam a dieta com baixa energia e a enzima tiveram o desempenho igual ou melhor aos que receberam a dieta com alta energia (3.400 kcal/kg ED) e sem o uso da enzima. Desta forma, a enzima disponibilizou 150 kcal/kg de energia digestível (Lv et al., 2013). Upadhaya et al. (2016) observaram uma redução na população de coliformes totais nos suínos suplementados com a β -mananase, isto é benéfico, pois mostra que está influenciou de forma positiva as matrizes suínas, em que tem diminuído a perda de peso corporal das fêmeas durante a lactação e aumentado o teor de gordura do leite, isto provavelmente ocorreu pelo aumento da permeabilidade da parede celular e da degradação dos polissacarídeos de cadeia longa, portanto, melhora se a utilização dos nutrientes e o fornecimento de energia (Kim et al., 2018).

Jang et al. (2020) não observaram uma melhora no desempenho de leitões pós-desmamados ao adicionarem 0,06% da β -mananase (*Paenibacillus lentus*) na dieta. Os autores supõem que isto pode ter ocorrido pois a hidrólise do β -manano pela enzima liberou apenas 3,3% de manose que é a fração responsável pelo efeito poupador de energia. Portanto, está liberação foi insuficiente. Além disto, estes também não observaram melhora nas respostas imunológicas. No entanto, observaram um aumento na digestibilidade aparente total do trato digestivo para o extrato etéreo, isto pode ter ocorrido pela melhora no transporte de micelas e sal biliar no conteúdo gastrointestinal,

devido a diminuição na viscosidade da digesta. Também verificaram um aumento nas vilosidades intestinais, relação vilo:cripta e diminuição da profundidade da cripta no jejuno, isto pode ter decorrido pela diminuição do conteúdo de PNA e da viscosidade da digesta.

Ferrandis-Vila et al. (2018) forneceram dietas sem e com um blend de enzimas exógenas (xilanase, β -glucanase, mananase e galactosidase) em dietas a base de milho e farelo de soja, 40% de DDGS e 30% de farelo de trigo para suínos. Estes observaram que o complexo enzimático não modificou a expressão de MUC2 em dietas com farelo de soja e milho, e farelo de trigo. Porém, as enzimas reduziram a expressão de MUC2 em suínos alimentados com DDGS em comparação aos que receberam dieta sem o blend de enzimas com milho e farelo de soja. Além disto, a adição destas enzimas nas dietas com DDGS e farelo de trigo aumentaram a expressão de IL-1 β , em comparação as dietas sem enzimas, no entanto, porque isso ocorre e como ocorre, talvez esteja relacionado com o tipo de fibra que cada dieta possui. Liu et al. (2019) ao adicionarem 1 g/kg da β -xilosidase e β -manosidase na dieta de suínos na fase de crescimento, observaram melhora no desempenho animal e na digestão dos nutrientes, além destes aditivos terem alterado a microbiota intestinal, em que houve aumento na proporção de bactérias benéficas.

Os β -mananos ao serem absorvidos estimulam a imunidade inata no intestino. Seus componentes presentes em sua superfície são semelhantes a vários patógenos, com isso, pode se melhorar a proliferação de monócitos e macrófagos, como também a produção de citocinas (Saeed et al., 2019). Portanto, o sistema imune inato reconhece estes componentes, e, esta resposta consome energia de forma ineficiente (Hsiao et al., 2006). Arsenault et al. (2017) observaram que a β -galactomanano (β GAL) gera FIIR, portanto, também pode induzir a inflamação intestinal. Porém, estes efeitos foram menores quando ocorreu a adição da β -mananase, o que demonstra uma atividade anti-inflamatória e poupadora de energia, pois, os sinais que uma resposta imune estava ocorrendo, não estavam mais presentes. Além disso, estes autores observaram que a dose mais baixa (200g /t) utilizada no estudo para as aves mais velhas não resultou em uma resposta fisiológica que possa substituir a resposta imune induzida pela ração provocada pela β GAL. Desta forma, está dose foi eficaz na fase inicial, porém, conforme aumentasse a idade dos animais a dose da enzima deve ser maior para proporcionar resultados mais consistentes.

Huntley, Nyachoti, & Patience (2018) forneceram 0,056% da β -mannanase para leitões pós-desmamados e observaram uma diminuição na concentração sérica de haptoglobina. Este fato é benéfico, pois o aumento da haptoglobina é indicativo de inflamação (Nielsen et al., 2020). Menores concentrações de TNF- α e haptoglobina podem indicar uma menor resposta inflamatória em suínos e está relacionada com o estresse, principalmente ao desmame (McAfee et al., 2019). Huntley, Gould & Patience (2020) não verificaram interação entre os níveis de β -mananos e a adição da β -mannanase nas concentrações de haptoglobina e proteína C reativa em leitões pós-desmamados, isto pode ter ocorrido pelo fato da quantidade de β -mananos presentes na dieta não terem provocado uma resposta imune. Portanto, a dose de β -mananos não provocou um estresse imunológico sistêmico.

Ibuki et al. (2014) ao fornecerem farinha de copra hidrolisada com a adição de mananase e β -1,4-mannobiose para leitões observaram que a concentração e a expressão gênica do TNF- α diminuiu, o que sugere um efeito de restauração na integridade da barreira intestinal, o que causa menor permeabilidade intestinal. Portanto, os autores sugerem que a mananase reduz os mediadores pró-inflamatórios e, com isso, pode reduzir a inflamação intestinal. Porém, estes autores não observaram diferença para as IL-1b e IL-6. Enquanto, Tiwari et al. (2018) não observaram alteração nos níveis de TNF- α em suínos pós-desmamados suplementados com xilanase e mananase. Segundo estes autores níveis reduzidos de TNF- α podem estar relacionados com a melhor permeabilidade intestinal. Ferrandis - Vila et al. (2018) verificaram que a adição de um blend de enzimas exógenas a base de xilanase, β -glucanase, mananase e galactosidase em dietas compostas por milho e farelo de soja, 40% DDGS e 30% de farelo trigo aumentou os níveis de IL-1 β , independentemente do tipo de fibra. Deste modo, as enzimas exógenas podem modular o sistema imunológico, por meio do favorecimento de uma resposta pró-inflamatória.

Alimentos com alto teor de fibras insolúveis como a casca de soja, trigo, DDGS, entre outros podem aumentar a expressão do gene mucina 2 (MUC2) e o número de células caliciformes, e isto pode refletir em uma redução na área de absorção (Saqui-Salces et al., 2017). A inclusão de fibra alimentar pode provocar aumento na expressão do gene de MUC2 em suínos, isso ocorre devido o papel protetor que está mucina desenvolve na formação da barreira intestinal (Smith et al., 2011). Além disso, alterações na microbiota intestinal também influenciam na expressão deste gene, pois, a fibra pode atuar como substrato para os microrganismos residentes do intestino (Smith et al., 2011).

Mehri et al. (2010) verificaram que a adição da β -mananase reduziu o número de células caliciformes no intestino delgado de frangos de corte, e com isso, pode se reduzir a produção de mucina e diminuir a perda endógena de proteínas. Ainda neste contexto, Bortoluzzi et al. (2019) relataram que a adição da β -mananase promove a degradação de substratos que podem ser utilizados como prebióticos pela microbiota intestinal.

Bortoluzzi et al. (2019) também verificaram que a adição da β -mananase em frangos de corte desafiados com *Eimeria* spp. teve efeitos positivos na microbiota intestinal, em que constataram um aumento de proliferação de Verrucomicrobia e redução de Bacteroidetes, o que é benéfico pois o aumento de Bacteroidetes está relacionado com uma melhor conversão alimentar. Além disso, a adição de β -mananase causou uma redução na frequência de *Faecalibacterium* e um aumento no gênero *Akkermansia* spp. Este aumento no gênero *Akkermansia* spp pode ser benéfico por melhorar a fermentação cecal e diminuir os compostos responsáveis pelos odores fecais em aves (Zhu et al., 2020). Além disso, o aumento neste gênero também está correlacionado de forma positiva com a relação vilos:cripta e expressão das proteínas de junção claudina 1 e zonula ocloide 2 (Zhou et al., 2021).

Portanto, a adição da β -mananase pode ser uma alternativa para diminuir a reposta imune induzida pelo alimento, neste caso os β -mananos presentes na soja. Além do que, possui potencial para melhorar a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal em suínos, bem como, liberar energia o que favorece a sustentabilidade pela diminuição da inclusão de ingredientes energéticos como o óleo de soja.

Arabinofuranosidade e xilanase

As xilanases e as arabinofuranosidades são enzimas relacionadas com o metabolismo de carboidratos (Zhang et al., 2018; Sun et al., 2020). Estas agem sobre o esqueleto da xilana, quebrando as ligações β - (1,4) internas e, com isso, atingem a parede celular (Zhang et al., 2016). Desta forma, liberam oligossacarídeos, dissacarídeos e açúcares monoméricos da pentose como a xilose e arabinose. A xilose pode ser absorvida no intestino delgado, com isso, pode contribuir como fonte de energia para os animais (Huntley & Patience, 2018).

Portanto, o uso da xilanase na dieta de não-ruminantes possui o intuito de acelerar o esvaziamento do trato gastrointestinal, pela redução da viscosidade, deste modo, ocorre menor fermentação intestinal e crescimento de microrganismos anaeróbios, o que reduz

a probabilidade de problemas intestinais (Nian et al., 2011). Desta forma, diminui a necessidade de recrutar células imunes para o intestino (Guo et al., 2014), o que em teoria economizaria energia. Já o uso da arabinoxilanase tem o objetivo de melhorar a digestibilidade da matéria orgânica, amido, energia e proteína bruta, bem como a digestibilidade ileal dos aminoácidos. A adição dessa enzima em uma dieta com baixo arabinoxilano pode liberar 55 kcal/kg e em dieta com alto arabinoxilano 86 kcal/kg respectivamente (Sun et al., 2020).

Wang, Bedford & Adeola (2019) observaram que a forma como a enzima xilanase é considerada na formulação das dietas de aves e suínos tem impacto na sua eficiência em disponibilizar energia e nutrientes, além disto, observaram um aumento na digestibilidade ileal da energia em suínos. Lan et al. (2017) forneceram xilanase na dieta de leitões pós-desmamados e, observaram que a inclusão de 0,01% da enzima aumentou a digestibilidade da matéria seca, energia bruta e nitrogênio. Além disto, houve uma diminuição na concentração de ureia com a adição da xilanase, o que pode estar relacionado com uma melhora no catabolismo de aminoácidos. Estes ainda verificaram uma redução nas emissões fecais de NH₃ e H₂S com a suplementação de xilanase, juntamente, com isso, constataram uma maior contagem fecal de *Lactobacillus* e diminuição no escore fecal. O que pode ser benéfico, entre outros fatores, por diminuir gases poluentes gerados na produção suinícola, e que possuem impacto ambiental.

Sun et al. (2020) ao adicionarem 200 mL/ton de um blend composto por xilanase e arabinofuranosidase para suínos em crescimento constataram uma melhora na digestibilidade do trato total da matéria orgânica, energia, proteína e fibra bruta e amido. Os autores relacionaram esta melhora da digestibilidade dos nutrientes com o aumento do acesso das enzimas endógenas proteolíticas, amilolíticas e lipolíticas aos nutrientes. Dong et al. (2018) adicionarem β-1,4-xilanase ácida, originária de *Aspergillus sulphureu* em dietas a base de trigo com nível reduzido de energia metabolizável e lisina para suínos em crescimento, e estes observaram que 1.000 ou 2.000 U/kg (quantidade de enzima que libera 1 μmol de açúcares redutores equivalentes, como xilose ou glicose) de xilanase melhoraram o ganho de peso médio diário, digestibilidade aparente total da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, cálcio e fósforo. Além disto, estes observaram uma redução no crescimento de bactérias patogênicas como a *Escherichia shigella* e aumento de bactérias benéficas como a *Prevotella*.

Krabbe et al. (2019) forneceram 50 g/ton de xilanase na dieta de suínos machos em crescimento, e verificaram melhora na digestibilidade da matéria seca, energia

digestível, proteína bruta, energia metabolizável, e energia metabolizável corrigida para o nitrogênio. Portanto, há efeitos benéficos em utilizar esta enzima exógena na nutrição de suínos. Zhang et al. (2018) forneceram diferentes xilanases na dieta de suínos em crescimento e, observaram que 75 mg/kg desta enzima melhorou a digestibilidade ileal dos polissacarídeos da dieta, além de diminuir bactérias da família *Streptococcus* spp. e *Clostridia* spp. Além disto, estes sugerem que a xilanase originária de *Bacillus subtilis* é mais eficaz em dietas que contém farelo de trigo, enquanto, a xilanase originária de *Fusarium verticillioides* é mais eficaz em dietas com milho. Liu et al. (2019) forneceram um complexo enzimático com amilase, protease, xilanase e mananase em combinação com a xilosidase e manosidase para leitões pós-desmamados e observaram que esta combinação reduziu as bactérias da família *Escherichia coli*, *Clostridiaceae* e *Veillonellaceae* que são bactérias patogênicas e inflamatórias e ou/ pro-inflamatórias na digesta ileal e fecal. Além disto, aumentaram as bactérias das famílias *Lactobacillus*, *Slenomonas* e *Megasphaera* que são consideradas benéficas.

