

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Medicina Veterinária

Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Lorena Salim de Sousa

Fibra solúvel e insolúvel para poedeiras

Belo Horizonte

2023

Lorena Salim de Sousa

Fibra solúvel e insolúvel para poedeiras

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para Obtenção do grau de Doutora em Zootecnia

Área de concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof. Leonardo José Camargos Lara

Co-orientador: Ítallo Conrado Sousa de Araújo

Belo Horizonte
2023

S725f Sousa, Lorena Salim de, 1991-
 Fibra solúvel e insolúvel para poedeiras / Lorena Salim de Souza.-2023.
 112 f: il.

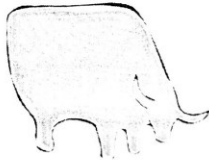
 Orientador: Leonardo José Camargos Lara
 Coorientador: Ítallo Conrado Sousa de Araújo

 Tese (Doutorado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da
UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.
 Área de concentração: Nutrição Animal
 Inclui Bibliografia.

 1. Galinha - Teses – 2. Alimentação e rações - Teses – I. Iara, Leonardo
José Camargos - II. Araújo, Ítallo Conrado Sousa de – III. Universidade Federal
de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 636.08

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE (31)-3409-2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail: epgzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE TESE DA ALUNA LORENA SALIM DE SOUSA

Às 14:00 horas do dia 16 de fevereiro de 2023, reuniu-se, remotamente, a Comissão Examinadora de Tese, aprovada por ad referendum no dia 02/01/2023, para julgar, em exame final, a defesa da tese intitulada:

FIBRA SOLÚVEL E INSOLÚVEL PARA BOVEDAS

_____, como requisito final para a obtenção do Grau de **Doutor em Zootecnia, área de concentração Nutrição de Não Ruminantes**

Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. **Leonardo José Camargos Lara**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Tese, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento da tese, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) <u>CINTHIA ETNG</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>LARISSA MAIA MELO AMARAL</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>DALTON DE OLIVEIRA FORTES</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>TADEU CHAVES DE FIGUEIREDO</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>LEONARDO JOSÉ CAMARGOS LARA</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)

Reprovado (a)

Para concluir o Doutorado, o(a) candidato(a) deverá entregar 03 volumes encadernados da versão final da tese acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da tese apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 16 de fevereiro de 2023.

Assinatura dos membros da banca:

Dedico este trabalho a minha mãe

Por acreditar sempre nos meus sonhos e vivê-los comigo

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por ser meu alicerce e conforto, e me manter sempre forte durante toda essa jornada.

A minha mãe, por ser exemplo de mulher e mãe e por todo incentivo, compreensão, amor e por viver intensamente mais esse momento ao meu lado.

A minha família por comemorarem cada conquista e se adaptarem a minha rotina louca.

Aos amigos que conquistei ao longo da vida, obrigada por cada momento, palavras, incentivo, dúvidas sobre ovos, frangos e galinhas e por acreditarem em mim mais do que eu mesma. Sem vocês a caminhada teria sido muito mais complicada.

Ao meu Orientador, Professor Leonardo Lara, que desde o primeiro dia que cheguei a UFMG foi muito mais que um orientador foi exemplo de homem, pai, mestre e principalmente professor. Ao Professor Itallo, pela disponibilidade desde o primeiro momento, conhecimento e amizade. Por confiarem em mim e no meu trabalho e dividirem o amor pela avicultura.

A Professora Roselene e a sua aluna Dayse pela parceria e auxílio nas análises de microbiota.

Ao pessoal do laboratório de Nutrição, pela ajuda nas análises bromatológicas.

A Professora Silvana e ao Professor Tadeu pela ajuda nas análises de qualidade de ovos.

Aos meus amigos do Geav com quem pude ter a honra de trabalhar (não vou citar nomes pois seriam páginas e páginas para falar de cada um) e que tornaram o trabalho do dia a dia mais divertido. Vocês mostraram que o vínculo pode ultrapassar os muros da universidade, vocês tornaram esse projeto realidade, sem vocês nada disso seria possível.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Hélio Barbosa, em especial a Renata, Fabiana Léia e Carlinhos, que estão sempre disponíveis e que eu saía da fazenda com o coração em paz pois minhas meninas estavam em excelentes mãos. Esse trabalho é de vocês.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela estrutura e apoio.

A todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

O trabalho explora o impacto de diferentes tipos de fibra alimentar (solúvel e insolúvel) na nutrição de poedeiras comerciais, avaliando digestibilidade, desempenho, desenvolvimento dos órgãos gastrointestinais e a qualidade dos ovos. A pesquisa destaca como a fibra dietética pode beneficiar a saúde intestinal e o bem-estar animal, modulando a microbiota e aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta. Observou-se que a inclusão de fibras específicas melhora a absorção de nutrientes e pode contribuir para a eficiência produtiva das aves.

Palavras-chave: celulose; pectina; microbiota; digestibilidade; saúde intestinal; AGV.

ABSTRACT

This study explores the impact of different types of dietary fiber (soluble and insoluble) on the nutrition of commercial laying hens, assessing digestibility, performance, gastrointestinal organ development, and egg quality. The research highlights how dietary fiber can benefit gut health and animal welfare by modulating the microbiota and increasing short-chain fatty acid production. It was observed that specific fiber inclusion improves nutrient absorption and may contribute to the productive efficiency of the birds.

Keywords: cellulose; pectin; microbiota; digestibility; gut health; SCFA.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Fibra na alimentação de aves de postura	10
2.2 Fibra solúvel	13
2.3 Fibra insolúvel	14
2.4 Microbiota intestinal de poedeiras comerciais	15
2.5. Microbiota intestinal e a simbiose com o hospedeiro.....	20
2.6 Características das principais bactérias encontradas em aves.....	22
2.6.1. <i>Lactobacillus</i> spp.....	22
2.6.2. <i>Bacteroides</i> spp.....	23
2.6.3. <i>Bifidobacterium</i> spp.	23
2.6.4. <i>Fusobacterium</i> spp.	24
2.6.5 <i>Salmonella</i> spp.	24
2.6.6 <i>Clostridium</i> spp.	25
2.6.7 <i>Campylobacter</i> spp.	26
2.6.8 <i>Escherichia coli</i>	27
2.7. Fatores que afetam o microbioma das aves	28
2.8. Fontes de fibra	33

2.8.1. Farelo de Trigo	34
2.8.2. Celulose	34
2.8.3. Pectina	35
2.9 Fibra e o bem-estar animal	35
3. OBJETIVO GERAL	36
3.1. Objetivo Específico	37
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
CAPÍTULO 2	
Fibra solúvel e insolúvel sobre digestibilidade, desempenho e biometria dos órgãos gastrointestinais de poedeiras leves	60
CAPÍTULO 3	
Efeito da fibra solúvel e insolúvel sobre a qualidade de ovos, perfil lipídico sérico e dos ovos de poedeiras leves.....	82
CAPÍTULO 4	
Caracterização da microbiota e concentração de ácidos graxos de cadeia curta nos cecos de galinhas poedeiras alimentadas com fontes de fibras nas dietas	98

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O uso de fibras na dieta de aves pode melhorar a digestão, o desenvolvimento de órgãos, especialmente a moela, aumentar a secreção de ácidos biliares e de enzimas e modular a microbiota. Essas mudanças resultam em melhorias na utilização de nutrientes, no desempenho e, eventualmente, promovem a saciedade e o bem-estar animal (Mateos *et al.*, 2012). Além disso, as fibras podem afetar positivamente a saúde intestinal, prevenindo a adesão de populações bacterianas patogênicas específicas para a mucosa epitelial (Jha *et al.*, 2019). Algumas fibras solúveis agem como prebióticos, promovendo diretamente o crescimento de bactérias intestinais benéficas e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Sadeghi *et al.*, 2015; Dunislawska *et al.*, 2017; Rajendran *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2019).

O conhecimento da microbiologia intestinal de aves avançou de uma capacidade limitada com uma cultura relativamente simples, até a tentativa de entender complexas interações entre a ave e seu microbioma. Já que o microbioma e o hospedeiro se comunicam e influenciam uns aos outros, determinando a saúde, a patogenicidade de doenças infecciosas e até mesmo o comportamento das aves (Lee *et al.*, 2022).

Mudanças importantes ocorreram nas últimas duas décadas na compreensão das interações das aves com as populações microbianas no trato gastrointestinal. Deixando de estudar populações microbianas intestinais na tentativa de identificar espécies para descrevê-las como organismos vivos em um ecossistema específico. O foco nos últimos anos tem-se voltado para o conceito de microbioma, que observa o comportamento da microbiota em um determinado espaço (Berg *et al.*, 2020). Objetivando assim, determinar os principais fatores que alteram o equilíbrio da microbiota intestinal, haja visto a sua influência não só no trato gastrointestinal, mas no organismo animal como um todo.

O desenvolvimento de tecnologias que permitem identificar a microbiota bem como a sua função são as chaves para a compreensão da estreita relação que existe entre o hospedeiro e sua microbiota e a influência que a mesma exerce sobre a saúde e desempenho das aves.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fibra na alimentação de aves de postura

A definição de fibra, do ponto de vista da morfologia vegetal, corresponde aos componentes estruturais das plantas, sendo os constituintes da parede celular dessas. Do ponto de vista nutricional, a fibra designa a fração do alimento não digerida por enzimas secretadas pelo trato digestório de animais não ruminantes, mas passível de hidrólise no intestino grosso por meio da fermentação microbiana (AACC, 2001).

A fibra pode ser considerada um nutriente ou um fator antinutricional dependendo da sua solubilidade em água, uma vez que a fibra solúvel tem grande capacidade de absorver água e formar substância gelatinosa no trato gastrointestinal, inibindo a digestão dos alimentos de modo geral. Outra diferença relevante é que a fibra insolúvel não é degradada pela fermentação bacteriana em aves, exercendo menor influência sobre a microbiota intestinal quando comparada com a fibra solúvel (Hetland *et al.*, 2004). No entanto, essa visão sobre a separação das fibras está mudando, pois não há padronização de métodos para separar as frações solúveis das insolúveis. As frações de fibras solúveis e insolúveis podem variar dependendo da temperatura, água ou tampão que são utilizados como solvente durante as análises, e relação fibra/solvente, levando a limitações significativas na classificação da fibra (Williams *et al.*, 2017). No entanto, quantidades moderadas de fibra podem melhorar o desenvolvimento de órgãos, a produção de enzimas e a digestibilidade dos nutrientes em aves domésticas. Alguns desses efeitos são consequências da melhor funcionalidade da moela, com aumento do refluxo gastroduodenal que facilita o contato entre nutrientes e enzimas digestivas. Estes efeitos muitas vezes resultam em aumento do crescimento e da saúde dos animais, mas os benefícios potenciais dependem em grande parte das características físico-químicas da fonte de fibra. Em resumo, as aves domésticas podem necessitar de quantidades mínimas de fibra dietética para o bom funcionamento dos órgãos digestivos (Mateos *et al.*, 2012).