Duarte et al. (2019) adicionaram 45.000 U/kg de xilanase na dieta de leitões pós-desmamados, e verificaram que esta enzima reduziu a viscosidade da digesta no jejuno em 13%, o malondialdeído da mucosa, a profundidade da cripta e a proliferação das células da cripta. Portanto, ao melhorar a viscosidade, pode se aumentar o acesso de enzimas aos substratos, além de diminuir os radicais livres intestinais, pois o malondialdeído é indicador de estresse oxidativo, por ser o produto final da oxidação dos lipídios. É importante ter aditivos que diminuam o estresse oxidativo, pois os radicais livres podem afetar algumas moléculas, como os lipídeos e as proteínas, o que pode estar relacionado com o aumento na profundidade de cripta e redução no comprimento das vilosidades intestinais, pela destruição celular e tecidual (Sido et al., 2017).

Clarke et al. (2018) observaram que os enterócitos podem regular de forma positiva a expressão gênica dos transportadores de nutrientes em resposta a maior quantidade de nutrientes. Porém, estes autores verificaram que a inclusão de 0,15 g/kg de β -glucanase e β -xilanase em dietas para suínos a base de cevada de baixa qualidade houve uma regulação negativa na expressão de CD36, este fato pode ser um mecanismo adaptativo para aumentar a capacidade absorptiva desses suínos, mas quando essas enzimas foram fornecidas em dietas com cevada de alta qualidade a expressão do CD36 foi regulada de forma positiva.

Em vista disso, a adição de xilanase e arabinofuranosidade associadas ou isoladas pode ser benéfico, devido ao aumento na digestibilidade da matéria seca, proteína e

energia. Além do que, pode diminuir gases poluentes gerados na produção suinícola, e que possuem impacto ambiental.

Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos e podem ser produzidos por bactérias e leveduras (Yirga, 2015). Estes são classificados como aditivos tecnológicos, na categoria de melhoradores ou estabilizadores da microbiota intestinal (European Food Safety Authority, 2007). Os probióticos podem melhorar a utilização da proteína na dieta, além de proporcionar maior desempenho animal o que pode estar relacionado com a melhora na digestibilidade da proteína e energia bruta, integridade intestinal, perfil microbiano (Tang et al., 2019), e sistema imune dos suínos (Wang et al., 2019b). No entanto, Barba-Vidal et al. (2018) relataram que existem controvérsias sobre os benefícios dos probióticos em substituição aos promotores de crescimento em leitões, isso faz com que muitos sistemas de produção ainda não utilizem este aditivo. Além disto, existem dúvidas sobre o uso de probióticos de forma terapêutica ou profilática. Aliás, uma classificação sobre os mecanismos de ação dos probióticos na alimentação animal é necessária, para que se possa utilizar os probióticos específicos conforme o objetivo da produção, como por exemplo, diminuir a disbiose intestinal, melhorar o crescimento animal pela quebra enzimática e da biossíntese de aminoácidos (Barba-Vidal et al., 2018), entre outros.

Cao et al. (2019) forneceram 100 mg/kg de probiótico a base de *Clostridium butyricum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* em leitões recém-desmamados e observaram alteração na morfologia intestinal, por melhorar a integridade das vilosidades do íleo. Além do que, o desmame causa alterações intestinais, induzidas pelas citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF α . Estes autores constataram que o probiótico diminuiu estas citocinas, o que demonstra um efeito anti-inflamatório e, com isso, menor gasto energético com o recrutamento de células do sistema imune. Outro mecanismo dos probióticos responsável pela atividade anti-inflamatória, seria pela regulação do receptor de reconhecimento de padrões de microrganismos 2 (TLR-2) em que atenua a expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-8, IL-1 α , e IL-6) e aumenta a IL-10 (Tomosada et al., 2013).

Tang et al. (2019) verificaram que ao usar probiótico em uma dieta com maior nível de proteína bruta, ocorreu um aumento no pH intestinal, o que dificulta o efeito positivo do aditivo no trato digestivo. Além disto, os probióticos podem afetar a população

microbiana de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que são bactérias benéficas, e podem influenciar a saúde dos leitões. Robles-Huaynate et al. (2013), verificaram melhorias de 10 e 15% no ganho de peso diário e na conversão alimentar de suínos suplementados com probiótico, e isto pode estar relacionado com a modulação da flora intestinal, diminuição do pH, o que favorece bactérias benéficas. Wang et al. (2019b) suplementaram *Lactobacillus casein* na dieta de leitões desmamados aos 14 dias, e observaram que este aditivo evita os danos causados no jejuno pela *E. coli* K88, e pode proteger a integridade do tecido da mucosa intestinal e reduzir a resposta inflamatória. Portanto, pode prevenir/reduzir a diarreia. Wang et al. (2019a) suplementaram *Clostridium butyricum* e *Enterococcus faecalis* para leitões pós-desmamados, e também observaram redução nas enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Além disto, o aditivo aumentou a altura das vilosidades, diminuiu a profundidade de cripta e, conseqüentemente, aumentou a relação vilo:cripta, o que é bom, pois pode se aumentar a área de contato da mucosa do intestino, e como resultado, a absorção dos nutrientes e, com isso, melhorar o desempenho animal.

Tang et al. (2019), verificaram que ao utilizar *Bacillus subtilis* na dieta de leitões como probiótico houve um aumento na concentração dos ácidos graxos voláteis de cadeia curta no íleo (acetato) e no colón (ácido propiônico e butírico), o que é benéfico, pois são fontes de energia. Além disto, o aditivo melhorou os fatores de crescimento, diferenciação e proliferação do epitélio intestinal, pela regulação positiva do GLP-2 (peptídeo 2 tipo glucagon) e a expressão do gene fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Wang et al. (2019b) também observaram que o uso de probiótico modulou os ácidos graxos voláteis de cadeia curta, como o isobutírico, butírico, propiônico e isovalérico no colón de leitões, além de ter aumentado os níveis de imunoglobulina IgM aos 14 dias de experimento, enquanto, as IgG, IgM e IgA aumentaram aos 28 dias, o que é positivo, pois estão relacionadas com o sistema imune, principalmente a IgA que participa da imunidade da mucosa intestinal. Min et al. (2019) suplementaram uma mistura de 0,01% de protease e probiótico para suínos na fase de crescimento, no entanto, não observaram melhora no desempenho animal, este efeito pode estar relacionado com os níveis ideais de nutrientes utilizados nas dietas, além do que, a baixa concentração da enzima e/ou probiótico também pode contribuir para este resultado. Desta forma, os efeitos benéficos dos probióticos em não-ruminantes podem estar relacionados com vários fatores, como: idade, estado sanitário, espécie animal, dieta, dose, entre outros.

Pu et al. (2020) relataram que a suplementação de 3,000 g/ton de ácidos orgânicos com 400 g/ton de probiótico aumentou a abundância de RNA mensageiro da MUC2 e de proteínas de junções na mucosa jejunal de leitões pós-desmamados, desta forma, estes aditivos podem melhorar os danos intestinais causados pelo desmame, além de diminuir a entrada de patógenos pelo aumento da expressão de proteínas de junções. Huang et al. (2019) ao fornecerem um probiótico a base de *Enterococcus faecium* (200 mg/kg) para aves desafiadas com *Escherichia coli*, constataram um aumento na expressão de MUC2 e da proteína de junção claudina-1, o que demonstra que os probióticos podem diminuir os impactos que a *Escherichia coli* provoca na mucosa intestinal.

Dell'anno et al. (2021) suplementaram *Lactobacillus plantarum* e *L. reuteri* (2×10^8 CFU/g) em leitões pós-desmamados e verificaram que houve uma diminuição na incidência de diarreia e no escore fecal. Além disso, a suplementação de *Lactobacillus reuteri* aumentou os níveis de globulina. As globulinas são proteínas imunológicas relacionadas à resposta aguda à invasão de patógenos e outras de natureza anti-anticorpo, como as imunoglobulinas, portanto, seu aumento pode significar uma estimulação do sistema imune com o intuito de combater patógenos. Moturi et al. (2021) observaram que a adição de *Lactobacillus salivarius* em dieta líquida para leitões lactantes aumentou a altura das vilosidades intestinais no duodeno, jejuno e íleo, no entanto, não observaram uma melhora no desempenho zootécnico destes animais. Porém, os autores relataram que essas melhorias podem ser refletidas no desempenho de creche.

Sun, Duarte & Kim (2021) forneceram um probiótico multiespécie (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Enterococcus faecium*) para leitões pós-desmamados desafiados com *Escherichia coli* F18⁺ e constataram que houve uma diminuição do TNF α e tendeu a reduzir o malondialdeído. Portanto, este resultado pode ser indicativo de uma redução do estresse causado pelo desmame e desafio bacteriano, e isto devido a uma menor resposta imune e produção de radicais livres que podem causar danos celulares e teciduais. Kwak et al. (2021) verificaram que a adição de um probiótico multiespécies em suínos em crescimento e terminação modulou positivamente a proteína de junção ZO-1, proteína está que forma a ponte entre a proteína transmembrana ocludina e a actina do citoesqueleto. Portanto, isso dificulta a entrada de patógenos e toxinas para dentro dos enterócitos. Ademais, os mesmos autores revelaram que a suplementação de probiótico multiespécies diminuiu o metabolismo da glicose e o anabolismo energético, além de aumentar o catabolismo de aminoácidos e a

biossíntese de lipídios. Deste modo, este pode alterar a principal fonte de energia que seria glicose para proteína em função de um déficit de produção de energia oriunda do metabolismo de carboidratos. Neste contexto, essa regulação negativa no metabolismo da glicose pode ser devido uma diminuição na população de *Ruminococaceae* e *Prevotella*, em que são responsáveis pela degradação do amido resistente e do metabolismo da glicose (Kwak et al., 2021).

Deste modo, o uso de probióticos na suinocultura possui algumas controvérsias sobre os seus possíveis benefícios, no qual estão relacionados com vários fatores como: idade, estado sanitário, espécie animal, dieta, dose e microrganismos contidos no probiótico. No entanto, os probióticos podem melhorar a utilização da proteína na dieta, além de proporcionar maior desempenho animal o que pode estar relacionado com a melhora na digestibilidade da proteína e energia bruta, integridade intestinal, perfil microbiano e sistema imune dos suínos. Além disso, essa diminuição da diarreia e a melhora na saúde intestinal é algo importante quando pensamos em bem-estar animal.

PROBLEMA DE PESQUISA

Portanto, conforme a revisão bibliográfica acima demonstra é importante minimizar os efeitos gastrointestinais causados pelo desmame e pela mudança de uma dieta líquida para sólida a base de ingredientes vegetais. Apesar dos aditivos serem ferramentas conhecidas neste contexto, a literatura ainda é escassa em pesquisas que testem seus efeitos em contextos estratégicos, como comparando os efeitos dos aditivos em dietas simples e complexas, a adição da β -mananase isolada ou associada com outras enzimas (xilânase e arabinofuranosidase), juntamente com o efeito da adição de probióticos em matrizes gestantes e lactantes e seus impactos em sua progênie.

As dietas de animais não-ruminantes são geralmente formuladas a base de milho e farelo de soja. Apesar de sua qualidade nutricional, estes ingredientes vegetais contêm vários componentes resistentes a digestão, como a fibra encontrada na parede celular dos ingredientes vegetais (Liu et al., 2019), como farelo de soja, milho, trigo, cevada, DDGS, entre outros. Os suínos e as aves não produzem enzimas suficientes para quebrar certas ligações de alguns componentes presentes nos ingredientes vegetais.

Além disso, o período de pós-desmame é a fase mais crítica na vida dos leitões. Nesse período há a ocorrência de distúrbios digestivos, o que pode retardar o crescimento

e provocar alta taxa de morbidade a agentes infecciosos e de mortalidade. Neste período ocorrem alterações na morfologia e fisiologia do intestino dos leitões, em função da mudança de uma dieta líquida para sólida a base de vegetais, que é menos palatável e digestível por conter fatores antinutricionais, o que altera a microbiota intestinal e diminui a imunidade, além de afetar o desempenho dos leitões (Duarte et al., 2019). Ainda neste período, o leitão possui uma baixa secreção enzimática endógena (lipase, protease, amilase, entre outras) e uma secreção de ácido clorídrico inadequada, por seus órgãos não estarem completamente desenvolvidos (Leonard et al., 2011), o que também afeta a digestão e absorção dos nutrientes.

HIPÓTESES

Experimento I e II:

- Dietas simples diferem das dietas com fórmulas complexas quanto ao seu efeito na saúde intestinal, na digestibilidade dos nutrientes e no metabolismo energético de suínos na fase de creche.
- A β -mananase possui efeitos complementares à xilanase e arabinofuranosidase em dietas simples e/ou complexas, melhorando a saúde intestinal, a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo energético de suínos na fase de creche.
- A β -mananase possui efeitos complementares à xilanase e arabinofuranosidase, melhorando a saúde intestinal, a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo energético de suínos em crescimento.