Mateos *et al.* (2012) definem que a quantidade de fibra exigida da alimentação de aves depende das características da fonte de fibra e que, em condições comerciais, os valores de inclusão desse nutriente na dieta de frangos e poedeiras flutuam entre limites de mínimo e máximo para obtenção de um desempenho ideal. Para Hetland *et al.* (2004), o uso de grãos integrais de cereais na alimentação de aves tem sido justificado pelo estímulo da atividade da moela e, aos benefícios dessa maior atividade. De acordo com

esses pesquisadores, a fibra insolúvel da parede celular dos grãos é o componente químico mais importante para estimular a atividade da moela. Gonzalez-Alvarado et al. (2007) observaram que a inclusão de fibra na ração de frangos aumentou o pH e o tamanho da moela e o tamanho do intestino, mas defendem que a magnitude dos efeitos da fibra no desenvolvimento dos órgãos do trato gastrointestinal depende da seção avaliada e difere entre as fontes de fibra utilizadas.

Uma quantidade moderada de fibra insolúvel na dieta pode beneficiar o animal por aumentar a digestibilidade do amido, devido à capacidade dessa fibra de se acumular na moela, o que parece regular a taxa de passagem da digesta e da digestão de nutrientes no intestino (Bertechini, 2000). Essa melhoria na digestibilidade se deve a maior quantidade de ácidos biliares acumulados na moela, observado em aves submetidas a dietas com inclusão de maravalha, indicando um refluxo do duodeno para o proventrículo proporcional a quantidade de material fibroso, no caso, fibra insolúvel na moela. À medida que as fibras permanecem retidas, a digesta presente no duodeno retorna a moela, prolongando a exposição dos alimentos à digestão mecânica e química (Hetland, Svihus e Choct, 2005; Van Krimpen et al., 2009;). Esse aumento do refluxo explica, em parte, a maior digestibilidade do amido, pois como os ácidos biliares são fortes emulsificantes e, os lipídios, quando não emulsionados, interferem com a solubilização de outros nutrientes. A capacidade emulsificante pode ser um fator limitante não só na digestão de lipídios, mas também de outros nutrientes (Hetland, Svihus e Choct, 2005; Amaral, 2014).

As propriedades físico-químicas da fibra variam consideravelmente, dependendo de sua composição e estrutura. Algumas dessas propriedades que influenciam no seu modo de ação *in vivo* incluem tamanho, solubilidade, viscosidade, hidratação, troca catiônica e fermentabilidade da partícula (Potty, 1996).

Os polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são classificados como fibras dietéticas, caracterizados por apresentarem macromoléculas de monossacarídeos, unidos por ligações glicosídicas resistentes às reações de hidrólise enzimática que ocorrem no trato digestório de não ruminantes (Cantor, 1995; Hetland *et al.*, 2004) e sua presença nos grãos e cereais é variável, sendo dependente das características do vegetal e das condições de cultivo (Rosa e Uttapel, 2007; Caprita *et al.*, 2010). São componentes de alto peso molecular presentes nos alimentos (Gruppen, 1996) e podem compreender mais de 90% da parede celular das plantas (Selvendran e Robertson, 1990). De acordo com Choct

(2001), o coeficiente de digestibilidade dos PNAs totais para aves é muito baixo não ultrapassando 12%.

Os PNAs são divididos em três grandes grupos: a celulose (insolúvel em água, álcool ou ácidos diluídos), os polissacarídeos não celulósicos (arabinosilanas, ligações mistas de beta-glucanos, mananos, galactanos, xiloglucanos e fructanas, que são parcialmente solúveis em água) e os polissacarídeos pectínicos (ácidos poligalacturônicos, os quais podem ser substituídos por arabinanos, galactanos e arabinogalactanos, que são parcialmente solúveis em água) (Sakomura *et al.*, 2014) (Figura 1). Existe uma grande variedade de polissacarídeos em sua estrutura e características físicas, Smits e Annison (1996) enfatizam que geralmente estes polissacarídeos não ocorrem isolados nos alimentos para animais.

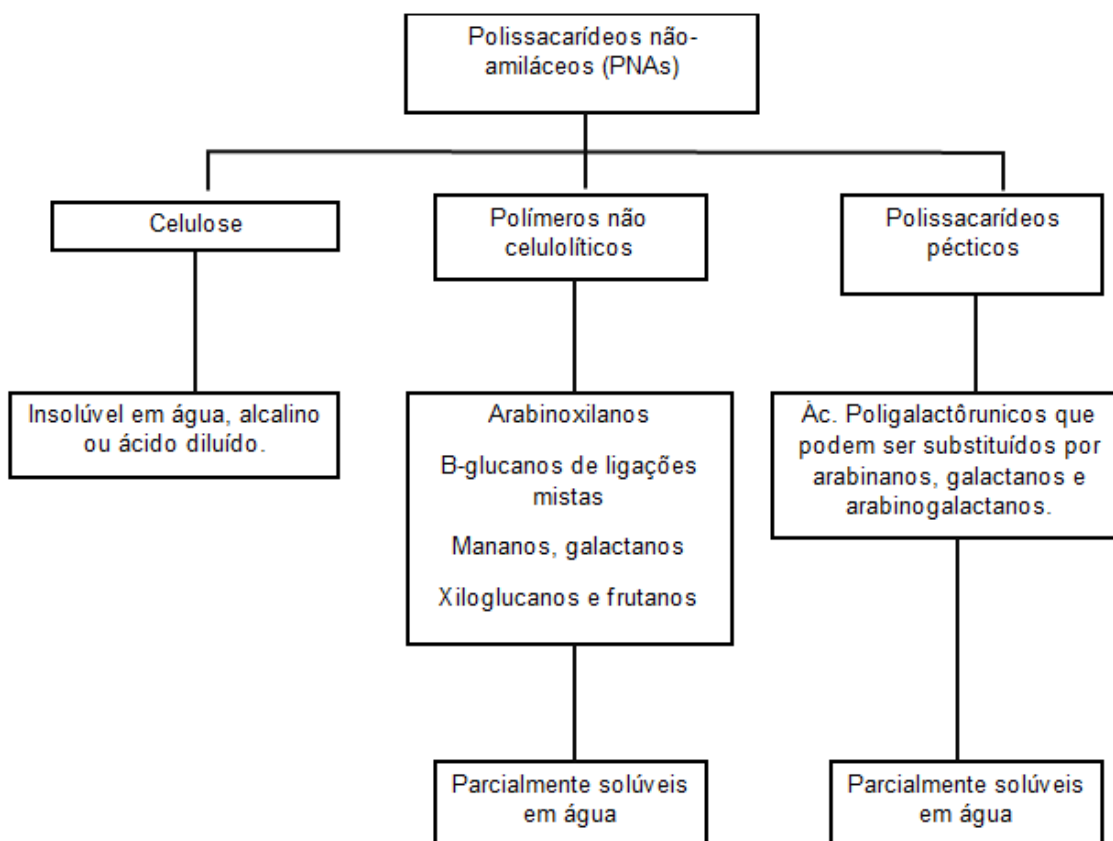


Figura 1. Classificação dos Polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (adaptado de Choct e Kocher, 2000)

Os polissacarídeos são classificados como solúveis e insolúveis em função da capacidade de formar solução homogênea ou não com a água, contudo, muitas das atividades antinutritivas são atribuídas diretamente aos polissacarídeos solúveis apesar de

os polissacarídeos insolúveis também apresentarem efeito na taxa de passagem da digesta e na retenção de água (Lima e Viola, 2001).

A solubilidade dos polissacarídeos não-amiláceos não é determinada somente pela sua estrutura primária, mas também depende de como são ligados a outros componentes da parede celular (Smits e Annison, 1996). De acordo com Bedford (1996), as soluções viscosas agregadas em grandes redes ou estruturas de malha são resultadas da união de vários grandes polímeros. As frações solúveis possuem uma capacidade de formação de redes e de alta retenção de água em comparação as frações insolúveis. Isso explica por que frações como a celulose e xilanos possuem capacidade de reter água, porém a sua viscosidade é relativamente baixa.

Outro fator relacionado à fibra dietética para poedeiras é a diluição da energia da dieta, a inclusão de fontes de fibra na ração implica na redução do teor de energia da mesma, que é um fator determinante na nutrição de poedeiras. Além da importância econômica (a energia representa o componente mais caro da dieta), a poedeira regula o consumo de ração conforme suas necessidades energéticas. Dessa forma, o uso de dietas com menores teores de energia favorece o consumo de ração e, conseqüentemente, dos nutrientes de modo geral, inclusive de cálcio, o que pode trazer benefícios na qualidade dos ovos (Saldaña *et al.*, 2016).

2.2 Fibra solúvel

Quando parcialmente solúveis em água (polímeros não celulósicos e polissacarídeos pécticos) (Araújo *et al.*, 2007), tais como arabinoxilanas, β -glucanas e pectinas podem produzir alta viscosidade no intestino delgado podendo afetar a ingestão de ração devido à menor taxa de passagem, que por sua vez pode causar proliferação microbiana no intestino. Os β - glucanos e as pentosanas solubilizados parecem atuar como uma barreira da difusão dos nutrientes, limitando a taxa de absorção, podendo causar diversos problemas como excretas aquosas, devido à alta retenção de água no trato gastrointestinal dos animais (Tavernari *et al.*, 2010).

As propriedades antinutricionais dos PNAs estão principalmente nas fibras solúveis, que por interagirem com o glicocálix da borda em escova intestinal são capazes de se ligarem à grande quantidade de água, aumentando a espessura da camada de água

na mucosa e, conseqüentemente, a viscosidade da digesta, interferindo no processo de digestão enzimática e interação dos nutrientes com os enterócitos e absorção pela parede intestinal (Moreira *et al.*, 2009). Os efeitos causados pelos PNAs incluem alteração do tempo de trânsito intestinal, modificação na estrutura da mucosa intestinal e mudança na regulação hormonal (Smits e Annison, 1996; Moreira *et al.*, 2009;).

Em um ambiente viscoso, os nutrientes como as gorduras, amido e proteínas, se tornam menos acessíveis e disponíveis às enzimas endógenas e sais biliares (Ferreira, 1994). Essa viscosidade diminui a taxa de difusão de substratos e enzimas digestivas e impede suas interações na superfície da mucosa intestinal (Choct, 2010), levando ao comprometimento da digestão e da absorção de nutrientes. Alterações da viscosidade do conteúdo intestinal das aves oriundas das frações solúveis de β -glucanos e arabinoxilanos, além de comprometerem a digestibilidade da ração, aumentam a umidade e quantidade das excretas, piorando as características da cama, resultando em maior produção de amônia conseqüentemente piora na qualidade do ar e dificuldade de manutenção da cama (Rodríguez-Palenzuela, Garcia e De Blas, 1998).

2.3 Fibra insolúvel

A fração insolúvel da fibra, como a celulose que não é degradada extensivamente pela fermentação bacteriana em aves, é considerada um nutriente diluente, podendo reduzir a concentração de nutrientes da dieta e sendo relacionada ao aumento no tamanho do trato digestório e taxa de passagem do intestino (Hetland, Choct e Svihus, 2004). A maioria dos polissacarídeos não amiláceos faz parte da parede celular dos vegetais e apresenta ligações fortes, associada com outros polissacarídeos e também a outros nutrientes, como as proteínas e a lignina, por exemplo. Essas interações são importantes, pois, possivelmente, irão influenciar no modo como estes polissacarídeos se comportam após a ingestão dos alimentos (Tavernari *et al.*, 2010).

Os PNAs insolúveis também apresentam baixa digestibilidade para animais não ruminantes e ainda podem interferir na digestibilidade de outros nutrientes da dieta, afetando também na taxa de passagem da digesta, devido à ação mecânica da fibra sobre a parede do trato gastrointestinal, aumentando a motilidade e a taxa de passagem, reduzindo conseqüentemente, o tempo de ação das enzimas sobre a digesta (Andriguetto

et al., 2002). Podem encapsular alguns nutrientes dentro da matriz das paredes celulares vegetais (Hopwood *et al.*, 2004) e possuem forte capacidade de ligação iônica com elementos minerais fazendo com que as dietas ricas em fibra interfiram negativamente na absorção de minerais (Arruda *et al.*, 2003), sobretudo com a presença de lignina, que apresenta forte capacidade de ligação iônica em sua superfície com os elementos minerais, podendo além de alterar a absorção desses elementos, afetar as ligações dos microrganismos aos polissacarídeos estruturais, interferindo a sua taxa de digestão (Ferreira, 1994).

Associados ou não, os diferentes tipos de fibras podem diminuir a digestão e a absorção dos lipídios dietéticos, sequestrar os ácidos biliares, aumentar a produção de ácidos graxos de cadeias curta no cólon devido à fermentação, e/ou diminuir a porcentagem de ácidos biliares primários na bile (Silva, Morita e Boleli, 2012). Contudo, em trabalhos descritos por Gonzáles *et al.* (2007) verificou-se que, independente da diluição nutricional provocada pela fibra nas dietas, a inclusão moderada de fibra na ração de aves aumenta os órgãos digestivos, alterando seu desenvolvimento e provocando aumento da secreção de HCL, ácidos biliares e enzimas (Svihus, 2011) melhorando a digestibilidade de nutrientes e desempenho animal (Amerah, Ravindran e Lentle, 2009; González-Alvarado *et al.*, 2010).

Fibras insolúveis, como da maravalha, casca de cereais, cascas de girassol e aveia podem aumentar o tempo de retenção na parte superior do sistema digestório e estimular o desenvolvimento de moela e produção de enzimas endógenas, melhorando a digestibilidade do amido, lipídios e outros componentes dietéticos (Hetland, Svihus e Choct, 2004 e 2005).

2.4. Microbiota intestinal de poedeiras comerciais

O trato gastrointestinal (TGI) de aves é composto pelo bico, faringe, esôfago, papo, proventrículo, moela, duodeno, jejuno, íleo, ceco e cloaca. Além do fígado e pâncreas como órgãos anexos ao TGI por secretarem substâncias que auxiliam no processo de digestão. A moela, além de participar do processo de digestão mecânica dos alimentos, atua como uma barreira microbiana devido ao seu pH baixo. O duodeno recebe enzimas digestivas dos ductos biliares e pancreáticos e a principal função do íleo é a absorção de

nutrientes (Stanley *et al.*, 2015). O trato gastrointestinal das aves é preenchido por um grande número de microrganismos (Barnes *et al.*, 1972), que constitui a primeira linha de defesa do hospedeiro, participando da regulação da permeabilidade celular, da expressão de genes de células caliciformes e da secreção de peptídeos antimicrobianos (Laparra e Sanz, 2010). O equilíbrio do microbioma intestinal é de suma importância já que confere benefícios ao hospedeiro, como a produção de dissacaridases no epitélio intestinal (Kazakova *et al.*, 2006; Sommer e Bäckhed, 2013), motilidade do trato (Husebye *et al.*, 2001; Barbara *et al.*, 2005;), resistência contra patógenos intestinais (Buchon *et al.*, 2009), afeta os metabolismos lipídico e energético e a absorção de glicose pelo hospedeiro, além de fornecer fonte extra de vitaminas e minerais (Hrdina *et al.*, 2009; Kau *et al.*, 2011; Giolda e Di-Rita, 2012).

Dentro do contexto existem ainda as bactérias patogênicas que podem causar: diarreias, infecções, distúrbios hepáticos, carcinogênese, putrefação intestinal, redução da digestão e absorção de nutrientes (Maiorka *et al.*, 2003; Furlan, Macari e Luquetti, 2004).

Apesar da composição microbiana do trato gastrointestinal das aves ainda não ter sido amplamente definida (Stanley *et al.*, 2015), estima-se que a microbiota intestinal seja composta por mais de 800 espécies de bactérias (Laparra e Sanz, 2010). De acordo com Gedek (1989), existe uma microbiota natural no trato gastrointestinal composta de aproximadamente 400 espécies em equilíbrio entre si e com o hospedeiro. Estima-se que 90% da microbiota seja constituída por bactérias consideradas benéficas (aeróbicas/anaeróbicas) e produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp.), incluídas as bactérias exclusivamente aeróbicas como os *Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp. e *Eubacterium* spp. que atuam para inibir o crescimento de bactérias patogênicas, estimular o sistema imunológico, sintetizar vitaminas, reduzir a produção de gás e melhorar a digestão e absorção de nutrientes (Oliveira *et al.*, 2017). Os 10% restantes dessa microbiota são constituídos de bactérias consideradas nocivas ao hospedeiro, entre estas, a *Escherichia coli*, *Escherichia enterococci*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp. e *Blastomyces* spp.

As bactérias estão presentes em diferentes nichos do trato gastrointestinal, incluindo o lúmen, a camada de muco e a superfície da mucosa (Russell, 1979). A composição da microbiota (quantidade e proporção de cada gênero) varia de acordo com a idade, o estado fisiológico, a região do intestino, o uso de antimicrobianos, o sistema de criação,

bem como a composição da dieta, especialmente, a presença e a natureza da fibra dietética, que é o principal substrato bacteriano (Montagne *et al.*, 2003; Mancabelli *et al.*, 2016). A diversidade tende a aumentar durante as primeiras semanas de vida, podendo diferir entre poedeiras e linhagens de corte. Em segundo lugar, verificou-se que os fatores ambientais, como o nível de biossegurança, características do alojamento, tipo de cama, acesso a alimentação e ambiência também possuem efeito sobre a composição da microbiota intestinal (Kers *et al.*, 2018).

Com um dia de idade pintinhos já carregam uma comunidade de microrganismos em seu trato intestinal (Ballou *et al.*, 2016). Os microrganismos podem ser adquiridos na fase pré-incubação, diretamente a partir da microbiota encontrada no oviduto da galinha (Gantois *et al.*, 2009) ou pelo ambiente através dos poros na casca do ovo (Roto *et al.*, 2016). Entre 2-4 dias pós-eclosão observa-se no intestino delgado principalmente cepas de *Streptococcus* e *Enterobacteria*, e, após uma semana, *Lactobacillus* que se mantém ao longo da vida do animal, e ainda microrganismos anaeróbios, como *Escherichia coli*, *Bifidobacteria* e *Bacteroides*, que predominam nos cecos (Amit-Romach, Sklan e Uni, 2004). Em animais adultos, predominam as bactérias Gram-positivas, principalmente *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp. e em menor quantidade são encontradas as bactérias consideradas nocivas ao hospedeiro, dentre as quais se tem: *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp, *Blastomyces* spp. (Lee *et al.*, 2002).

De acordo com Mead (2000), uma população bacteriana similar a que é encontrada do animal adulto estará presente em duas semanas no intestino delgado e em cerca de 30 dias no cecos. Por possuírem funções e características morfológicas distintas nos segmentos do trato gastrointestinal espera-se que os microrganismos presentes sejam específicos em cada local de colonização. Cada espécie colonizará o segmento ao qual estiver mais adaptada (Simon e Gorbach, 1984).

Existem muitos relatos que descrevem as espécies que compõem a microbiota de diferentes segmentos do trato gastrointestinal, sendo improvável a existência de uma microbiota típica, já que existem diversos fatores que afetam de maneira diferente as espécies bacterianas como: a composição do alimento, condições ambientais, presença de patógenos (Gabriel *et al.*, 2006), taxa de passagem, secreção de ácido

clorídrico, barreira mucosa, imunoglobulinas, auto regulação da população bacteriana, agentes antimicrobianos endógenos e exógenos. Além das espécies bacterianas que estão presentes no trato gastrointestinal, existem as que estão em menor número, como as contaminantes e as transeuntes, oriundas da cavidade oral e da dieta (Savage, 1977).

Aproximadamente 85% dos organismos isolados do duodeno, jejuno, íleo e ceco são Gram-positivos. A maioria das bactérias do intestino delgado são anaeróbias, ao passo que as bactérias anaeróbias estritas incluem a maior parte da microbiota, tanto do cólon quanto do ceco (Salanitro et al., 1978; Lancini, 1994).

A composição e proliferação microbiana difere de acordo com a porção do TGI que está sendo avaliado. Engberg et al. (2000) verificaram aumento no número de bactérias do duodeno para o jejuno e desse para o íleo de frangos de corte. Logo concluí-se que o intestino delgado possui menor quantidade de microrganismos em virtude das condições desfavoráveis para esse tipo de microrganismo. Já na parte posterior do intestino delgado as condições tornam-se mais favoráveis, porém ainda com diversidade menor que o ceco. Neste local, o maior tempo de permanência da ingesta faz com que o número e a diversidade de microrganismos elevem-se de maneira expressiva, com predominância de populações anaeróbias estritas (Gong *et al.*, 2007). Salanitro et al. (1978) descreveram que no intestino delgado os microrganismos predominantes são *Escherichia coli* e espécies de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Lactobacillus*, além das espécies de *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Geminger formicilis* e *Fusobacterium* (Figura 2).