Experimento III:

- A suplementação de probiótico nas dietas das mães (gestação/maternidade) e/ou dos leitões na fase creche melhora a saúde intestinal, a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo energético de suínos na fase de creche.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar se a suplementação de enzimas exógenas e probiótico na dieta de leitões melhora a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal. Assim como, avaliar se a suplementação de enzimas exógenas na dieta de suínos em crescimento melhora a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal.

Objetivos específicos experimento I e II:

- Avaliar se dietas simples ou complexas contendo β -mananase, combinado ou não com xilanase e arabinofuranosidase, podem afetar o metabolismo dos nutrientes e a saúde intestinal de leitões na fase de creche.
- Avaliar se dietas contendo β -mananase, combinado ou não com xilanase e arabinofuranosidase, podem afetar o metabolismo dos nutrientes e a saúde intestinal de suínos em crescimento.

Objetivos específicos experimento III:

- Avaliar se a suplementação com um probiótico multi espécie melhora o metabolismo dos nutrientes e a saúde intestinal de leitões na fase de creche.
- Avaliar se a suplementação com um probiótico multi espécie melhora o metabolismo dos nutrientes e a saúde intestinal de leitões na fase de creche cujas mães receberam probiótico nas fases de gestação e lactação.

CAPITULO IV

Artigo apresentado conforme as normas do periódico *Frontiers Veterinary Science*.

Probiotic supplementation to gestating-lactating sows or nursery pigs: Which is the best opportunity to improve nutrient digestibility and intestinal health of weaned pigs?

Keywords: Digestibility, Fetal programming, Intestinal health, Nursery, Probiotics, Serum biochemistry.

Abstract

The goal of this study was to assess whether feeding a multi-species probiotic to gestating and lactating sows and/or their offspring in the nursery phase could improve nutrient digestibility, energy metabolism, and gut health of weaned pigs. A total of 32 newly weaned pigs were randomly split into a 2×2 factorial arrangement, considering maternal probiotic supplementation (with or without) during gestation-lactation and probiotic supplementation in the nursery period (with or without). After weaning, the experimental diets were provided for 21 days. Total fecal and urine samples were collected on days 15 to 20. Blood samples were collected from all pigs on days 3 and 22 of the experiment to assess serum biochemistry and intestinal permeability. All pigs were euthanized on day 22 for intestinal tissue collection. Pigs from sows fed probiotics had greater ($P < 0.05$) total tract digestibility of dry matter (+1%), gross energy (+1.3%), and a greater ($P < 0.05$) metabolizable energy coefficient (+1.3%), which resulted in a 46 kcal/kg increase ($P < 0.05$) in the metabolizable energy content of the diet. Nitrogen intake ($P = 0.035$), uptake ($P = 0.007$), and retention ($P = 0.012$) increased in these pigs. Fecal moisture was reduced in pigs born from mothers fed the probiotic and pigs that received probiotic supplementation only in the nursery ($P < 0.05$). Probiotic supplementation of sows reduced intestinal permeability in their offspring by 16% ($P < 0.05$), whereas supplementation of the diets in the nursery only tended to improve this response ($P < 0.10$). The villus:crypt ratio of pigs from sows fed the probiotic was greater compared to the control ($P < 0.05$), while serum levels of alanine aminotransferase were lower ($P < 0.05$) compared to the control. Pigs born to sows fed the probiotic had increased nutrient digestibility and improved gut health. Therefore, it is concluded that supplementing sow diets with probiotics rather than just providing diets in the nursery phase is more advantageous by increasing the digestibility of nutrients and gut health.

1 Introduction

Weaning is a critical stage in a pig's life because it is characterized by stressful factors, such as separation from the sow and litter, a transition from liquid to solid diet, and hierarchy formation, among others. Furthermore, the gastrointestinal system of pigs is still developing, with low protein accretion and feed intake, which activates inflammatory cytokines, suppresses feed intake, and increases mortality and morbidity rates during the nursery phase (1). Thus, it is essential to consider strategies to optimize piglet physiological preparation in order to improve post-weaning pig performance and health status, as the swine industry reduces the use of feed antibiotics.

One of the strategies to mitigate the negative effects of weaning is the use of probiotics, which are defined as live non-pathogenic microorganisms that have a positive effect on the host (2). Probiotics can improve intestinal morphology and barrier function (3), increase enzyme activity (4), increase the production of short-chain volatile fatty acids (5), and reduce diarrhea, all of which can lead to an improvement in growth performance (5).

Although several beneficial effects of probiotics have already been reported in the post-weaning phase, it is crucial to remember that pig performance in the nursery is closely related to what happens in the previous suckling phase. The gastrointestinal tract of neonatal piglets is colonized by bacteria acquired from the sow during farrowing and lactation (6). Therefore, supplementing sow diets with probiotics during the gestation and lactation phases could be a

strategy to modulate piglet microbiota and improve piglet performance in subsequent phases. Thus, probiotic supplementation in sow diets alters gut microbiota, which can improve piglet immunity and gut health (7).

In addition to direct effects on the development of piglet microbiota, the use of probiotics in sow diets can be examined in the context of fetal programming, which refers to the set of influences established by the mother's uterine conditions on the growth and development of fetuses. Thus, as previously stated, probiotic supplementation in sows can reduce immune challenges during this phase and pass this on to the progeny. Furthermore, the conditions that the mother experiences throughout her pregnancy, particularly in the final third, have an impact on the growth and development of her offspring throughout their lives, such as gut morphology (8). Despite the importance of the matters described above, studies examining the effects of probiotic supplementation in the diets of gestation-lactation females on the metabolism of their offspring in subsequent phases are rare. Therefore, the goal of the present research was to evaluate whether supplementation of a multi-species probiotic in gestating and lactating sow diets and/or diets of pigs in the nursery phase can improve nutrient digestibility and energy metabolism, as well as intestinal health in pigs in the nursery phase.

2 Material and Methods

2.1 Treatments

A factorial 2×2 design was used, considering probiotic supplementation during gestation-lactation (control or supplemented) and during the nursery period (control or supplemented). The tested feed additive (Protexin™ Concentrate, Elanco Animal Health, São Paulo, Brazil) contained *Lactobacillus acidophilus* (2.06×10^8 CFU/g), *Lactobacillus bulgaricus* (2.06×10^8 CFU/g), *Lactobacillus plantarum* (1.26×10^8 CFU/g), *Lactobacillus rhamnosus* (2.06×10^8 CFU/g), *Bifidobacterium bifidum* (2.0×10^8 CFU/g), *Enterococcus faecium* (6.46×10^8 CFU/g), and *Streptococcus thermophilus* (4.10×10^8 CFU/g). The same additive was used for gestating-lactating sows (50 g probiotic additive per ton of feed) and during the nursery phase (200 g probiotic additive per ton of feed).

2.2 Gestation-lactation phase

The gestation-lactation of the experiment was developed on a commercial farm located in Maratá (Rio Grande do Sul, Southern Region, Brazil). Two hundred sows with parity orders ranging from 2 to 9 do were assigned (randomly within each parity order) to the treatments. Supplementation started on the first day of pregnancy and persisted until the end of lactation. To prevent cross-contamination among sows of different treatments, probiotics were provided using gelatin capsules directly into the mouth of each sow every day according to the treatment. The daily individual supplementation was calculated considering an average feed intake for the period based on historical data from the barn (i.e., 1.8 kg/day during gestation and 7 kg/day during lactation) disregarding among-animal variation.

Feeding programs during gestation considered the body condition of the sow to provide from 1.5 to 1.9 kg once a day for each animal. Lactating sows were fed *ad libitum* five times a day. Creep feed was not provided to the piglets. Water was supplied from individual nipple drinkers to all piglets. Piglets were weaned at 21 days of age and after that, 32 males were chosen to be transferred to the nursery trial. In the first moment, one hundred sows farrowed these we chose 16 sows the parity order 4 and two piglets per sow, one for the control group in the nursery phase and the other for the supplemented group in the nursery phase. The sows and/or piglets treated with antibiotic therapy during gestation and/or lactation and the piglets with diarrhea in the maternity were not considered for the trial

2.3 Nursery phase

The experiment was carried out in the experimental pig house at the Federal University of Rio Grande of Sul, located in Porto Alegre, Rio Grande of Sul, Brazil. The 32 male pigs (6.20 kg \pm 410 g; Landrace \times Large white) were individually housed in metabolism crates (1.12 meters long \times 0.60 meters wide \times 1.92 meters high) and split into one of the four treatments immediately after weaning (21 days). The trial lasted for 21 days, corresponding to 15 days of adaptation and six days of sample collection. The experimental diets provided during the nursery phase were formulated for the minimum cost solution to meet or exceed the nutritional requirements recommended by the Brazilian Tables for Poultry and Swine (11, Table 1). The same reference was used for ingredient composition, except for soybean meal and corn, in which the total energy and crude protein content were analyzed before formulation and were later used to estimate the metabolizable energy and digestible amino acid levels (9).

Water and feed were provided *ad libitum* throughout the adaptation period (intake adaptation period: 800 g; coefficient of variation: 12.5%). During the collection period, the pigs received feed according to their metabolic body weight (2.6 \times the estimated maintenance requirement) (10). Temperature, humidity, and air circulation were controlled to ensure comfortable environmental conditions for the pigs.

2.4 Digestibility and metabolism

Metabolism crates are equipped with trays for the total collection of feces and a system for total urine collection. Feces and urine samples were collected twice a day (8:00 a.m. and 5:30 p.m.). The beginning and end of the collection periods were defined using an indigestible marker (0.5% ferric oxide) mixed in the diets. All samples were stored and kept in a freezer in plastic containers identified by the experimental unit.

At the end of the experimental period, the fecal and urine samples were thawed at room temperature, weighed, and homogenized. Samples from each pig were collected and lyophilized. Then, the samples of feed, feces, and urine were analyzed for dry matter (oven at 105 °C), nitrogen (micro Kjeldahl method), and gross energy (calorimetric pump) following the procedures described by AOAC (11). The coefficients of digestibility (dry matter, protein, and energy) and metabolizability (protein and energy), as well as the apparent metabolizable energy values, were calculated from the data obtained according to the equation provided by Sakomura and Rostagno (12). The manure production was defined by the total volume of all urine and feces collected during the digestibility period.

2.5 Rate of feed passage and fecal moisture content

The time spent on the consumption of feed with ferric oxide and the appearance of marked feces were registered at the beginning and end of the trial. The feces collected each day were weighed and homogenized. A sample corresponding to 10% of the total weight was retained to determine the dry matter content (in a drying oven at 105 °C for 8 h).

2.6 Serum biochemistry

On days 3 and 22, blood sample was collected from all pigs through vena cava puncture in a vacutainer without anticoagulant. The samples were held in the thermal box with ice for 40 minutes before centrifugation. Samples were centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes and the serum was separated, collected, and frozen (-20 °C) for later biochemical analysis. The concentrations of total protein, albumin, cholesterol, glucose, and alanine aminotransferase were determined using commercial analytical kits (Wiener Lab, São Paulo, Brazil) and a semi-automated biochemical

analyzer (Bioplus 2000®). The globulin concentration was calculated as the difference between the total protein and albumin levels.

2.7 Intestinal permeability

Intestinal permeability was assessed on day 22 post-weaning. Six pigs with average weight and without diarrhea per treatment were selected to receive oral administration of a non-absorbable, high molecular weight fluorescent molecule at a dosage of 1 mL per pig (FITC-Dextran, 3000–4000 kDa), and blood samples were collected six hours after FITC-dextran administration. Blood was collected in vacutainer without anticoagulant held in the thermal box with ice for 40 minutes and later centrifuged to separate the serum. The fluorescence levels of diluted serum (1:1 in PBS) were measured at an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 528 nm (Speedscan, Analytik Jena, Jena, Germany), and the concentration per ml of FITC-dextran serum (3000–4000 kDa) was calculated based on a standard curve, according to the methodology adapted from Vicuña et. al (13).

2.8 Organ weight

At the end of the experiment, all pigs were weighed and euthanized after insensitization by electronarcosis, following animal welfare and euthanasia standards described in the CONCEA euthanasia practice guidelines (14). The heart, liver, intestine, lung, kidney, and spleen were weighed and expressed in relation to the body weight.

2.9 Intestinal morphometry, resistance to rupture, and tight junctions

Samples from the duodenum, jejunum and ileum (4 cm distal to the stomach for the duodenum, mid jejunum, and 4 cm distal to the jejunum for the ileum) were collected and preserved in flasks with 10% formaldehyde solution. Histological slides were made and stained with hematoxylin and eosin. Histological images of the slides were captured using a Digital Microcamera (Electronic Eyepiece Camera Video) coupled with a biological trinocular microscope (model TNB-41T-PL, OPTON). In the intestinal fragments, villus length and diameter, and crypt depth were determined according to the methodology described by Caruso and Demonte (15). More details of the methodology used were presented by Galli et al. (16).

Segments of the jejunum and colon (four samples per pig, approximately 5 cm in length per segment) were collected randomly immediately after slaughter. These segments were used to assess intestinal resistance to rupture using a dynamometer (ITFG6005; Instrutemp, São Paulo, Brazil).