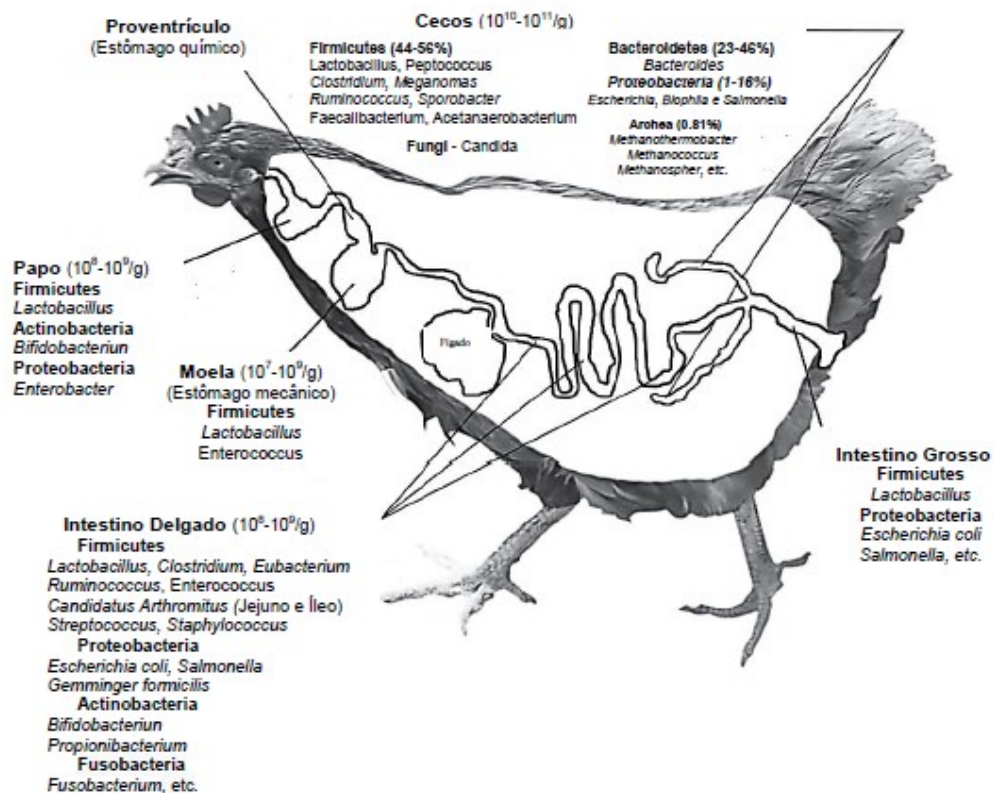


Figura 2 - População bacteriana presentes ao longo do trato gastrointestinal de frangos. Fonte: Romano (2017)

De acordo com Silva e Alves Filho (2000), os principais gêneros de bactérias identificados na microbiota cecal das aves são *Bacterioides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Citrobacter* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia* spp., *Eubacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Ruminococcus* spp., *Serratia* spp., *Veillonella* spp., *Streptococcus* spp., dentre outros. Sendo as bactérias anaeróbicas e Gram positiva predominantes neste segmento (Mead, 2000). E desempenha papel importante na degradação de alguns carboidratos (Jørgensen et al., 1996; Jamroz et al., 2002), síntese de vitaminas (Coates et al., 2002), metabolização do colesterol (Tortuero et al., 1975) e degradação de compostos nitrogenados (Barnes et al., 1972). Resumindo a principal função do ceco é a fermentação de nutrientes (Clench e Mathias, 1995).

Entretanto, apenas 10 a 60% dos microrganismos do ceco podem ser propagados usando técnicas anaeróbicas de cultivo, uma vez que a grande maioria dos microrganismos têm suas exigências nutricionais desconhecidas, dificultando a criação de meios de cultura enriquecedores e/ou seletivos. Dessa forma, a implementação de métodos como a abordagem metagenômica, que associam a aquisição de DNA total independentemente de cultivo a mecanismos computacionais, mostra-se necessária para a definição da comunidade microbiana (Zhu *et al.*, 2002).

Zhu *et al.* (2002) realizaram levantamento da microbiota cecal por meio da recuperação de sequências de genes do rRNA 16S a partir de DNA isolado tanto do conteúdo como da mucosa cecal. Foram encontradas 1.656 sequências de nucleotídeos que representaram 50 grupos filogenéticos ou subgrupos de bactérias. Por outro lado, Callaway *et al.* (2009), utilizando método independente de cultivo, encontraram 107 gêneros bacterianos no conteúdo cecal de poedeiras, sendo que o gênero mais prevalente no ceco das aves foi *Bacteroides*, que representou mais de 37% do total de leituras; outros gêneros encontrados no ceco foram *Prevotella* (anteriormente classificados como *Bacteroides*), *Clostridium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Phascolarctobacterium* e *Ruminococcus*, dentre outros.

2.5. Microbiota intestinal e a simbiose com o hospedeiro

Muitas vezes a simples descrição dos componentes da microbiota não oferece uma ideia real da relação entre si e com o hospedeiro, logo o conhecimento da composição da microbiota intestinal é importante para saber como estão ocorrendo as interações entre a microbiota e o hospedeiro (Cunningham, 1992; Apajalahti; Kettunes; Graham, 2004).

A comunidade microbiana, incluindo a comensal, microrganismos simbióticos e patogênicos que colonizam uma área de um animal é conhecido como microbiota. A microbiota intestinal tem uma população altamente dinâmica que auxilia o hospedeiro em várias funções importantes, incluindo resistência à colonização de patógenos, desenvolvimento do sistema imunológico e nutrição. Portanto, as interações hospedeiro-microbiota no TGI desempenham papel fundamental para manter a saúde intestinal e promover o uso eficiente de alimentos pelas aves (Dominguez-Bello *et al.*, 2010; Fouhse *et al.*, 2016; Díaz Carrasco *et al.*, 2019).

Quando ocorre o equilíbrio entre a ave e a microbiota intestinal, seja nos tipos bacterianos, ou em quantidade e distribuição no trato gastroentérico, observa-se efeito simbiótico com efeito positivo para o desempenho zootécnico (Apajalahti; Kettunes; Graham, 2004). Esse equilíbrio também contribui para a exclusão e/ou competição com bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Salmonella* (Savage, 1977), seja por meio de inibição direta, pela produção de bacteriocinas (Cotter, Ross e Hill, 2013) ou por meio da competição por nutrientes (Deriu *et al.*, 2013). Sabe-se que alterações nas populações que colonizam o trato gastrointestinal, como ocorrida durante e após antibioticoterapias, podem tornar o indivíduo mais sensível a infecções (Leslie e Young, 2015).

Com relação à digestão, a microbiota presente no ceco contribui com a fermentação dos componentes fibrosos presentes na dieta. Os principais produtos da fermentação da fibra dietética são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), predominantemente acetato, propionato, butirato, lactato e succinato, além de água, vários gases (CO₂, H₂, CH₄) e biomassa celular bacteriana (Jørgensen *et al.*, 1996; Jamroz *et al.*, 2002; Montagne *et al.*, 2003). Os AGCC podem suprir de 5% a 10% das necessidades energéticas das aves e são utilizados pelo hospedeiro de diferentes maneiras, sendo que cada um deles desempenha um papel específico. O acetato é transportado para o fígado e, posteriormente, atua como substrato de energia para o tecido muscular. O propionato é convertido em glicose no fígado. O butirato é utilizado principalmente como fonte de energia pelas células do epitélio intestinal onde são produzidos (Montagne *et al.*, 2003). Além da produção de energia, os AGCC nos cecos das aves podem fornecer outros benefícios. Van der Wielen *et al.* (2000) demonstraram que a alta atividade de fermentação nos cecos de frangos foi correlacionada com menor valor de pH e isso pode inibir a proliferação de algumas bactérias patogênicas. Enfim, os AGCC, sendo absorvidos na forma de sais hidratados, contribuem para a absorção de sais minerais e água.

Os AGCC resultantes dos processos de fermentação parecem ter efeito bacteriostático sobre algumas bactérias entéricas, especialmente da família Enterobacteriaceae, mas não inibem bactérias benéficas, como *Lactobacillus* spp. (Van der Wielen *et al.*, 2000). Dessa forma, os AGCC produzidos pela atividade fermentativa da microbiota têm sido amplamente estudados como potenciais moduladores da virulência de agentes patogênicos, como *Salmonella* (Ricke, 2003). Esses estudos

sugerem que a capacidade de fermentação, a concentração de AGCC no trato gastrointestinal das aves e as mudanças de pH podem influenciar a invasão por *Salmonella* spp. (Durant *et al.*, 2000; Dunkley *et al.*, 2009).

Portanto, o desequilíbrio da microbiota intestinal com alteração na população de microrganismos é chamado de disbiose e são diversas as condições que a favorecem, como: estresse, jejum alimentar ou hídrico prolongado e infecções virais, provocando desequilíbrio da flora com proliferação de microrganismos indesejáveis (Visek, 1978; Miles, 1993; Tannock, 1998; Hume *et al.*, 2003).

2.6 Características das principais bactérias encontradas em aves

2.6.1 *Lactobacillus* spp.

O gênero *Lactobacillus* corresponde a um bacilo ou cocobacilo Gram-positivo que faz parte da microbiota intestinal tanto de animais quanto de humanos. As espécies pertencentes a este gênero são amplamente encontradas na natureza e são adicionadas a muitos produtos alimentícios pelo seu valor como probiótico (Stephenson, Moore e Allison, 2010). Estas bactérias possuem a capacidade de ativar o sistema imunológico intestinal e aumentar a resistência às doenças, em parte por meio da liberação de peptídeos de baixo peso molecular que induzem a ativação imune (Muir *et al.*, 2000). Além disso, estas bactérias também podem produzir grande variedade de AGCC, que são bacteriostáticos para um subconjunto de espécies bacterianas, seja diretamente ou reduzindo o pH do ambiente intestinal, produzir bacteriocinas com propriedades microbianas ou microbiostáticas e contribuir para a resistência à colonização de microrganismos, modificando os receptores usados pelas bactérias patogênicas (Rinttila e Apajalahti, 2013).