Approximately 100 mg of tissue (jejunum) to evaluate tight junctions zonula occludens-1 and occludin was homogenized in TissueLyser (Qiagen), and the total RNA was purified by extraction with TRI[®] Reagent (Sigma) – chloroform. The extracts were treated with turboDNaseI (Ambion), and RNA was quantified using NanoDrop (Thermo Scientific). After RNA extraction, cDNAs was synthesized using High-capacity cDNA Synthesis cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems) using 1 µg of RNA per reaction. The qPCR reaction was performed by diluting the cDNAs in sterile MilliQ water (5x), and the targets were quantified using the Bright-Green PCR Master Mix (Biotium) in a QuantStudio 3 thermocycler (Thermo). The cycling conditions were 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of 95 °C for 15 s, and 60 °C for 1 min. Primer Express 3.0 program was used to design the oligonucleotide primers. GAPDH and ACTB genes were used as internal controls.

In this type of analysis, each combination of target and sample generates a threshold value, Ct (threshold cycle), which is a relative measure of the concentration of target-specific messenger RNA (mRNA) in the sample. This value was normalized to the expression of reference genes. GAPDH was used to generate the DCt value (target Ct/Ct GAPDH). In addition to this

normalization, the data were normalized to the mean DCt value of the control group, generating the DDcT value (DCt/mean DCt Control).

2.10 Statistical analysis

All data were submitted to the Ryan-Joiner test to assess their normal distribution (Minitab, version 19). Analyses of variance were performed using PROC MIXED (SAS, version 9.3). The fixed effects of probiotic supplementation on sows (gestation-lactation) or pigs (nursery) and their interactions were considered. Serum biochemistry and fecal moisture content were analyzed as repeated measures over time. Means are presented in this report by treatments (main effect of probiotic supplementation on sows or pigs), and the interactions were discriminated only when significant ($P < 0.10$). Eventual differences were assessed with the Tukey multiple comparison test at 5 and 10% significance levels.

3 Results

3.1 Feed digestibility and nutrients metabolism

The interaction between the probiotic supplementation offered to sows and pigs was tested for all variables. However, no significant interactions were observed in this study.

The pigs were fed an allotment of the same amount provided per treatment during the collection period. The intake, however, was different, which had consequences on nutrient intake due to higher consumption (Table 2). Probiotic supplementation in the nursery did not affect the pigs' feed intake during the experimental period. However, an increase in feed intake was observed in pigs coming from sows who fed the probiotic during gestation-lactation compared to the control ($P = 0.035$).

Pigs born to sows who fed the probiotic during gestation-lactation had greater apparent total tract digestibility (ATTD) of dry matter ($P = 0.046$) and gross energy ($P = 0.018$, Table 3), as well as higher energy metabolizability ($P = 0.023$, Table 3). However, there was no difference in the probiotic supplementation during the nursery phase for the same variables. There was no difference in the supplementation of probiotics in gestation-lactation and the nursery period over protein digestibility and metabolizability coefficients.

Pigs from sows who were fed probiotics also had higher nitrogen intake ($P = 0.035$), absorption ($P = 0.007$), and retention ($P = 0.012$, Table 4). This group also consumed more energy ($P = 0.035$), digestible energy ($P = 0.017$), and metabolizable energy ($P = 0.023$, Table 5). However, there was no difference in probiotic supplementation during the nursery period in terms of nitrogen and energy balance. Furthermore, no differences in feces, urine, or manure production were observed between the treatments (Table 6).

3.2 Feed passage rate and fecal moisture content

Pigs from sows who were fed probiotics during the gestation-lactation phases had a faster digesta passage rate ($P = 0.028$, Table 6), but supplementation in the nursery had no difference.

Both probiotic supplementation periods reduced ($P < 0.05$) the fecal moisture of nursery pigs (Figure 1). Fecal moisture was lower in pigs administered probiotics during the nursery phase compared to the control on the third day of the experiment ($P < 0.10$, day 3; $P < 0.05$, days 4, 5, 6, 7, and 8). The same effect was observed in pigs from mothers who received the probiotic starting on the fifth day of evaluation ($P = 0.106$ on the sixth day, $P < 0.05$ on days 5, 7, and 8). There was no interaction between supplementation periods.

3.3 Intestinal permeability, morphometry, resistance to rupture, tight junctions, and organ weight

The use of probiotics in gestation-lactation sows reduced intestinal permeability (-16%; $P=0.034$, Table 7) and increased jejunum breaking strength (+21%, $P=0.006$, Table 7) in nursery pigs. No differences in zonula occludens-1 and occludin levels were observed between the treatments. Pigs fed the probiotic in the nursery phase showed a trend of reduced intestinal permeability (-10%; $P=0.094$) and intestinal breaking resistance (+12%, $P=0.085$).

There were minor differences in villus height, thickness, and area, as well as crypt depth (Table 7), where the villus: crypt ratio was greater ($P=0.036$) in the treatment whose gestation-lactation sows fed probiotics. For the dietary treatments, there were no differences in the relative weights of the organs (Table 8). No interactions were observed between dietary probiotic supplementation in gestation-lactation and nursery periods for the previous variables.

3.5 Serum biochemistry

Pigs born to sows who were fed the probiotic had greater cholesterol levels than the control ($P=0.047$, Table 9). The same group showed reduced ALT enzyme levels compared with the control group ($P=0.043$).

On day 3 of the nursery period, the levels of albumin, globulin, cholesterol, and ALT were higher ($P<0.05$, Table 9) than on day 22 of the nursery period. Glucose levels tended to increase between days 3 and 22 ($P=0.010$). For cholesterol ($P=0.023$) and glucose ($P=0.016$) levels, there was an interaction between maternal supplementation and time of evaluation. In both cases, cholesterol (117.32 vs 153.31 mg/dL) and glucose (185.76 vs 222.87 mg/dL) were greater ($P<0.001$; $P=0.010$) on day 3 in pigs from sows supplemented during gestation-lactation than pigs from control sows and not different between pig groups on day 22.

4 Discussion

Probiotics are live microorganisms that help maintain digestive system health by improving gut microbiota (17). These effects may promote digestibility and improve performance. In this study, probiotic supplementation was found to enhance pig digestibility and gut health more than just supplementing pigs during the nursery phase.

Despite the importance of the maternal effect on the formation of the piglets' gut microbiota and its relevance to piglet gut health, to our knowledge, no other studies with a similar design have been developed. Studies involving more than one production phase (e.g., gestation, maternity, and nursery) are difficult to conduct but necessary because management effects can be observed throughout these phases.

Studies evaluating the effects of probiotic supplementation at the nursery stage are more frequent in the literature, and several studies have shown positive results of probiotic supplementation. Lan et al. (18) found that the addition of a probiotic based on *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, and *Clostridium butyricum* to weaned pigs increased their digestibility of dry matter, protein, and crude energy. Furthermore, the use of probiotics can reduce pathogenic bacteria such as *E. coli* while increasing the number of *Lactobacillus* in feces, thereby reducing the competition for nutrients between pathogenic and beneficial microbiota (18). Yan et al. (19) found that *Lactobacillus plantarum* supplementation in weaned pigs increased the apparent digestibility of the total tract, nitrogen, and gross energy. Lan et al. (20) also noted that *L. acidophilus* supplementation increased the digestibility of dry matter, protein, and crude energy in nursery pigs.

The reported beneficial effects can be attributed to various factors, many of which are unique to the microorganisms found in the probiotic used in this study. *L. acidophilus*, for example, is a microorganism that produces lactic acid, which reduces pH and inhibits the development of pathogenic microorganisms. Furthermore, the authors emphasized that *L. acidophilus* supplementation reduced *E. coli* counts while increasing *Lactobacillus* counts in feces, which

justifies the improvement in digestibility parameters. Wang and Kim (21) found similar effects on *Lactobacillus* and *E. coli* counts, but with *L. plantarum* supplementation. In addition, *Lactobacillus* can produce digestive enzymes such as protease and phytase (22), which may explain the improved digestibility in the group that received probiotics. *Lactobacillus rhamnosus* can secrete antimicrobial compounds such as organic acids, hydrogen peroxide, or bacteriocins, which aid in pathogen inhibition and thus modulate the gut microbiota (23). The higher percentage of N absorbed and retained in pigs born to sows that received probiotics indicates a greater efficiency in utilizing the ingested and retained protein, which can be allocated for maintenance, muscle growth, and intestinal cell synthesis (24).

Gut morphology is associated with the integrity and function of the intestinal mucosal barrier (25). Thus, the morphology of the intestinal mucosa is related to nutrient digestion and absorption, and thus, to animal growth (26). The villi:crypt ratio was higher in pigs from sows that received the probiotic, which helps to explain the increased digestibility in this group due to the increased surface area for nutrient absorption. Cai et al. (27) discovered that supplementing weaned pigs with *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* increased villus height in the duodenum and jejunum. In addition, pigs in the probiotic group had a higher breaking force in the jejunum regardless of the supplementation period. This is beneficial, because it indicates that the intestine is more resistant. In the case of infections, for example, the intestines sag and are easily torn due to the inflammatory process caused by pathogens, toxins, and other factors.

Gut permeability is another indicator of gut epithelial barrier function is gut permeability (26). As a result, this barrier is controlled by a system composed of epithelial junction complexes known as junction proteins (26). Hence, for pigs from sows who were fed probiotics the lower intestinal permeability was 16.29%, and for the pigs who were fed probiotics in the nursery phase was 10.94% compared to the control groups is advantageous because it reflects a lower passage of toxins and pathogens into the intestinal lumen. This also explains why nutrient digestibility has increased. Lan and Kim (28) observed that supplementing sows with *Enterococcus faecium* reduced the diarrhea score of post-weaning pigs. Furthermore, the authors reported that supplementing sows with *E. faecium* increased the counts of *Lactobacillus* and *Enterococci* in pigs' feces while decreasing the counts of *E. coli*. Kang et al. (29) reported that *Lactobacillus rhamnosus* supplementation reduced fecal scores and attenuated pro-inflammatory cytokine responses in post-weaning pigs. The decrease in feces moisture in the probiotic groups could be linked to fewer pathogenic bacteria entering the intestinal lumen.

Animal nutrition and metabolism, in addition to the functions of various tissues and organs, are partially reflected in serum biochemical responses (30). Alanine aminotransferase is a liver enzyme that improves the levels that indicate hepatocyte damage. For this reason, the decrease in the group of pigs born to mothers who received the probiotic is favorable, as it means less liver overload and even a protective effect. The increase in cholesterol levels in pigs born to probiotic-supplemented sows was unexpected. However, it may be related to the activity of the enzyme 3-hydroxy-3-methyl glutaryl-CoA reductase, a key enzyme in cholesterol synthesis, or it may be due to the modulation of the intestinal microbiota (31-32). These are two possible explanations.

This study demonstrates the significance of strategies to improve piglet physiological preparedness during the nursery phase. Furthermore, it yields results that suggest the context of fetal programming, in which probiotic supplementation of sows during the gestational and lactational phases proved to be a more advantageous strategy than only supplementing the piglets during the nursery phase. Furthermore, it is difficult to conduct studies involving more than one production phase. However, this work demonstrates the importance of carrying out work in this context because future problems can be avoided, and thus, operational costs can be reduced.

5 Conclusion

Probiotic supplementation for gestation-lactation sows' benefits pigs in the nursery phase more than simply supplementing pigs at this stage. Pigs born to probiotic-fed sows had higher energy digestibility coefficients and absorbed nitrogen as well as improved intestinal health by lowering intestinal permeability and moisture, increasing villi: crypt ratio, and resistance to small intestinal breakdown. As a matter of fact, probiotics reduced the ALT enzyme, which indicates liver damage. However, probiotic supplementation in the nursery alone improved intestinal health due to the decrease in intestinal permeability and the increase in resistance of the jejunum, as well as decreasing fecal moisture.

6 Ethical committee

The experimental protocol was approved by the institutional ethics committee on the use of animals (CEUA/UFRGS – Protocol 39604).

7 Acknowledgments

The authors thank the *Coordination of Improvement of Higher Education Personnel* (CAPES, Brazil) and the *Brazilian Council for Scientific and Technological Development* (CNPq, Brazil) for the scholarships.