Entre as vantagens dos *Lactobacillus*, podemos citar: auxílio na imunidade, ao estimular a secreção de imunoglobulina IgA intestinal (Andreatti-Filho, 2007), secreção de lactato, acetato, succinato e etanol, os quais auxiliam na proliferação de bactérias benéficas como *Veillonella* spp., *Bacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp. (Kalavathy *et al.*, 2003; Pelicano *et al.*, 2007; Barros *et al.*, 2009).

2.6.2 *Bacteroides spp.*

O gênero *Bacteroides* representa bactérias Gram-negativas, anaeróbias, cocos de tamanhos variados, imóveis, sendo isoladas principalmente de ambientes anaeróbios como trato entérico, cavidade oral e lesões purulentas. Estão presentes no ceco, possuem papel fundamental no desenvolvimento e continuidade da funcionalidade intestinal e no sistema imunológico (Garcia *et al.*, 2012), mas também podem ser um importante agente patogênico, principalmente quando há condições predisponentes, como lesão na mucosa intestinal (Kandler e Weiss, 1986).

2.6.3 *Bifidobacterium spp.*

Gram-positivas, anaeróbias estritas, não formadores de esporos, sem flagelos e que apresentam forma de bastonete curvo, caracterizadas frequentemente por bifurcação em forma de Y (Uni, 2004). Com temperatura ótima para crescimento entre 37 e 41° C e pH entre 6 e 7 (Gomes e Malcata, 1999). O seu “habitat” natural é o intestino delgado e grosso, sua população sofre a influência de fatores exógenos como a dieta, estresse e antimicrobianos (Amit-Romach *et al.*, 2004). Digerem oligossacarídeos não digeríveis no ceco por meio de fermentação, usando-os como fonte de carbono e energia (Gomes e Malcata, 1999). Dentre os efeitos benéficos relacionados aos *Bifidobacterium spp.* podem ser apontados: estímulo/fortalecimento do sistema imunológico devido à ativação da proliferação dos macrófagos; controle de infecções intestinais (Rasic e Kurmann, 1983; Misra e Kuila, 1992; Duncan e Edberg, 1995); atividade anticarcinogênica e auxílio na digestão e absorção de nutrientes por agirem nos sais biliares (Wijsman, Hereijgers e Groote, 1989; Leahy *et al.*, 2005; Andreatti Filho, 2007). Além disso, as bactérias do gênero *Bifidobacterium spp.* estimulam a produção de vitamina do complexo B, auxiliam na restauração da microbiota após antibioticoterapia (Leahy *et al.*, 2005; Andreatti Filho, 2007a) e na redução do pH do meio intestinal, devido à atividade antibacteriana decorrente da produção de ácido lático e acético a partir de açúcares (Bergogne-Berezin, 1989; Misra e Kuila, 1992; O’Sullivan *et al.*, 1992; Vijayendra e Gupta, 1992; Ishibashi e Shimamura, 1993).

2.6.4 *Fusobacterium spp.*

Fusobacterium são bactérias anaeróbias, Gram-negativas pertencentes à família Bacteroidaceae. Não formadoras de esporos, imóveis e cocos que podem ser ou não fusiformes, e geralmente muito pleomórficas. Bactérias desse gênero fazem parte da microbiota normal, habitando o ceco das aves, mas assim como os Bacteroides, podem ser patogênicas, caso haja condições predisponentes (Hampson *et al.*, 2010). Porém sua característica benéfica se dá ao competir com *Salmonella* spp. por sítios de ligação no intestino (Brown, Rottinghausge e Williams, 1992; Apajalahti, Kettunes e Graham, 2004).

2.6.5 *Salmonella spp.*

Pertencentes à família Enterobacteriaceae compreendem microrganismos patogênicos, bacilos Gram-negativos, aeróbios e anaeróbios facultativos, desenvolvendo-se bem à temperatura de 37°C. Estes microrganismos não produzem esporos, altamente adaptados aos hospedeiros (Shivaprasad, 2000), não fermentam lactose (Chambers, Spencer e Modler, 1997; Corrier *et al.*, 1999). A maioria é móvel, apresenta flagelos peritríquios, com exceções da *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum*, que são imóveis (Berchieri Júnior e Freitas Neto, 2009). Existem cerca de 2.610 sorovares já identificados (CDC, 2011).

Bactérias do gênero *Salmonella* podem ocorrer em equilíbrio na microbiota intestinal, sem produzir qualquer efeito maléfico ou sinais clínicos, sem nenhum efeito maléfico, mas quando em situação de desequilíbrio pode levar a alterações intestinais e septicêmica (Andreatti-Filho, 2007b). Possuem predileção pelo trato intestinal, mas podem causar doença sistêmica, acompanhada por lesões entéricas (Porter-Jr, 1998), causando a enfermidade denominada salmonelose.

Alguns sorotipos são mais específicos quanto ao hospedeiro e podem causar infecção mais limitada no hospedeiro natural do que nos demais (Lorenzoni, 2010). Nas aves, essas bactérias podem causar três doenças distintas que são pulrose causada por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar *Pullorum*, o tifo aviário cujo agente causador *Salmonella enterica* sorovar *Gallinarum* e a paratifo aviário que é causada por

qualquer outro sorovar, exceto Pullorum e Gallinarium. No paratifo causado por *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Thyphimurium* pode ocorrer diarreia profusa que, por sua vez promove empastamento da cloaca. As lesões macroscópicas não são patognomônicas, podem ocorrer focos necróticos na mucosa intestinal, enterite, tiflíte com espessamento da mucosa cecal, com conteúdo caseoso de coloração branca (Berchieri Júnior e Freitas Neto, 2009).

2.6.6 *Clostridium spp.*

Bactérias anaeróbicas, Gram-positivas, móveis, ocorrem em pares ou em cadeias curtas e são formadores de esporos resistentes ao meio ambiente, produzem toxinas que são as responsáveis por causar doença (Revolledo, 2009). Podem ser isolados do jejuno e do íleo de frangos de corte, sem apresentarem sinais clínicos de enterite (Barrios *et al.*, 2013).

As espécies de *Clostridium* de importância para as aves que levam a alterações intestinais são: *Clostridium colinum* que causa enterite ulcerativa, principalmente em aves jovens (Berchieri Junior *et al.*, 2009; Revolledo, 2009) e *Clostridium perfringens* que participa da microbiota intestinal normal de aves, porém, alguns fatores como mudanças bruscas na alimentação, estresse, salmoneloses, micotoxinas e coccidiose fazem com que este microrganismo se reproduza rapidamente produzindo toxinas que causam lesões ulcerativas e necrose da mucosa intestinal levando a uma doença conhecida como enterite necrótica (Saif e Brazier, 2008).

Aves que sobrevivem à fase aguda apresentam alterações inflamatórias, seguidas de necrose e ulceração, no intestino e no ceco, que vão apresentar material de coloração escura. No exame microscópico é possível observar descamação do epitélio da mucosa, edema da parede intestinal e infiltração linfocitária, vilos com áreas de necrose que podem se estender até a submucosa (Wages, 2008). Por compor a microbiota normal, precisam de fatores para desencadear a enterite necrótica, estes são principalmente a alteração da dieta com a retirada de promotores de crescimento e também infecção concomitante com coccídeos (Revolledo, 2009).

As lesões macroscópicas geralmente estão limitadas ao intestino delgado,

principalmente no jejuno e íleo, podendo afetar também o ceco. A forma mais branda da doença é caracterizada por áreas focais de necrose da mucosa intestinal, com diminuição do desempenho, com ou sem sinais clínicos presentes. Em formas mais graves, o intestino fica friável, distendido com a presença de gás e pode ocorrer a formação de uma membrana diftérica devido à enterite fibrinonecrótica. Na microscopia é observada lesão no ápice das vilosidades e perda de células epiteliais, necrose da mucosa intestinal, com uma abundância de fibrina, misturado com resíduos celulares aderidos na mucosa. Em casos graves pode atingir a submucosa, lâmina própria e muscular da mucosa, com acúmulo de bacilos nas lesões, associados aos detritos celulares (Opengart, 2008). Outro aspecto importante do *Clostridium perfringens* é a resistência aos antibióticos utilizados na avicultura. Em um estudo realizado para determinar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos em 125 amostras, foi observado 100% de resistência à gentamicina, estreptomicina, ácido oxolínico, lincomicina, eritromicina e espiramicina. Além disso, para outros antibióticos a resistência em ordem decrescente foi de 98% para doxiciclina e para trimetoprim-sulfametoxazol, 93% para neomicina, 82% para enrofloxacina, 71% para oxitetraciclina, 67% para norfloxacina, 58% para ciprofloxacina, 50% para espectinomicina e 34% para rifampicina (Osman e Elhariri, 2013).

2.6.7 *Campylobacter* spp.

O gênero *Campylobacter* spp. contém 16 espécies, constitui-se de bactérias Gram-negativas, microaerófilas (crescem em baixa concentração de oxigênio) encurvadas ou em forma de S; espiraladas com um único flagelo polar, com característica de “sacarolhas” não esporuladas; podem apresentar também forma filamentosa ou cocóide nos cultivos velhos, geralmente móveis, quimiorganotróficos, metabolismo respiratório, desprovidos de lipase (Vandamme *et al.*, 1991; Zhang, 2008), incapazes de utilizar açúcares (nem oxidação nem fermentação), oxidase positiva, catalase variáveis e não hidrolisam a gelatina nem a ureia (com exceção as linhagens atípicas do *C. lari* e linhagens do *C. sputorum* biovar *Paraureolyticus*).

Os membros desse gênero são organismos entéricos que vivem em comensalismo no intestino das aves, sendo bem adaptados ao hospedeiro. Apesar de extensa colonização, determinam pouca ou nenhuma doença clínica na ave, geralmente não

sendo patogênicos. Sua importância está relacionada principalmente à segurança dos alimentos e a saúde pública, além disso, sendo bactérias que se tornaram resistentes aos antimicrobianos (Zhang, 2008). Fatores estressantes, imunossupressão e doenças intercorrentes, podem levar a quadro clínico da doença, assim como a sintomatologia depende da cepa e da dose infectante. Os principais sinais clínicos apresentados pelas aves são depressão, redução do ganho de peso, anemia, icterícia e diarreia. As lesões anatomopatológicas incluem enterite catarral hemorrágica e intestino distendido com acúmulo de muco e fluido (Balian, 2009).

2.6.8 *Escherichia coli*

Pertencem à família Enterobacteriaceae, se caracteriza como bastonete Gram-negativo, anaeróbicos facultativos, em sua maioria são móveis com flagelo peritricóquos e não produzem esporos. A temperatura ideal de crescimento é de 37°C, pertencem a microbiota entérica normal de mamíferos e aves (Ferreira e Knöbl, 2009). Pode ser encontrado ao longo do trato gastrointestinal das aves em concentrações acima de 10⁶ UFC/g de excretas, podendo esse número ser elevado em aves jovens, o qual a microbiota não está totalmente estabelecida (Bumstead, Huggins e Cook, 1989; Leithner e Heller, 1992; Onyango, Bedford e Adeola, 2005) A maioria das *E. coli* é considerada comensal, pois não apresentam qualquer gene de virulência (Chernaki-Leffer *et al.*, 2002). No entanto, estudos comprovam que, apesar de ser considerada comensal, *Escherichia coli* é potencialmente causadora de doença, principalmente em animais imunossuprimidos (Kariyawasam *et al.*, 2006).

Não é comum a infecção no intestino por *Escherichia coli*, sendo mais notada as infecções localizadas extra intestinais, contudo, a bactéria pode ser agente etiológico primário em causa de diarreia (Christensen *et al.*, 2006). Assim, infecção por *E. coli* ocorre de forma localizada, causando celulite, onfalite, salpingite, síndrome da cabeça inchada e coligranuloma que consiste em granulomas em diversos órgãos, como fígado, mesentério e duodeno (Ferreira *et al.*, 2009).

2.7 Fatores que afetam o microbioma das aves

A microbiota do TGI é composta por diversas espécies distribuídas em vários segmentos temporários, conhecido como metacomunidade (O'Dwyer *et al.*, 2012). A estrutura da espécie dentro de qualquer segmento depende de dois processos conectados. Um processo é a colonização microbiana externa, que está relacionada com o ambiente, que adiciona continuamente espécies a uma comunidade local. O outro processo envolve o destino desses microrganismos à medida que os novos indivíduos que chegam persistem ou são perdidos, dependendo de interações ecológicas dentro dos segmentos (por exemplo, entre os microrganismos ou entre o hospedeiro e a microbiota). Os mecanismos que governam a colonização da microbiota intestinal são muito complexos, mas esse conhecimento é fundamental para compreender os resultados potenciais de diferentes intervenções (Haiser e Turnbaugh 2012; Wong e Rawls 2012; Atarashi *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2015). Conseqüentemente ambos os processos (colonização e persistência), que são altamente conectados e mutuamente dependentes, são afetados pela genética, alimentação, condições ambientais, o tipo de sistema de criação e até mesmo o sexo das aves (Figura 3).

A microbiota intestinal consome cerca de 20% da energia presente na dieta, podendo ser considerado um órgão altamente metabólico. Inclui principalmente bactérias, fungos, protozoários e vírus. No entanto, ainda existe um grande número de bactérias no intestino que são desconhecidos e não classificados (Gong *et al.*, 2007; Wei *et al.*, 2013), e sua abundância e diversidade variam entre as diferentes regiões do TGI.

A composição da dieta é um dos principais fatores que afeta a persistência dos microrganismos, já que podem fornecer substâncias que podem viabilizar ou impedir a reprodução microbiana (Hildebrandt *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2019). O tempo do trânsito intestinal também interfere na composição da microbiota, já que afeta a taxa na qual os microrganismos são perdidos via excreção através das fezes (Smith *et al.*, 2019). O uso de fibras na dieta de aves ainda não está totalmente estabelecido, porém já é sabido que a sua inclusão na dieta pode melhorar a digestão, o desenvolvimento de órgãos, especialmente a moela, aumentam os ácidos biliares e a secreção de enzimas e modulam a microbiota. Essas mudanças resultam em melhorias na utilização de nutrientes, desempenho e, eventualmente, saciedade e bem-estar animal (Mateos *et al.*, 2012). Além disso, as fibras podem afetar positivamente a saúde intestinal, prevenindo a adesão de

populações bacterianas patogênicas específicos para a mucosa epitelial (Jha *et al.*, 2019). Também podem modificar o crescimento e a composição da microbiota. Muitas fibras solúveis funcionam como prebióticos, promovendo diretamente o crescimento de bactérias intestinais benéficas e produção de AGCC (Sadeghi *et al.*, 2015; Dunislawska *et al.*, 2017; Rajendran *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2019). O que foi observado por Amaral (2018), na qual a inclusão de polpa de beterraba reduziu a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/g) no meio MacConkey em comparação com a inclusão de lignocelulose. A autora justifica que a fibra solúvel entra no ceco mais facilmente e tem maior suscetibilidade à fermentação, podendo exercer maior efeito sobre a microbiota.

O desenvolvimento da microbiota intestinal inicia no momento da eclosão; bactérias podem ser obtidas do ambiente, da matriz, da ração e dos trabalhadores que manuseiam os pintinhos no pós-eclosão. Além disso, estas bactérias são colonizadas rapidamente dentro de 24 horas enquanto o íleo e o ceco são dominados um dia pós-eclosão (Yadav e Jha, 2019). O número de bactérias no intestino delgado e grosso aumenta dez vezes após três dias. A microbiota adulta do intestino delgado e cecal estará totalmente desenvolvida dentro de um mês. Mas, o tempo para o estabelecimento de uma microbiota intestinal estável pode ser reduzido otimizando as condições de reprodução e qualidade da alimentação (Choct, 2009). Assim, estudos têm buscado a modulação da microbiota intestinal por programação nutricional em aves de produção, tanto no período de vida pré-eclosão como pós-eclosão (Jha *et al.*, 2019). Zhang *et al.* (2020) observaram que aves que foram alimentadas com 5mg/ovo de quitto-oligossacarídeo (COS) in ovo apresentaram aumento da população bacteriana benéfica em comparação com o grupo controle.

Walugembe *et al.* (2015) relataram que o aumento da fibra dietética diminuiu o ácido butírico sem trazer nenhuma alteração em outras concentrações dos AGCC, enquanto o ácido propiônico e ácido acético não variaram com a alimentação de alta ou baixa fibra. A análise do microbioma cecal mostrou que a dieta pobre em fibras diminuiu a abundância do gênero *Bacteriodes* em galinhas poedeiras.

A composição química do próprio sistema digestivo é um dos principais componentes que afetam a presença da microbiota intestinal. Os microrganismos benéficos preferem um baixo pH e flutuações ou deficiências de nutrientes podem levar

ao aumento da colonização por microrganismos patogênicos. E mais uma vez a fibra presente na dieta possui impacto na composição química do intestino (Akbarian *et al.*, 2019). As espécies de *Lactobacillus* são particularmente benéficas na manutenção do pH do sistema digestivo pois produzem ácidos lático e acético, que ajudam a diminuir o pH (Dunislawska *et al.*, 2017). Baixa a moderada quantidade de amido resistente impacta positivamente a produção de HCl, ácidos biliares e secreções de enzimas pelo trato digestivo, que auxilia no crescimento e manutenção do microbiota intestinal (Mateos *et al.*, 2012).

Outro ponto que deve ser levado em consideração é a interação entre os microrganismos, já que a permanência e persistência de um certo microrganismo no TGI depende fortemente de interações com outros microrganismos. Todas as bactérias necessitam de uma fonte de energia, o que pode levar a competição por nutrientes, além da possibilidade de um produto do metabolismo de uma cepa poder ser utilizado na nutrição de outra, esse processo é denominado alimentação cruzada metabólica (Smith *et al.*, 2019).

Como conceito geral, é importante considerar que as características de uma comunidade são moldadas por fatores ambientais, além da evolução dinâmica dessas interações, já que existem diversos fatores que resultam em mudanças dentro da comunidade microbiana com consequências importantes para o hospedeiro.

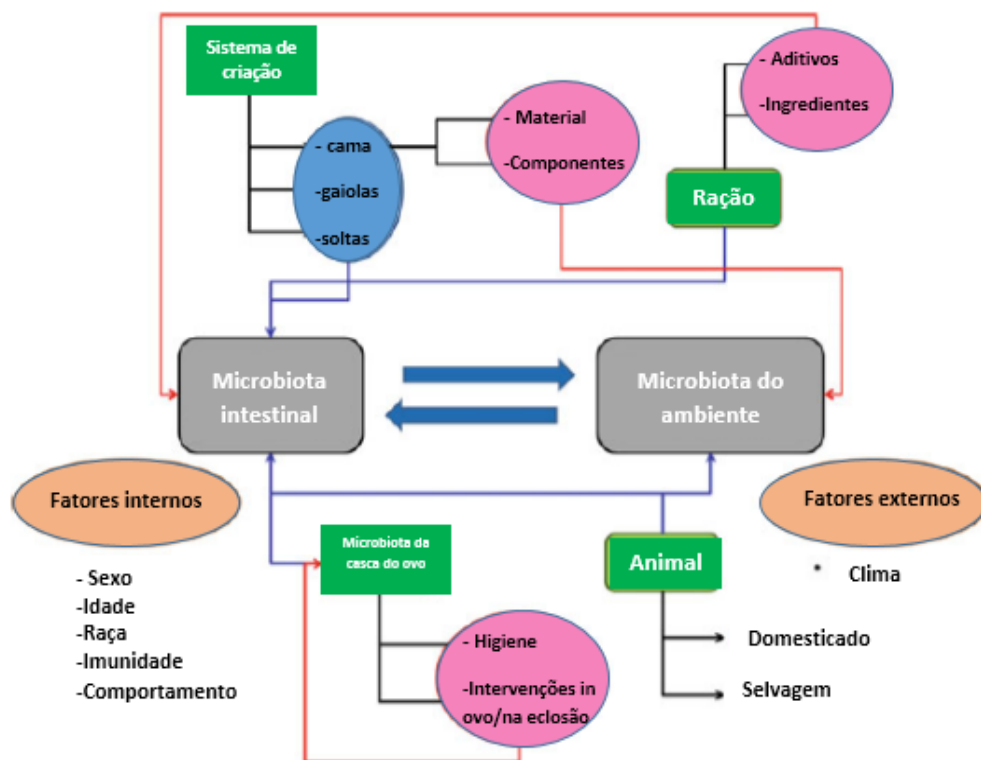


Figura 3. Contribuições do hospedeiro e do ambiente para a microbiota intestinal e suas possíveis interações dentro dos sistemas de criação. Adaptado de Kogut e Zhang, 2022.

O TGI é um sistema altamente sensível e modulável, colonizado por um sistema altamente dinâmico, logo condições atuais não fornecem características a longo prazo. O local do organismo e a idade das aves são importantes durante o desenvolvimento da microbiota bacteriana (Glendinning *et al.*, 2017; Kers *et al.*, 2018; Johnson *et al.*, 2018). O desenvolvimento inicial da microbiota intestinal em aves foi associado à produtividade e à saúde geral, já que as bactérias adquiridas imediatamente após a eclosão são cruciais para o desempenho e resistência a doenças infecciosas (Kogut e Arsenault, 2016; Ballou *et al.*, 2016; Baldwin *et al.*, 2018).