References

1. Wensley MR, Tokach MD, Woodworth JC, Goodband RD, Gebhardt JT, DeRouchey JM, McKilligan D. Maintaining continuity of nutrient intake after weaning. I. Review of pre-weaning strategies. *Transl Anim Sci* (2021) 5(1). doi:10.1093/tas/txab021.
2. Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley E, Sanders ME, Shamir R, Swann JR, Szajewska H, Vinderola G. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* (2021) 18 649-667. doi: 10.1038/s41575-021-00440-6.
3. Wang M, Wu H, Lu L, Jiang L, Yu Q. *Lactobacillus reuteri* Promotes Intestinal Development and Regulates Mucosal Immune Function in Newborn Piglets. *Front Vet Sci* (2020) 7. doi:10.3389/fvets.2020.00042.
4. Deng B, Wu J, Li X, Zhang C, Men X, Xu Z. Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance, serum parameters, digestive enzyme, intestinal morphology, and colonic microbiota in piglets. *AMB Expr* (2020) 10:212. doi:10.1186/s13568-020-01150-z.
5. Tian Z, Wang X, Duan Y, Zhao Y, Zhang W, Azad MdAK, Wang Z, Blachier F, Kong X. Dietary Supplementation With *Bacillus subtilis* Promotes Growth and Gut Health of Weaned Piglets. *Front Vet Sci* (2021). doi: 10.3389/fvets.2020.600772.
6. Monteiro MS, Poor AP, Muro BBD, Carnevale RF, Leal DF, Garbossa CAP, Moreno AM, Almond G. The sow microbiome: Current and future perspectives to maximize the productivity in swine herds. *J Swine Health Prod* (2022) 30(4):238-250. doi: 10.54846/jshap/1277.
7. Wang K, Hu C, Tang W, Azad Md AK, Zhu Q, He Q, Kong X. The Enhancement of Intestinal Immunity in Offspring Piglets by Maternal Probiotic or Synbiotic Supplementation Is Associated With the Alteration of Gut Microbiota. *Front Nutr* (2021) 8:686053. doi: 10.3389/fnut.2021.686053.
8. Ji Y, Wu Z, Dai Z, Wang X, Li J, Wang B, Wu G. Fetal and neonatal programming of postnatal growth and feed efficiency in swine. *J Anim Sci Biotechnol* (2017) 8:42. doi:10.1186/s40104-017-0173-5.

9. Rostagno HS, Albino LFT, Hannas, MI, Donzele JL, Sakomura NK, Perazzo FG, Brito CO. Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. Departamento de Zootecnia-UFV, Viçosa, MG, BR, p.488, (2017).
10. Noblet J, Shi XS. Comparative digestibility of energy and nutrients in growing pigs fed ad libitum and adult sows fed at maintenance. *Livest Prod Sci* (1993) 34:137-152. doi: 10.1016/0301-6226(93)90042-G.
11. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC, (1990).
12. Sakomura NK, Rostagno, HS. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, p.262, 2016.
13. Vicuna EA, Kuttappan VA, Tellez G, Hernandez-Velasco X, Seeber-Galarza R, Latorre JD, Faulkner OB, Wolfenden AD, Hargis BM, Bielke LR. Dose titration of FITC-D for optimal measurement of enteric inflammation in broiler chicks. *Poult Sci* (2015) 94(6): 1353-1359. doi: 10.3382/ps/pev111.
14. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretrizes para a prática de eutanásia do CONCEA. Brasília: MCTI, 2013.
15. Caruso M, Demonte A. Histomorfometria do intestino delgado de ratos submetidos a diferentes fontes protéicas. *Alim. Nutr. Araraquara* (2005) 16 (2): 131-136.
16. Galli GM, Gerbet RR, Griss LG, Fortuoso BF, Petrolli TG, Boiago MM, Souza, CF, Baldissera MD, Mesadri J, Wagner R, Da Rosa G, Mendes RE, Gris A, Da Silva AS. Combination of herbal components (curcumin, carvacrol, thymol, cinnamaldehyde) in broiler chicken feed: Impacts on response parameters, performance, fatty acid profiles, meat quality and control of coccidia and bacteria. *Microb Pathog* (2020) 139:103916. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103916.
17. Jha R, Das R, Oak S, Mishra P. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. *Animals* (2020) 10(10):1863. doi:10.3390/ani10101863.
18. Lan RX, Lee SI, Kim IH. Effects of multistrain probiotics on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, fecal microbial shedding, fecal score and noxious gas emission in weaning pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr* (2016) 100(6):1130-1138. doi: 10.1111/jpn.12501.
19. Yang Y, Park JH, Kim IH. Effects of probiotics containing (*Lactobacillus plantarum*) and chlortetracycline on growth performance, nutrient digestibility, fecal microflora, diarrhea score, and fecal gas emission in weanling pigs. *Livest Sci* (2020) 241:104186. doi: 10.1016/j.livsci.2020.104186.4
20. Lan R, Koon J. Kim, I. Effects of *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performance, nutrient digestibility, fecal microbial and noxious gas emission in weaning pigs. *J Sci Food Agric* (2016b) 97(4):1310-1315. doi:10.1002/jsfa.7866.
21. Wang H, Kim IH. Evaluation of Dietary Probiotic (*Lactobacillus plantarum* BG0001) Supplementation on the Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Profile, Fecal Gas Emission, and Fecal Microbiota in Weaning Pigs. *Animals (Basel)* (2021) 29;11(8):2232. doi: 10.3390/ani11082232.
22. Dowarah R, Verma AK, Agarwal N, Singh P, Singh BR. Selection and characterization of probiotic lactic acid bacteria and its impact on growth, nutrient digestibility, health and antioxidant status in weaned piglets. *PLoS One* (2018) 13(3): e0192978. doi: 10.1371/journal.pone.0192978.
23. Chen F, Gao SS, Zhu LQ, Qin SY, Qiu HL. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* CF supplementation on growth, meat quality, and microenvironment in specific pathogen-free chickens. *Poult Sci* (2018) 97(1): 118-123. doi: 10.3382/ps/pex261.
24. Hlongwana FY, Thabethe F, Thomas RS, Chimonyo M. Nitrogen balance in slow-growing Windsnyer pigs fed on incremental levels of amarula (*Sclerocarya birrea* subsp. *caffra*) nut cake. *Trop Anim Health Prod* (2021) 53:364. doi: 10.1007/s11250-021-02808-x.

25. Shang Q, Liu H, Wu D, Mahfuz S, Piao X. Source of fiber influences growth, immune responses, gut barrier function and microbiota in weaned piglets fed antibiotic-free diets. *Anim Nutr* (2021) 7 (2):315-325. doi: 10.1016/j.aninu.2020.12.008.
26. Tang W, Qian Y, Yu B, Zhang T, Gao J, He J, Huang Z, Zheng P, Mao X, Luo J, Yu J, Chen D. Effects of *Bacillus subtilis* DSM32315 supplementation and dietary crude protein level on performance, gut barrier function and microbiota profile in weaned piglets. *J Anim Sci* (2019) 29:97(5):2125-2138. doi: 10.1093/jas/skz090.
27. Cai L, Indrakumar S, Kiarie E, Kim IH. Effects of a multi-strain species-based direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and gut health in nursery pigs fed corn-soybean meal-based diets. *Anim Sci J* (2015) 93(9). doi:10.2527/jas.2015-9056.
28. Lan R, Kim I. (2019). *Enterococcus faecium* supplementation in sows during gestation and lactation improves the performance of suckling piglets. *Vet Med Sci* 6(1): 92-99. doi:10.1002/vms3.215.
29. Kang J, Lee JJ, Cho JH, Choe J, Kyoung H, Kim SH, Kim HB, Song M. Effects of dietary inactivated probiotics on growth performance and immune responses of weaned pigs. *J Anim Sci Technol* (2021) 63(3):520-530. doi:10.5187/jast.2021.e44.
30. Hu J, Kim YH, Kim IH. Effects of two *bacillus* strains probiotic supplement on reproduction performance, nutrient digestibility, blood profile, fecal score, excreta odor contents and fecal microflora in lactation sows, and growth performance in suckling piglets. *Livest Sci* (2021) 104293. doi:10.1016/j.livsci.2020.104293.
31. Faix S, Faixová Z, Plachá I, Koppe LJ. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil on antioxidative status in broiler chickens. *Acta Vet. Hung* (2009) 78:411-417. doi:10.2754/avb200978030411.
32. Adeyemi KD, Sola-Ojo FE, Ajayi DO, Banni F, Isamot HO, Lawal MO. Influence of dietary supplementation of *Crassocephalum crepidioides* leaf on growth, immune status, caecal microbiota, and meat quality in broiler chickens. *Trop Anim Health Prod* (2021) 53:125.

Table 1. Ingredient formulas and chemical compositions of experimental feeds used in the trial.

| Ingredients, % | Gestation | Lactation | Nursery |
|--------------------------------|------------------|------------------|----------------|
| Corn | 81.20 | 66.42 | 54.29 |
| Soybean meal 46% CP | 15.02 | 28.05 | 25.00 |
| Meat and bone meal 48% CP | - | - | 5.00 |
| Whey powder | - | - | 5.00 |
| Soybean protein isolate 80% CP | - | - | 4.30 |
| Soybean oil | - | 1.42 | 2.51 |
| Spray-dried plasma | - | - | 2.50 |
| Premix ¹ | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Limestone | 1.63 | 1.10 | 0.42 |
| L-Lysine | 0.16 | 0.35 | 0.17 |
| DL-Methionine | 0.05 | 0.10 | 0.11 |
| L-Threonine | 0.10 | 0.12 | 0.08 |
| L-Tryptophan | 0.005 | 0.05 | - |
| L-Valine | - | 0.16 | - |
| Salt | 0.42 | 0.50 | 0.08 |
| Phytase ² | 0.005 | 0.005 | 0.005 |
| Carbohydrases ³ | - | 0.005 | - |
| Calculated composition | | | |
| Crude protein, % | 13.43 | 18.53 | 24.08 |
| Digestible lysine % | 0.65 | 1.10 | 1.34 |
| Metabolizable energy, kcal/kg | 3310.97 | 3400 | 3370 |
| Total calcium, % | 1.00 | 0.91 | 0.97 |
| Total phosphorus, % | 0.45 | 0.55 | 0.64 |
| Available phosphorus, % | 0.37 | 0.45 | 0.52 |

¹Premix with vitamins and minerals nursery phase. Vitamin A:12.800.000,0 UI/kg; vitamin B1: 1.800,00 mg/kg; vitamin B2:11.40g/kg; vitamin K3 6.600,00 mg/kg; vitamin B6: 3.600,00 mg/kg; vitamin B12 52.000,00 mcg/kg; vitamin D3:2.650.00,00 UI/kg; vitamin E: 72.200,00 UI/kg; folic acid 600.00 mg/kg; niacin: 80.00g/kg; biotin 200.00 mg/kg; pantothenic acid: 40.00 g/kg

²Natuphos (BASF Corporation, São Paulo, Brazil).

³Rovabio Advance (Adisseo, São Paulo, Brazil).

Table 2. Growth performance of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|-------------------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|-----------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN× NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Feed allotment (g/day) | 717.3 | 717.3 | 720.6 | 714.1 | 15.65 | 0.998 | 0.669 | 0.667 |
| Intake (g/day) | 585.1 | 611.8 | 596.7 | 600.3 | 12.07 | 0.035 | 0.762 | 0.957 |
| Leftover (g/day) | 132.2 | 105.5 | 123.9 | 113.8 | 22.15 | 0.096 | 0.510 | 0.697 |

¹ RSE: residual standard error.

² P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

Table 3. Coefficients of digestibility and metabolizability of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|-------------------------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|-----------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN× NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Dry matter (%) | 88.63 | 89.56 | 89.32 | 88.87 | 0.447 | 0.046 | 0.310 | 0.865 |
| Protein (%) | 86.14 | 87.10 | 86.90 | 86.34 | 0.829 | 0.248 | 0.490 | 0.799 |
| Energy (%) | 87.34 | 88.46 | 88.20 | 87.60 | 0.441 | 0.018 | 0.176 | 0.487 |
| Protein metabolizability (%) | 84.65 | 85.40 | 85.20 | 84.85 | 0.754 | 0.323 | 0.629 | 0.907 |
| Energy metabolizability (%) | 84.60 | 85.73 | 85.19 | 85.14 | 0.471 | 0.023 | 0.915 | 0.416 |

¹ RSE: residual standard error.

² P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

Table 4. Nitrogen balance of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|--|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|---------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN × NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Intake (g/day) | 22.12 | 23.13 | 22.56 | 22.69 | 0.456 | 0.035 | 0.760 | 0.958 |
| Fecal (g/day) | 3.065 | 2.953 | 2.941 | 3.078 | 0.212 | 0.594 | 0.512 | 0.783 |
| Urinary (g/day) | 0.322 | 0.384 | 0.369 | 0.337 | 0.060 | 0.374 | 0.644 | 0.500 |
| Absorbed (g/day) | 19.05 | 20.17 | 19.61 | 19.61 | 0.380 | 0.007 | 0.997 | 0.827 |
| Retained (g/day) | 18.73 | 19.79 | 19.24 | 19.27 | 0.391 | 0.012 | 0.942 | 0.933 |
| Ratio ret./abs.³ (%) | 98.28 | 98.04 | 98.05 | 98.27 | 0.367 | 0.510 | 0.534 | 0.712 |

¹ RSE: residual standard error.

² P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

³ Ratio ret./abs.: Ratio between protein retention and protein absorption.

Table 5. Energy balance of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|---------------------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|---------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN × NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Intake (kcal/day) | 2365 | 2473 | 2412 | 2426 | 48.80 | 0.035 | 0.762 | 0.956 |
| Fecal (kcal/day) | 297.4 | 282.9 | 283.5 | 296.8 | 12.77 | 0.258 | 0.294 | 0.564 |
| Urinary (kcal/day) | 65.72 | 66.57 | 71.79 | 60.50 | 8.550 | 0.919 | 0.186 | 0.771 |
| ED³ (kcal/kg) | 3530 | 3576 | 3565 | 3541 | 17.93 | 0.017 | 0.175 | 0.485 |
| EM⁴ (kcal/kg) | 3419 | 3465 | 3443 | 3442 | 19.03 | 0.023 | 0.920 | 0.415 |
| Ratio EM/ED (%) | 96.86 | 96.90 | 96.58 | 97.18 | 0.980 | 0.913 | 0.152 | 0.828 |

¹ RSE: residual standard error.

² P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

³ ED: digestible energy.

⁴ EM: metabolizable energy.

Table 6. Manure production (dry-matter basis) and digesta transit time of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|---------------------------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|---------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN × NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Feces (g/day) | 64.10 | 61.45 | 61.48 | 64.07 | 2.923 | 0.364 | 0.370 | 0.934 |
| Urine (g/day) | 31.49 | 31.94 | 32.24 | 31.19 | 4.080 | 0.911 | 0.793 | 0.964 |
| Manure (g/day) | 95.59 | 93.39 | 93.72 | 95.26 | 4.373 | 0.612 | 0.719 | 0.922 |
| Digesta transit time (minutes) | 1391 | 1156 | 1276 | 1272 | 457.8 | 0.028 | 0.705 | 0.962 |

¹ RSE: residual standard error.

²P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

Table 7. Intestinal permeability, tight junctions, gut resistance, and intestinal morphometry of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|---|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|-----------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN× NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Dextran in serum (µg/mL) | 0.405 | 0.339 | 0.393 | 0.350 | 0.040 | 0.038 | 0.088 | 0.458 |
| Zonula occludens-1 | 0.964 | 0.996 | 0.936 | 1.023 | 0.320 | 0.891 | 0.534 | 0.819 |
| Occludin | 0.949 | 0.929 | 0.877 | 1.002 | 0.310 | 0.882 | 0.356 | 0.384 |
| Jejunum (kgf) | 1.377 | 1.660 | 1.431 | 1.607 | 0.102 | 0.006 | 0.085 | 0.982 |
| Colon (kgf) | 1.340 | 1.279 | 1.263 | 1.356 | 0.093 | 0.457 | 0.265 | 0.340 |
| Villi height (µm) | 401.8 | 406.7 | 407.5 | 401.0 | 7.126 | 0.481 | 0.349 | 0.117 |
| Villi width (µm) | 116.1 | 110.7 | 114.7 | 112.1 | 4.454 | 0.216 | 0.546 | 0.859 |
| Villi area (µm²) | 47759 | 44871 | 47528 | 44871 | 2487 | 0.172 | 0.251 | 0.468 |
| Crypt depth (µm) | 271.2 | 270.7 | 270.5 | 271.4 | 6.045 | 0.937 | 0.891 | 0.203 |
| Ratio Villi height : Crypt depth | 1.531 | 1.627 | 1.545 | 1.613 | 0.034 | 0.036 | 0.136 | 0.181 |

¹ RSE: residual standard error.

² P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction

Table 8. Relative organ weight of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | RSE ¹ | P-value ² | | |
|----------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|----------------------|-------|---------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | | MN | NN | MN × NN |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | | | | |
| Intestine (%) | 11.84 | 11.26 | 12.00 | 11.10 | 1.900 | 0.437 | 0.111 | 0.964 |
| Heart (%) | 0.602 | 0.622 | 0.614 | 0.610 | 0.082 | 0.570 | 0.884 | 0.160 |
| Kidneys (%) | 0.662 | 0.655 | 0.674 | 0.643 | 0.081 | 0.834 | 0.301 | 0.675 |
| Spleen (%) | 0.217 | 0.272 | 0.246 | 0.244 | 0.058 | 0.218 | 0.921 | 0.499 |
| Liver (%) | 2.930 | 3.110 | 3.090 | 2.960 | 0.310 | 0.163 | 0.246 | 0.366 |
| Lungs (%) | 1.220 | 1.360 | 1.290 | 1.290 | 0.150 | 0.130 | 0.992 | 0.200 |

¹RSE: residual standard error.

²P-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction

Table 9. Serum biochemistry of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition).

| Item | Treatments | | | | | | RSE ¹ | <i>P</i> -value ² | | | |
|------------------------------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|-----------------|------------------|------------------|------------------------------|-------|---------|--------|
| | Maternal Nutrition | | Nursery Nutrition | | Days | | | MN | NN | MN × NN | Days |
| | Control | Probiotic | Control | Probiotic | 3 rd | 22 nd | | | | | |
| TP ³ (g/dL) | 6.456 | 6.018 | 6.340 | 6.134 | 6.878 | 5.596 | 0.413 | 0.115 | 0.450 | 0.598 | 0.004 |
| Albumin (g/dL) | 4.263 | 4.253 | 4.356 | 4.160 | 4.582 | 3.934 | 0.334 | 0.944 | 0.421 | 0.436 | 0.011 |
| Globulin (g/dL) | 2.356 | 2.031 | 2.166 | 2.220 | 2.584 | 1.803 | 0.189 | 0.243 | 0.845 | 0.834 | 0.023 |
| CHOL ⁴ (mg/dL) | 79.74 | 96.78 | 89.30 | 87.22 | 135.3 | 41.21 | 6.280 | 0.047 | 0.801 | 0.868 | <0.001 |
| Glucose (mg/dL) | 212.5 | 223.7 | 220.5 | 215.7 | 204.3 | 231.9 | 12.43 | 0.410 | 0.720 | 0.982 | 0.010 |
| ALT ⁵ (U/L) | 54.77 | 47.78 | 51.06 | 51.49 | 58.49 | 44.06 | 2.321 | 0.043 | 0.896 | 0.266 | <0.001 |

¹ RSE: residual standard error.

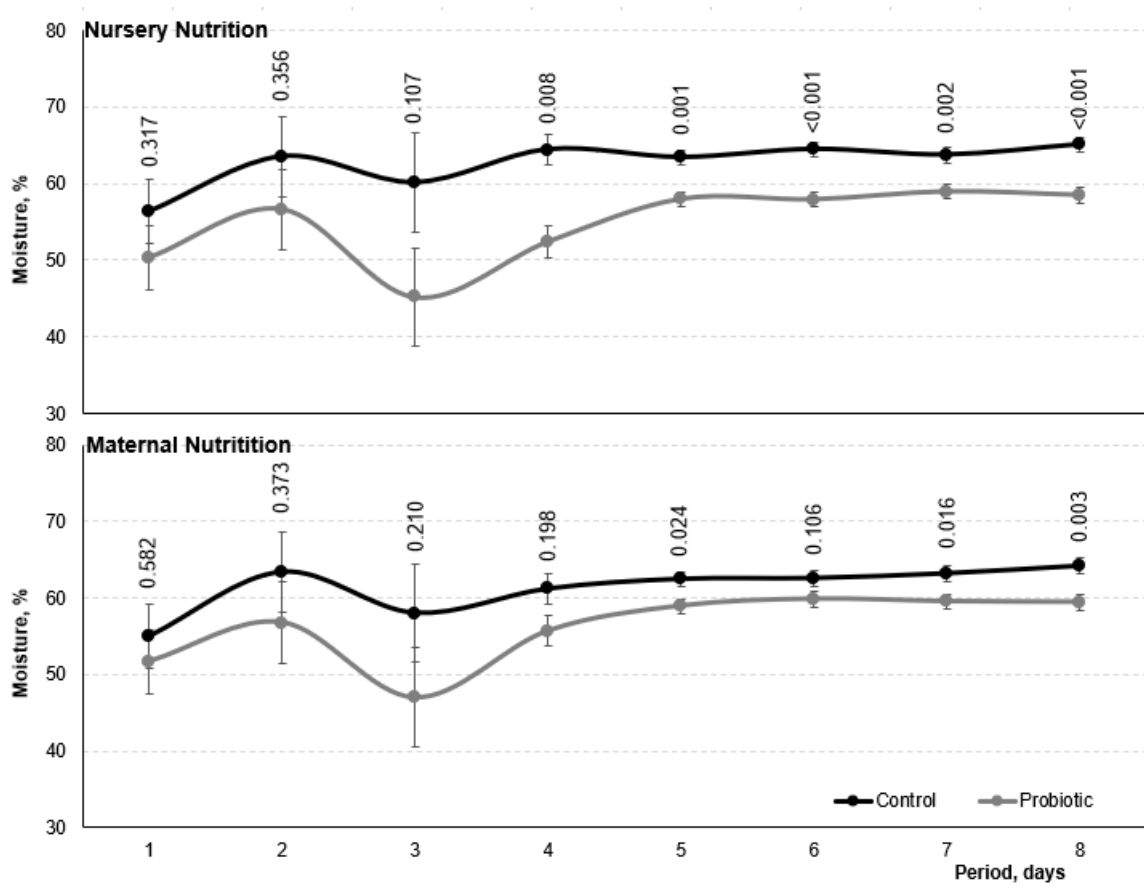
² *P*-value: Probability of treatment effect for supplementation of pigs from the sow fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery) and interaction.

³ TP: Total protein.

⁴ CHOL: Cholesterol.

⁵ ALT: Alanine aminotransferase.

Figure 1. Fecal moisture of weaned pigs from sows who were fed probiotics (Maternal nutrition) or the pigs fed probiotics in the nursery phase (Nursery nutrition)¹.



¹ Probability of treatment effect for supplementation of pigs from sows fed with a probiotic (gestation-lactation) or pigs fed with a probiotic (nursery), day ($P < 0.05$), and interaction (nursery nutrition \times maternal nutrition: $P > 0.05$; maternal nutrition \times day: $P < 0.05$; nursery nutrition \times day: $P < 0.05$) were considered. Probabilities are presented in the figure.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na fase de crescimento a suplementação de BM e BM+MCC melhorou a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal. Além de diminuir a produção de dejetos, o que pode ser vantajoso quando pensamos em impacto ambiental e redução nos custos de produção devido a adição de óleo de soja ser reduzida com a inclusão das enzimas exógenas.

Os resultados evidenciam que a dieta simples, quando formulada corretamente, pode substituir a dieta complexa sem comprometer a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal de suínos pós-desmame. Ambas as adições enzimáticas (β -mananase e o blend composto por β -mananase + xilanase e arabinofuranosidase) salvaram a energia metabolizável em 64 kcal/ kg e 100 kcal/kg de energia metabolizável além de reduzirem marcadores de inflamação.

A suplementação com probióticos para matrizes em gestação-lactação beneficia mais os leitões na fase de creche do que a simples suplementação dos leitões nesta fase. Os leitões nascidos de porcas alimentadas com probióticos apresentaram coeficientes de digestibilidade da energia e de nitrogênio mais elevados, bem como, uma melhor saúde intestinal por meio da redução da permeabilidade e do aumento da relação vilosidade:cripta e da resistência à rutura do intestino delgado. No entanto, a suplementação com probióticos apenas na creche melhorou a saúde intestinal devido à diminuição da permeabilidade intestinal e do aumento da resistência do jejuno, bem como, à diminuição da umidade fecal.

Este trabalho agrega com informações no qual podem ajudar agroindústria suinícola na tomada de decisões sobre o uso de dieta simples e complexa na fase de creche e a adição de aditivos. Deste modo, estes estudos demonstram que a suplementação de enzimas exógenas como a de probiótico pode ajudar na fase de pós-desmame. Enquanto, que a adição de enzimas exógenas demonstra ser uma alternativa viável para redução do impacto ambiental na fase de crescimento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA — Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual ABPA 2023**. São Paulo: ABPA, 2023. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf>. Acesso em: 21 set. 2023.

AMAN, P.; GRAHAM, H. Chemical evaluation of polysaccharides in animal feeds. In: WISEMAN, J.; COLE, D. J. A (ed.). **Feedstuff evaluation**. University Press, Cambridge, UK, 1990. p. 161–177.

ANGKANAPORN, K.; CHOCT, M.; BRYDEN, W.L.; ANNISON, E.F.; ANNISON, G. Effects of wheat pentosans on endogenous amino acid losses in chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 66, p. 399-404, 1994.

ARSENAULT, R. J.; LEE, J. T.; LATHAM, R.; CARTER, B.; KOGUT, M.H. Changes in immune and metabolic gut response in broilers fed β -mannanase in β -mannan-containing diets. **Poultry Science**, Cambridge, v. 96, n. 12, p. 4307-4316, 2017.

ATTIA, Y.A.; BASIOUNI, S.; ABDULSALAM, N.M.; BOVERA, F.; ABOSHOK, A.A.; SHEHATA, A.A.; HAFEZ, H.M. Alternative to antibiotic growth promoters: beneficial effects of *Saccharomyces cerevisiae* and/or *Lactobacillus acidophilus* supplementation on the growth performance and sustainability of broilers production. **Frontiers in Veterinary Science**, v.10, [art.] 1259426, p.1-10, 2023.

BARBA-VIDAL, E.; MARTÍN-ORÚE, S.M.; CASTILLEJOS, L. Review: Are we using probiotics correctly in post-weaning piglets? **Animal**, London, v. 12, n. 12, p. 2489-2498, 2018.