Galinhas poedeiras possuem características diferentes dos frangos de corte, bem como fisiologia, expectativa de vida, sistemas de criação e exigências nutricionais. Logo a composição da microbiota intestinal também é diferente. Embora frangos de corte e poedeiras compartilhem uma microbiota central, existem diferenças na riqueza microbiana e abundância relativa de microrganismos relacionados às características de cada linha genética (Khan *et al.*, 2020).

Outro fator que possui grande impacto sobre a modulação da microbiota intestinal é a composição da dieta oferecida aos animais, bem como o tipo e qualidade dos ingredientes que compõem esta dieta. Dietas não apenas impactam na composição da microbiota, mas também sobre o metabolismo da mesma, que por sua vez pode ter impacto sobre a saúde intestinal do hospedeiro.

Com relação à influência da fibra dietética sobre a microbiota cecal, os resultados de pesquisa ainda são inconsistentes. Mas, a fibra dietética pode alterar o equilíbrio da microbiota em diferentes partes do trato gastrointestinal devido aos seus efeitos sobre o pH da digesta e o tempo de trânsito. Foi proposto que a fibra dietética pode ser utilizada preferencialmente por espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* que levam à produção de ácido lático e AGCC, resultando na manutenção de populações microbianas normais, baixo pH e prevenção do estabelecimento de *Salmonella* no trato gastrointestinal (Kaplan e Hutkins, 2000).

Além disso, as condições de criação (ao ar livre, gaiola, etc.) e os diferentes padrões de alimentação têm uma profunda influência na microbiota de galinhas, que por sua vez afetam a saúde intestinal (Cui *et al.*, 2017). Tal como acontece com as galinhas poedeiras, há um conhecimento limitado sobre a estrutura e dinâmica da microbiota intestinal de aves criadas ao ar livre. O máximo de estudos existentes comparam diretamente as microbiotas intestinais das aves criadas em sistemas convencionais e aves criadas ao ar livre sem considerar que a produção fora da gaiola normalmente baseia-se em raças de crescimento lento com antecedentes genéticos e ciclos produtivos diferentes (Lewis *et al.*, 1997) e essas diferenças também estão relacionadas com diferenças no desenvolvimento intestinal (Lumpkins *et al.*, 2010; Mignon-Grasteau *et al.*, 2015). Uma exceção é o estudo realizado por Cui *et al.* (2017), onde os autores caracterizam a microbiota de galinhas criadas em gaiolas e caipiras e descobriram que, dependendo das condições de criação e da idade das aves os padrões de microbiota são diferentes, com valores mais uniformes e maior riqueza para a microbiota intestinal das galinhas criadas fora da gaiola.

Algumas práticas comerciais, como a adição de antibióticos reduzem a diversidade microbiana no intestino (Lin *et al.*, 2013), levando a formação de comunidades microbianas distorcidas que podem ser mal adaptadas para digerir dietas complexas. Para alcançar o objetivo de um TGI saudável e produtivo, livre de patógenos, tratamentos

alternativos e práticas de manejo são necessários. Estes devem manter a riqueza e diversidade da microbiota do TGI dos animais, reduzindo seletivamente os patógenos potencialmente deletérios para o animal ou os consumidores de seus produtos (Prasai *et al.*, 2016).

O grau em que cada um desses fatores contribui para moldar a microbiota intestinal ainda não está claro, uma vez que as mudanças na microbiota geralmente estão associadas a vários fatores agindo ao mesmo tempo. Portanto, às vezes é um desafio identificar de forma confiável qual fator atribuiu o efeito observado.

2.8 Fontes de Fibra

No Brasil, as rações utilizadas para os animais não ruminantes são à base de milho e farelo de soja, porém, muitos países utilizam diferentes matérias primas, obtendo resultados semelhantes em comparação com rações à base de milho e farelo de soja. Além disso, a indústria avícola enfrenta desafios com essas matérias primas em relação à qualidade e a grande oscilação dos preços (Pottgueter, 2011).

A principal matéria prima utilizada no Brasil para reduzir o teor de energia da ração e aumentar o teor de fibra é o farelo de trigo. No entanto, esse ingrediente em alguns momentos fica mais caro que o milho, de modo que a redução no custo de formulação esperada ao utilizar uma ração com menor densidade energética não vem sendo observada. Além disso, na fração fibrosa do farelo de trigo predominam PNAs insolúveis, o que pode contribuir para o aumento da velocidade de passagem da digesta e consequentemente redução da digestibilidade dos nutrientes e eficiência alimentar (Araújo *et al.*, 2008).

Esses entraves associados ao farelo de trigo motivam a busca e a pesquisa de outras matérias primas que possam aumentar o nível de fibra e reduzir o nível de energia das rações, a fim de reduzir o custo da produção de ovos, visando o melhor resultado econômico e zootécnico do plantel.

2.8.1 Farelo de trigo

O Farelo de trigo é a película externa da parte comestível do grão. Esse subproduto da moagem convencional do trigo é composto por celulose (30%), hemicelulose (25%), lignina (8%), amido (10%), açúcar (5%), proteínas (15%), lipídios (5%) e minerais (Coultrate, 2016).

O farelo de trigo é a fonte de fibra tradicional e contém em torno de 30,8% de fibra dietética total, composta por PNAs solúveis (3%) e insolúveis (24,0%), além da lignina (3,8%). Considerando os outros métodos convencionalmente utilizados para a determinação da fração fibrosa, o farelo de trigo contém em torno de 39,8% de FDN e 9,07% de FB (Feedipedia, 2017; Rostagno et al., 2017).

Segundo Sousa et al. (2019), os principais constituintes dos PNAs encontrados no farelo de trigo são: arabinose (5,90%), xilose (9,8%) e glicose (7,50%), que são os principais constituintes das hemiceluloses, o que classificaria o farelo de trigo como uma fonte de fibra insolúvel porém, a solubilidade desses grupos não pode ser definida por si só, cada constituinte dos polissacarídeos não amiláceos possui uma fração solúvel e insolúvel no qual o meio que se encontram vai definir a solubilidade final e as características da parede celular a ser utilizada, conseqüentemente classifica-se o farelo de trigo como uma fonte mista de fibra.

2.8.2 Celulose

A celulose é um polissacarídeo com forma molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$, um polímero linear formado por monômeros de glicose, unidos por ligações β -1,4, apresentando-se insolúvel em meio alcalino e solúvel em meio ácido (Van Soest, 1994). A celulose apresenta biologicamente o papel de estruturar, proteger e conferir resistência mecânica à parede celular dos vegetais. É o polissacarídeo com maior abundância na terra e o principal composto das paredes celulares das plantas em geral. As moléculas se agregam formando fibrilas que é a matriz para formação da hemicelulose e lignina (Braga, 2018).

Encontra-se normalmente associada à lignina, sendo a relação celulose/lignina maior com o avançar da idade dos vegetais. Essa estrutura possui uma configuração alongada formando microfibrilas unidas por pontes de hidrogênio (ligação entre um hidrogênio de uma molécula e o dipolo negativo da outra), o que confere estabilidade as

microfibrilas. A organização das moléculas de celulose a torna resistente tanto a hidrólise química quanto enzimática (Hernández e Valdivia, 1995).

2.8.3 Pectina

As pectinas consistem em complexos de polissacarídeos estruturais presentes em vários tecidos vegetais, apresentam caráter hidrofílico, devido à presença de grupos polares, e por isso, tem a propriedade de envolver grande quantidade de água, produzindo uma solução viscosa (Cáceres de Menezes *et al.*, 2015). A formação de gel é a principal característica funcional da pectina e depende essencialmente das características do meio: pH, teores de sólidos solúveis e cátions divalentes, além de depender dos níveis de pectinas e do seu grau de metoxilação (Paiva *et al.*, 2009).

Usualmente são classificadas em pectinas de baixo e alto teor de esterificação, onde o grau de esterificação é a porcentagem de ácidos galacturônicos que são metilesterificados (Mukai-Corrêa, 2008 e Muzzarelli *et al.*, 2012), ou seja, a razão entre o ácido galacturônico esterificado e não esterificado irá determinar o comportamento da pectina nas aplicações alimentares (Muzzarelli *et al.*, 2012). Os metil ésteres formados ocupam um espaço similar, mas são mais hidrofóbicos e conseqüentemente têm um efeito diferente na estruturação da água. A pectina é um poliácido e seu pKa é de cerca de 2,9, apresentando pouca carga negativa em pH baixo e alta em pHs elevados, possui boa solubilidade, no entanto, necessita ser dispersa em água aquecida com temperatura acima de 60°C (Mukaicorrêa,2008 e Cáceres de Menezes *et al.*, 2015).

2.9 . Fibra e o bem-estar animal

Algumas fibras solúveis são de preferência fermentadas por bifidobactérias e lactobacilos, que são bactérias benéficas à microbiota, pois, realizam a exclusão competitiva de bactérias malélicas, aderindo-se firmemente a mucosa intestinal e competindo por nutrientes e produzindo substâncias prejudiciais aos microrganismos indesejáveis, exercendo assim ação de prebiótico, em que as fibras solúveis promoveriam efeito benéfico à saúde intestinal (Ferreira, Saad e Pereira, 2008). Vergara *et al.* (1989) estudaram a passagem das fases sólida e líquida da digesta em frangos de corte e observaram que o tempo de retenção da fase líquida aumenta a partir da terceira semana de idade das aves, por causa do início do funcionamento dos cecos. Estes autores

sugeriram que o funcionamento dos cecos pode estar relacionado ao aumento na taxa de fermentação e conseqüente maior desaparecimento da fração solúvel da fibra no trato das aves.

A fermentação causada pelas bactérias no ceco resulta em produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), predominantemente acetato que é transportado para o fígado, atuando como fonte de energia para os músculos, o propionato que é convertido em glicose no fígado, além de inibir certos enteropatógenos, como as Salmonelas e o butirato, a maior fonte de energia para as atividades metabólicas, estimulando o crescimento das células epiteliais do intestino delgado e grosso (Baker, 1985). Segundo Praes et al. (2014), os AGCC podem inibir o crescimento de muitos patógenos, visto que a maioria prefere ambientes neutros ou ligeiramente alcalinos para o seu desenvolvimento, além do próprio estímulo provocado pelos AGCC no intestino grosso com a reabsorção de água e sódio, reduzindo o risco de diarreias (Roediger, 1982) mostrando que a fibra dietética pode agir sobre a saúde do trato gastrointestinal e conseqüentemente, sobre parâmetros de bem-estar animal (Van Krimpen *et al.*, 2009; Perez *et al.*, 2011).