BORTOLUZZI, C.; SCAPINI, L. B.; RIBEIRO, M. V.; PIVETTA, M. R.; BUZIM, R.; FERNANDES, J. I. M. Effects of β -mannanase supplementation on the intestinal microbiota composition of broiler chickens challenged with a coccidiosis vaccine. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 228, p. 187-194, 2019.

CAO, G.; TAO, F.; HU, Y.; LI, Z.; ZHANG, Y.; DENG, B.; ZHAN, X. Positive effects of a *Clostridium butyricum*-based compound probiotic on growth performance, immune responses, intestinal morphology, hypothalamic neurotransmitters, and colonic microbiota in weaned piglets. **Food & Function**, Cambridge, v. 10, n. 5, p. 2926-2934, 2019.

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

CHO, J. H.; KIM I. H. Effects of beta-mannanase supplementation in combination with low and high energy dense diets for growing and finishing broilers. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 154, p. 137–143, 2013.

CLARKE, L. C.; SWEENEY, T.; CURLEY, E.; GATH, V.; DUFFY, S. K.; VIGORS, S.; RAJAURIA, G.; O'DOHERTY, J. V. Effect of β -glucanase and β -xylanase enzyme

supplemented barley diets on nutrient digestibility, growth performance and expression of intestinal nutrient transporter genes in finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 238, p. 98-110, 2018.

COWIESON, A. J. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 115, p. 293-305, 2005.

DELL'ANNO, M.; CALLEGARI, M. L.; REGGI, S.; CAPRARULO, V.; GIROMINI, C.; SPALLETTA, A.; CORANELLI, S.; SGOIFO ROSSI, C. A.; ROSSI, L. *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus reuteri* as Functional Feed Additives to Prevent Diarrhoea in Weaned Piglets. **Animals**, Basel, v. 11, n. 6, [art.] 1766, p. 1-19, 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 171, de 13 de dezembro de 2018. Informa sobre a intensão de proibição de uso de antimicrobianos com a finalidade de aditivos melhoradores de desempenho de alimentos e abre prazo manifestação. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, ano 155, n. 243, p. 23-23, 13 dez. 2018. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=19/12/2018&jornal=515&pagina=23>. Acesso em: 1 dez. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 1, de 13 de janeiro de 2020. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, ano 158, n. p. 6-6, 13 jan. 2020. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=23/01/2020&jornal=515&pagina=6>. Acesso em: 1 jan. 2020.

DHAWAN, S.; KAUR, J. Microbial mannanases: an overview of production and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 27, p. 197-216, 2007.

DONG, B.; LIU, S.; WANG, C.; CAO, Y. Effects of xylanase supplementation to wheat-based diets on growth performance, nutrient digestibility and gut microbes in weanling pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 31, n. 9, p. 1491-1499, 2018.

DUARTE, M. E.; ZHOU, F. X.; DUTRA, W. M.; KIM, S. W. Dietary supplementation of xylanase and protease on growth performance, digesta viscosity, nutrient digestibility, immune and oxidative stress status, and gut health of newly weaned pigs. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 5, n. 4, p. 351-358, 2019.

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

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA – opinion of the scientific committee. **EFSA Journal**, Parma, v. 5, p. 587, 2007.

EUROPEAN COMMISSION. **Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect**. Luxembourg, 2005. Disponível em: http://europa.eu/rapid/press-release_IP-05-1687_en.htm. Acesso em: jun. 2021.

FENG, H.; QU, H.; LIU, Y.; SHI, Y.; WU, S. BAO, W. Effect of fermented soybean meal supplementation on some growth performance, blood chemical parameters, and fecal microflora of finishing pigs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 49, [art.] e20190096, p. 1-12, 2020.

FERRANDIS VILA, M.; TRUDEAU, M. P.; HUNG, Y. T.; ZENG, Z.; URRIOLOA, P. E.; SHURSON, G. C.; SAQUI-SALCES, M. Dietary fiber sources and non-starch polysaccharide-degrading enzymes modify mucin expression and the immune profile of the swine ileum. **Plos One**, San Francisco, v. 13, n. 11, [art.] e0207196, p.1-16, 2018.

FERREIRA, H. C.; HANNAS, M. I.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; NEME, R.; FARIA, B. D.; XAVIER, M. L. JR.; RENNO, L. N. Effect of the addition of β -mannanase on the performance, metabolizable energy, amino acid digestibility coefficients, and immune functions of broilers fed different nutritional levels. **Poultry Science**, Champaign, v. 95, n. 8, p.1848–1857, 2016.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 49, p. 1069-1086, 2001.

GOLDSZMID, R.; TRINCHIERI, G. The price of immunity. **Nature Immunology**, New York, v. 13, p. 932–938, 2012.

GUO, S.; LIU, D.; ZHAO, X.; LI, C.; GUO, Y. Xylanase supplementation of a wheat-based diet improved nutrient digestion and mRNA expression of intestinal nutrient transporters in broiler chickens infected with *Clostridium perfringens*. **Poultry Science**, Cambridge, v. 93, p. 94-103, 2014.

HEO, J.M.; OPAPEJU, F.O.; PLUSKE, J.R.; KIM, J.C.; HAMPSON, D.J.; NYACHOTI, C.M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.97, p.207–37, 2013.

HICKMANN, F.M.W.; ANDRETTA, I.; LÉTOURNEAU-MONTMINY, M.P.; REMUS, A.; GALLI, G.M.; VITTORI, J.; KIPPER, M. β -Mannanase Supplementation as an Eco-Friendly Feed Strategy to Reduce the Environmental Impacts of Pig and Poultry Feeding Programs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, [art.] 732253, p.1-13, 2021.

HSIAO, H. Y.; ANDERSON, D. M.; DALE, N. M. Levels of β -mannan in soybean meal. **Poultry Science**, Cambridge, v. 85, p. 1430–2, 2006.

HUNTLEY, N. F.; PATIENCE, J. F. Xylose metabolism in the pig. **Plos One**, San Francisco, v. 13, n. 10, [art.] e0205913, p. 1-21, 2018.

HUNTLEY, N. F.; GOULD, S. A.; PATIENCE, J. Evaluation of the effect of beta-mannanase supplementation and mannans on nursery pig growth performance and serum acute phase protein concentrations. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 100, n. 1, p. 111-118, 2020.

HUNTLEY, N. F.; NYACHOTI, C. M.; PATIENCE, J. F. Lipopolysaccharide immune stimulation but not β -mannanase supplementation affects maintenance energy requirements in young weaned pigs. **Journal of Animal Science Biotechnology**, London, v. 9, n. 47, p. 1-16, 2018.

HUANG, L.; LUO, L.; ZHANG, Y.; WANG, Z.; XIA, Z. Effects of the dietary probiotic, *Enterococcus faecium* NCIMB11181, on the intestinal barrier and system immune status in *Escherichia coli* O78-challenged broiler chickens. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 11, p. 946-956, 2020.

HUTING, A.M.S.; MIDDELKOOP, A.; GUAN, X.; MOLIST, F. Using Nutritional Strategies to Shape the Gastro-Intestinal Tracts of Suckling and Weaned Piglets. **Animals**, v.11, n. 402 [art.] p.1-36, 2021.

IBUKI, M.; FUKUI, K.; KANATANI, H.; MINE, Y. Anti-inflammatory effects of mannanase-hydrolyzed copra meal in a porcine model of colitis. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 76, n. 5, p. 645–651, 2014.

JANG, J. C.; KIM, K. H.; JANG, Y. D.; KIM, Y. Y. Effects of dietary β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility, intestinal integrity, and immune responses in weaning pigs. **Animals**, v. 10, n. 4, [art.] 703, p. 1-10, 2020.

JAWORSKI, N. W.; LAERKE, H. N.; BACH KNUDSEN, K. E.; STEIN, H. H. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 93, p. 1103–1113, 2015.

JEON, S. M.; HOSSEINDOUST, A.; CHOI, Y. A.; KIM, M. J.; KIM, K. Y.; LEE, J. H.; KIL, D. Y.; KIM, B. G.; CHAE, B. J. Comparative standardized ileal amino acid digestibility and metabolizable energy contents of main feed ingredients for growing pigs when adding dietary β -mannanase. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 5, n. 4, p. 359–365, 2019.

JO, J. K.; INGALE, S. L.; KIM, J. S.; KIM, Y. W.; KIM, K. H.; LOHAKARE, J. D.; LEE, J. H.; CHAE, B. J. Effects of exogenous enzyme supplementation to corn- and soybean meal-based or complex diets on growth performance, nutrient digestibility, and blood metabolites in growing pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 9, p. 3041–3048, 2012.

KIM, J. S., HOSSEINDOUST, A., JU, I. K., YANG, X., LEE, S. H., NOH, H. S., LEE, J. H.; CHAE, B. J. Effects of dietary energy levels and β -mannanase supplementation in a high mannan-based diet during lactation on reproductive performance, apparent total tract digestibility and milk composition in multiparous sows. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 17, n. 1, p. 128–134, 2018.

KIM, J. S.; INGALE, S. L.; HOSSEINDOUST, A. R.; LEE, S. H.; LEE, J. H.; CHAE, B. J. Effects of mannan level and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites of growing pigs. **Animal**, Cambridge, v. 11, n. 02, p. 202–208, 2017.

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 67, p. 319–338, 1997.

KOO, B.; CHOI, J.; YANG, C.; NYACHOTI, C. M. Diet complexity and L-threonine supplementation: effects on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and microbial metabolites in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 5, p. 1-11, 2020.

KRABBE, E. L.; GOPINGER, E.; BEZERRA, N. DOS. S.; COSTA, A. P. G. C.; GOMES, H. A. Avaliação dos benefícios do uso de xilanase na digestibilidade de nutrientes em suínos. **Comunicado técnico EMBRAPA**, Brasília, DF, n. 567, p. 1-9, 2019.

KWAK, M. J.; TAN, P. L.; OH, J. K.; CHAE, K. S.; KIM, J.; KIM, S. H.; EUN, J-S.; CHEE, S. W.; KANG, D. K.; KIM, S. H.; WHANG, K. Y.; The effects of multispecies probiotic formulations on growth performance, hepatic metabolism, intestinal integrity and fecal microbiota in growing-finishing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 274, [art.] 114833, p. 1-10, 2021.

LANDIS, W.; JOHNSTON DONER, D. B.; SINGH, V. Analysis and properties of arabinoxylans from discrete corn wet-milling fiber fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 49, p. 1266–1269, 2001.

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

LEONARD, S. G.; SWEENEY, T.; BAHAR, B.; LYNCH, B. P.; O'DOHERTY, J. V. Effects of dietary seaweed extract supplementation in sows and post-weaned pigs on performance, intestinal morphology, intestinal microflora and immune status. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 106, n. 05, p. 688–699, 2011.

LI, Y.; CHEN, X.; CHEN, Y.; LI, Z.; CAO, Y. Effects of β -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. **Animal Feed Science Technology**, New York, v. 159, p. 59–67, 2010.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, p. 31–67, 1994.

LIU, S.; MA, C.; LIU, L.; NING, D.; LIU, Y.; DONG, B. β -xylosidase and β -mannosidase in combination improved growth performance and altered microbial profiles in weanling pigs fed a corn-soybean meal-based diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 14, p. 1734–1744, 2019.

LV, J. N.; CHEN, Y. Q.; GUO, X. J.; PIAO, X. S.; CAO, Y. H.; DONG, B. EFFECTS of Supplementation of β -Mannanase in corn-soybean meal diets on performance and nutrient digestibility in growing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 26, n. 4, p. 579–587, 2013.

MENNAH-GOVELA, Y.A.; SINGH, R.P.; BORNHORST, G.M. Buffering capacity of protein-based model food systems in the context of gastric digestion. **Food & Function**, v.10, n.9 [art.], p.6074–6087, 2019.

MCAFFEE, J. M.; KATTESH, H. G.; LINDEMANN, M. D.; VOY, B. H.; KOJIMA, C. J.; BURDICK SANCHEZ, N. C.; CARROLL, J. A.; GILLESPIE, B. E.; SANTOX, A. M. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA) supplementation to lactating sows on growth and indicators of stress in the post-weaned pig. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 11, p. 4453–4463, 2019.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D.; MORGAN, C. A.; SINCLAIR, L. A.; WILKINSON, R. G. **Animal nutrition**. 7. ed. Harlow: Pearson Education, 2011.

MEHRI, M.; ADIBMORADI, M.; SAMIE, A.; SHIVAZAS, D. M. Effects of β -mannanase on broiler performance, gut morphology and immune system. **African Journal Biotechnology**, Nairobi, v. 9, p. 6221–6228, 2010.

MEYBOHM, P.; GRUENEWALD, M.; ZACHAROWSKI, K. D.; ALBRECHT, M.; LUCIUS, R.; FÖSEL, N.; HENSLER, J.; ZITTA, K.; BEIN, B. Mild hypothermia alone or in combination with anesthetic post-conditioning reduces expression of inflammatory cytokines in the cerebral cortex of pigs after cardiopulmonary resuscitation. **Critical care**, London, v. 14, n. 1, [art.] R21, p. 1-11, 2010.

MIN, Y.; CHOI, Y.; CHOE, J.; KIM, Y.; JEONG, Y.; KIM, D.; KIM, J.; JUNG, H.; SONG, M. Effects of dietary mixture of protease and probiotics on growth performance, blood constituents, and carcass characteristics of growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science and Technology**, Seoul, v. 61, n. 5, p. 2063-2069, 2019.

MING, D.; WANG, W.; HUANG, C.; WANG, Z.; SHI, C.; DING, J.; LIU, H.; WANG, F. Effects of Weaning Age at 21 and 28 Days on Growth Performance, Intestinal Morphology and Redox Status in Piglets. **Animals**, Basel, v.11, n.8, [art.] 2169, p1-12, 2021.

MOREIRA, L. R.; FILHO, E. X. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 79, n. 2, p. 165–178, 2008.

MOTURI, J., KIM, K. Y., HOSSEINDOUST, A. LEE, J. H., XUAN, B., PARK, J. KIM, E. B., KIM, J. S., CHAE, B. J. Effects of *Lactobacillus salivarius* isolated from feces of fast-growing pigs on intestinal microbiota and morphology of suckling piglets. **Scientific Reports**, London, v. 11, [art.] 6757, p. 1-12, 2021.

NIAN, F.; GUO, Y. M.; RU, Y. J.; LI, F. D.; PÉRON, A. Effect of exogenous xylanase supplementation on the performance, net energy and gut microflora of broiler chickens fed wheat-based diets. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 24, p. 400-406, 2011.

NIELSEN, T. S.; FREDBORG, M.; THEIL, P. K.; YUE, Y.; BRUHN, L. V.; ANDERSEN, V.; PURUP, S. Dietary Red Meat Adversely Affects Disease Severity in a Pig Model of DSS-Induced Colitis Despite Reduction in Colonic Pro-Inflammatory Gene Expression. **Nutrients**, Basel, v. 12, n. 6, [art.] 1728, p. 1-15, 2020.

OSVALDOVA, A.; STEPANOVA, H.; FALDYNA, M.; MATIASOVIC, J. Gene expression values of pattern-recognition receptors in porcine leukocytes and their response to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. **Research in Veterinary Science**, London, v. 114, p. 31–35, 2017.

OWUSU-ASIEDU, A.; PATIENCE, J. F.; LAARVELD, B.; VAN KESSEL, A. G.; SIMMINS, P. H.; ZIJLSTRA, R. T. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 4, p. 843–852, 2006.

PETTEY, L.; CARTER, S.; SENNE, B.; SHIVER, J. Effects β -mannanase addition to corn-soybean meal diets on growth performance, carcass traits, and nutrient digestibility of weaning and growing-finishing pig. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1012–1019, 2002.

PU, J.; CHEN, D.; TIAN, G.; HE, J.; ZHENG, P.; MAO, X.; YU, J.; HUANG, Z.; LUO, J.; LUO, Y.; YU, B. Effects of benzoic acid, *Bacillus coagulans* and oregano oil combined supplementation on growth performance, immune status and intestinal barrier integrity of weaned piglets. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 6, p. 152–159, 2020.

ROBLES-HUAYNATE, R. A.; THOMAZ, M. C.; SANTANA, Á. E.; MASSON, G. C. I. H.; AMORIM, A. B.; SILVA, S. Z.; RUIZ, U. doS.; WATANABE, P. H.; BUDIÑO, F. E. L. Effect of the probiotic addition in diets of weaned piglets on the characteristics of the digesting system and of performance. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 14, n. 1. p. 248–258, 2013.

ROMERO, L. F.; PARSONS, C. M.; UTTERBACK, P. L.; PLUMSTEAD, P. W.; RAVINDRAN, V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. **Animal Feed Science Technology**, New York, v. 181, p. 35-44, 2013.

SAEED, M.; AYASAN, T.; ALAGAWANY, M.; EL-HACK, M. E. A.; ABDEL-LATIF, M. A.; PATRA, AK. The role of β -mannanase (Hemicell) in improving poultry productivity,

health and environment. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 1-8, 2019.

SAQUI-SALCES, M.; HUANG, Z.; VILA, M. F.; LI, J.; MIELKE, J. A. A.; URRIOLOA, P. E. E.; SHURSON, G. C. Modulation of intestinal cell differentiation in growing pigs is dependent on the fiber source in the diet. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 95, p. 1179–1190, 2017.

SCAPINI, L. B.; DE CRISTO, A. B.; SCHMIDT, J. M.; BUZIM, R.; NOGUEIRA, L. K.; PALMA, S. C.; FERNANDES, J. I. M. Effect of β -Mannanase supplementation in conventional diets on the performance, immune competence and intestinal quality of broilers challenged with *Eimeria* sp. **The Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 28, n. 4, p. 1048–1057, 2019.

SIDO, A.; RADHAKRISHNAN, S.; KIM, S. W.; ERIKSSON, E.; SHEN, F.; LI, Q.; BHAT, V.; REDDIVARI, L.; VANAMALA, J. K. P. A food-based approach that targets interleukin-6, a key regulator of chronic intestinal inflammation and colon carcinogenesis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 43, p. 11–17, 2017.

SKLAN, D.; HURWITZ, S.; BUDOWSKI, P.; ASCARELLI, I. Fat digestion and absorption in chicks fed raw or heated soybean meal. **Journal of Nutrition**, New York, v. 105, p. 57–63, 1975.

SMITH, J. A. Brucella lipopolysaccharide and pathogenicity: The core of the matter. **Virulence**, Austin, v. 9, n. 1, p. 379–382, 2018.

SMITH, A. G.; O'DOHERTY, J. V.; REILLY, P.; RYAN, M. T.; BAHAR, B.; SWEENEY, T. The effects of laminarin derived from *Laminaria digitata* on measurements of gut health: selected bacterial populations, intestinal fermentation, mucin gene expression and cytokine gene expression in the pig. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 105, n. 05, p. 669–677, 2011.

SUN, Y.; DUARTE, M. E.; KIM, S. W. Dietary inclusion of multispecies probiotics to reduce the severity of post-weaning diarrhea caused by *Escherichia coli* F18+ in pigs. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 7, n. 2, p. 326–333, 2021.

SUN, H.; COZANNET, P.; MA, R.; ZHANG, L.; HUANG, Y. K.; PREYNAT, A.; SUN, L. Effect of concentration of arabinoxylans and a carbohydrase mixture on energy, amino acids and nutrients total tract and ileal digestibility in wheat and wheat by-product-based diet for pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 262; [art.] 114380, p. 1-10, 2020.

TANG, W.; QIAN, Y.; YU, B.; ZHANG, T.; GAO, J.; HE, J.; HUANG, Z.; ZHENG, P.; MAO, X.; LUO, J.; YU, J.; CHEN, D. Effects of *Bacillus subtilis* DSM32315 supplementation and dietary crude protein level on performance, gut barrier function and microbiota profile in weaned piglets. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 97; n. 5, p. 2125–2138, 2019.

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

TOMOSADA, Y.; VILLENA, J.; MURATA, K.; CHIBA, E.; SHIMAZU, T.; ASO, H.; IWABUCHI, N.; XIAO, J.; SAITO, T.; KITAZAWA, H. Immunoregulatory effect of bifidobacteria strains in porcine intestinal epithelial cells through modulation of ubiquitin-editing enzyme A20 expression. **Plos one**, San Francisco, v. 8, [art.] e59259, p. 1-12, 2013.

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

UPADHAYA, S. D.; PARK, J. W.; LEE, J. H.; KIM, I. H. Efficacy of β -mannanase supplementation to corn–soya bean meal-based diets on growth performance, nutrient digestibility, blood urea nitrogen, faecal coliform and lactic acid bacteria and faecal noxious gas emission in growing pigs. **Archives of Animal Nutrition**, Abingdon, v. 70, n. 1, p. 33-43, 2016.

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 Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 1454–1462, 2010.

VEUM, T. L.; ODLE, J. Feeding neonatal pigs. *In*: LEWIS, Austin J.; SOUTHERN, L. Lee(ed.). **Swine nutrition**. New York: CRC Press, 2001. p. 671-690.

WANG, T.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Investigation of xylanase, diet formulation method for energy, and choice of digestibility index marker on nutrient and energy utilization for broiler chickens and pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 97, n. 1, p. 279–290, 2019.

WANG, K.; CAO, G.; ZHANG, H.; LI, Q.; YANG, C. A. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function, intestinal morphology, volatile fatty acids, and intestinal flora in a piglet model. **Food & Function**, Cambridge, v. 10, n. 11, p. 7844-7854, 2019.

WANG, D.; PIAO, X. S.; ZENG, Z. K.; LU, T.; ZHANG, Q.; LI, P. F.; XUE, L. F.; KIM, S. W. Effects of keratinase on growth performance, nutrient utilization, intestinal morphology, intestinal ecology and inflammatory response of weaned piglets fed diets with different levels of crude protein. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 24, p. 1718–1728, 2011.

WANG, Y.; YAN, X.; ZHANG, W.; LIU, Y.; HAN, D.; TENG, K.; M. A., Y. A. *Lactobacillus casei* prevents jejunal epithelial damage to early-weaned piglets

induced by *Escherichia coli* K88 via regulation of intestinal mucosal integrity, tight junction proteins and immune factor expression. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 29, n. 6, p. 863–876, 2019.

WANG, S.; ZHANG, C.; WANG, X.; YANG, J.; WU, K.; ZHANG, J., ZHANG, B.; YANG, A.; QI, D. B. Deoxynivalenol inhibits porcine intestinal trefoil factors expression in weanling piglets and IPEC-J2 cells. **Toxins**, Basel, v. 11, n. 11, [art.] 670, p. 1-9, 2019.

WANG, Y.; CHIBA, L. I.; HUANG, C.; TORRES, I. M.; WANG, L.; WELLES, E. G. Effect of diet complexity, multi-enzyme complexes, essential oils, and benzoic acid on weanling pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 209, p. 32-38, 2018.

WARNEBOLDT, F.; SANDER, S.J.; BEINEKE, A.; VALENTIN-WEIGAND, P.; KAMPHUES, J.; BAUMS, C.G. Clearance of *Streptococcus suis* in stomach contents of differently fed growing pigs. **Pathogens**, v. 5, [art.] 56, p.1-11, 2016.

WISE, M. B.; BARRICK, E. R.; WISE, G. H.; OSBORNE, J. C. Effects of substituting xylose for glucose in a purified diet for pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 13, p. 365-374, 1954.

YIRGA H. The use of probiotics in animal nutrition. **Journal of Probiotics Health**, Los Angeles, v. 3, n. 2, p. 1-10, 2015.

YOON, S. Y.; YANG, Y. X.; SHINDE, P. L.; CHOI, J. Y.; KIM, J. S.; KIM, Y. W.; YUN, K.; JO, J. K.; LEE, J. H.; OHH, S. J.; KWON, I. K.; CHAE, B. J. Effects of mannanase and distillers dried grain with solubles on growth performance, nutrient digestibility, and carcass characteristics of grower-finisher pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 181-191, 2010.

ZHANG, Z.; TUN, H. M.; LI, R.; GONZALEZ, B. J. M.; KEENES, H. C.; NYACHOTI, M.; KIARIE, E.; KHAFIPOUR, E. The impact of xylanases on gut microbiota of growing pigs fed with corn- or wheat-based diets. **Animal Nutrition Journal**, Beijing, v. 4, n. 4, p. 339-350, 2018.

ZHANG, Z.; SMITH, C.; LI, W.; ASHWORTH, J. Characterization of nitric oxide modulatory activities of alkaline-extracted and enzymatic-modified arabinoxylans from corn bran in cultured human monocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington D. C., v. 64, p. 8128–8137, 2016.

ZHANG, D., WILLIAMS, B. A., MIKKELSEN, D., LI, X., KEATES, H. L., LISLE, A. T., COLLINS, H. M.; Fincher, G. B.; BIRD, A. R.; TOPPING, D. L.; GIDLEY, M. J.; BRYDEN, W. L. Soluble arabinoxylan alters digesta flow and protein digestion of red meat-containing diets in pigs. **Nutrition**, Burbank, v. 31, n. 9, p. 1141–1147, 2015.

ZHOU, J-M.; ZHANG, H-J.; WU, S-G.; QIU, K.; FU, Y.; QI, G-H.; WANG, J. Supplemental xylooligosaccharide modulates intestinal mucosal barrier and cecal microbiota in laying hens fed oxidized fish oil. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, [art.] 635333, p. 1-15, 2021.

ZHU, X.; LIU, J.; LIU, H.; YANG, G. Soybean oligosaccharide, stachyose and raffinose in broilers diets: Effects on odor compound concentration and microbiota in cecal digesta. **Poultry Science**, Cambridge, v. 9, n. 7, p. 3532-3539, 2020.

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

ZYL, W. H. V.; ROSE, S. H.; TROLLOPE, K.; GÖRGENS, J. F. Fungal β -mannanases: Mannan hydrolysis, heterologous production and biotechnological applications. **Process Biochemistry**, London, v. 45, p. 1203–1213, 2010.