Os AGCC e o baixo pH podem, por sua vez, dissolver sais minerais insolúveis e aumentar sua absorção pela via paracelular. Dunkley et al. (2007) analisaram o potencial de fermentabilidade *in vitro* de ingredientes ricos em fibra na microbiota cecal de poedeiras e observaram que as fontes de fibra em contato com a microbiota cecal resultaram na produção de AGCC, sendo que a produção de acetato foi mais elevada, seguida por propionato e butirato. Entretanto, o inócuo cecal sozinho produziu quantidade não detectável destes ácidos. Para os autores, estes dados sugerem que as fontes de fibra podem contribuir para a fermentação e diversidade microbiana no ceco de galinhas.

3. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o desempenho de aves alimentadas com rações com diferentes fontes de fibra.
- Avaliar a influência dos polissacarídeos não amiláceos na nutrição e desempenho de aves.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos da composição das fibras para poedeiras sobre as características e morfometria do trato gastrointestinal, além do desempenho e qualidade dos ovos.
- Avaliar os efeitos da composição das fibras sobre o aproveitamento de nutrientes na ração e seu impacto no desempenho e qualidade dos ovos.
- Avaliar a viabilidade da utilização de fonte de fibra como matéria prima alternativa na alimentação de poedeiras comerciais sobre o custo benefício para produção de ovos.
- Avaliar os efeitos da utilização de fonte de fibra sobre o trato gastrointestinal e seu impacto sobre o desempenho de poedeiras leves.
- Determinar a digestibilidade e metabolizabilidade das fontes alternativas de fibras para poedeiras leves.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, St. Paul, v.46, n.3, p. 112-126, 2001.

AKBARYAN, M.; MAHDAVI, A.; JEBELLI-JAVAN, A.; STAJI, H.; DARABIGHANE, B. A comparison of the effects of resistant starch, fructooligosaccharide, and zinc bacitracin on cecal short-chain fatty acids, cecal microflora, intestinal morphology, and antibody titer against Newcastle disease virus in broilers. *Comp Clin Path*. 28(3):661–7., 2019.

AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological reviews*, v.59, n.1, p.142-169, 1995.

AMARAL, G.F. Avicultura de postura: estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES. *BNDES Setorial*, Rio de Janeiro. 43:167-207, 2014.

AMARAL, L.M.M. *Fontes de fibras na alimentação de poedeiras*. 2018. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

AMBARDAR, S.; GUPTA, R.; TRAKROO, D.; LAL, R.; VAKHLU, J. High Throughput Sequencing: An Overview of Sequencing Chemistry. *Indian Journal of Microbiology*, v. 56, n.4, p.394-404, 2016.

AMERAH, A.M; RAVINDRAN, V; LENTLE ,R.V. Influence of insoluble fibre and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. *Br Poul Sci*. 50: 366– 75, 2009.

ANDRIGUETTO, J.M; PERLY, L; MINARDI, I; GEMAEL, A. FLEMMING, J.S; SOUZA, G.A; FILHO, A.B. *Nutrição Animal*. São Paulo: Nobel, 1: 396p,2002.

ANDREATTI FILHO, R.L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Roca Ltda, 2007. 328 p.

APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, England, v. 60, p. 223-232, 2004.

ARAÚJO, J.Á; SILVA, J.H.V; AMÂNCIO, A.L.L; LIMA, M.R; LIMA, C.B. Uso de Aditivos na alimentação de aves. *Acta Veterinária Brasileira*, Mossoró. 1(3): 69-77,2007.

ARRUDA, A.M.V; LOPES, D.C; FERREIRA, W.M; ROSTAGNO, H.S; QUEIROZ, A.C; PEREIRA, E.S; SILVA, J.F; JHAM, G.M. Atividade microbiana cecal e contribuição da cecotrofia em coelhos com rações contendo diferentes níveis de amido e fontes de fibra. *Ver Bras Zootec.* 32(4): 891-902.,2003.

ATARASHI K, TANOUE T, OSHIMA K et al .Treg induction by a rationally selected mixture of clostridia strains from the human microbiota. **Nature** 500:232–236.2013.

BALDWIN S, HUGHES RJ, VAN TTH et al. At-hatch administration of probiotic to chickens can introduce beneficial changes in gut microbiota. **PLoS One** 13:e0194825. 2018.

BALLOU AL, ALI RA, MENDOZA MA et al. Development of the Chick microbiome: how early exposure influences future microbial diversity. **Front Vet Sci** 3:1–12.2016

BARBARA, G.; STANGHELLINI, V.; BRANDI, G.; CREMON, C.; DI NARDO, G.; DE GIORGIO, R.; CORINALDESI, R. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. **The American Journal of Gastroenterology**, United States, v. 100, p. 2560-2568, 2005.

BARNES, E. M., AND C. IMPEY. 1968. Anaerobic Gram negative nonsporing bacteria from the caeca of poultry. **J. Appl. Bacteriol.** 31:530–541.

BARNES, E. M.; MEAD, G. C.; BARNUM, D. A.; HARRY, E. G. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. **British Poultry Science**, v. 13, n. 3, p. 311–326, 1972.

BARNES, E. M. 1979. The intestinal microflora of poultry and game birds during life and after storage. **J. Appl. Bacteriol.** 46:407– 419.

BARNES, E. M., C. S. IMPEY, AND D. M. COOPER. 1980. Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. **Am. J. Clin. Nutr.** 33:2426–2433.

BARRIOS, M. A., SAINI, K. J., RUDE, C. M., BEYER, R.S., FUNG, D. Y. C., CROZIER-DODSON, B. A. Comparison of 3 agar media in Fung double tubes and Petri plates to detect and enumerate *Clostridium* spp. in broiler chicken intestines. **Poultry Science**. Manhattan, v. 92, n. 6 p. 1498-1504, 2013.

BARROS, M.R.; ANDREATTI FILHO, R.L.; LIMA, E.T.; CROCCI, J.A. Transference in vitro of the resistance to the antimicrobials between *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp. and *Salmonella* enteritidis isolated from chickens. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, p. 1149-1153, 2009.

BARROW, P. A. 1992. **Probiotics for chickens**. Pages 225-257 in Probiotics. Springer, Dordrecht, the Netherlands.

BENAGLI, C., ROSSI, J., DOLINA, M. et al. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Identification of Clinically Relevant Bacteria. **Plos One**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2011.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E.N.; FÁBIO, J.D.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2009. 1.104 p.

BERG, G., D. RYBAKOVA, D. FISCHER, T. CERNAVA, M.-C. C. VERGES, T. CHARLES, X. CHEN, L. COCOLIN, K. EVERSOLE, AND G. H. CORRAL. 2020. Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. **Microbiome** 8:1–22.

BERTRAND, J.-C., P. CAUMETTE, P. LEBARON, R. MATHERON, P. NORMAND, AND T. S. NGANDO. 2015. **Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications**. Springer, Dordrecht, the Netherlands

BERTECHINI, A.G. Fatores nutricionais que afetam a viscosidade intestinal. *Rev Alim Ani*. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal – Sindirações. 19,2000.

BOLNICK DI, SNOWBERG LK, CAPORASO JG et al. Major histocompatibility complex class II polymorphism influences gut microbiota composition and diversity. **Mol Ecol** 23:4831–4845. 2014.

BRAGA RS. *Desenvolvimento de filme polimérico à base de hemicelulose extraída do bagaço de cana-de-açúcar*. 2018. Trabalho de conclusão de curso para obtenção do título de engenheira química da Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

BROWN, T.P.; ROTTINGHAUSGE, G.L.; WILLIAMS, M.E. Fumonisin mycotoxicosis in broilers: Performance and pathology. **Avian Diseases**, Netherlands, v. 36, p. 450-454, 1992.

BUCHON, N.; BRODERICK, N.A.; CHAKRABARTI, S.; LEMAITRE, B. Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila*. **Genes and Development**, United States, v. 23, p. 2333-2344, 2009.

BUMSTEAD, N.; HUGGINS, M.B.; COOK, J.K. Genetic differences in susceptibility to a mixture of avian infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. **British Poultry Science**, England, v. 30, p. 39-48, 1989.

Cáceres de Menezes, M. F. S.; Z, L. R.; Pasqualin, C. C.; Araújo, M.E.; Menezes, C. R. Microencapsulação de probióticos por gelificação iônica externa utilizando pectina **Ciência e Natura**. 37, 5, 30-37, 2015.

CALLAWAY, T. R., DOWD, S. E.; WOLCOTT, R. D.; SUN, Y.; McREYNOLDS, J. L.; EDRINGTON, T. S.; BYRD, J. A.; ANDERSON, R. C.; KRUEGER, N.; NISBET, D. J. Evaluation of the bacterial diversity in cecal contents of laying hens fed various molting diets by using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. **Poultry Science**, v. 88, n. 2, p. 298–302, 2009.

CANTOR A. Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. *In: Ronda latinoamericana de biotecnologia*, 5., Curitiba. [S.l.: s.n.], p. 31-42, 1995.

CAPRITA, R.; CAPRITA, A.; JULEAN, C. Biochemical Aspects of Non-Starch Polysaccharides. *Animal Science and Biotechnology*, Romania, v.43, n.1, p.368-374, 2010.

CARBONELLE, E.; MESQUITA, C.; BILLE, E. et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. **Clin. Biochem.**, v. 44, p. 104-109, 2011.

CARUCCIO, N. Preparation of next-generation sequencing libraries using Nextera™ technology: simultaneous DNA fragmentation and adaptor tagging by in vitro transposition. **Methods in Molecular Biology**, v.733, p. 241-255, 2011.

CELI, P.; COWIESON, A.J.; FRU-NJI, F.; STEINERT, R.E.; KLUENTER, A.M.; VERLHAC, V. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production. **Anim Feed Sci Technol.** 234:88–100, 2017.

CHAMBERS, J.R.; SPENCER, J.L.; MODLER, H.W. The influence of complex carbohydrates on Salmonella typhimurium colonization, pH, and density of broiler ceca. **Poultry Science**, Champaing, v. 76, p. 445-451, 1997

CHENG HY, NING MX, CHEN DK, MA WT .Interactions between the gut microbiota and the host innate immune response against pathogens. **Front Immunol** 10:607.2019.

CHOCT, M.; DERSJANT-LI, Y.; MCLEISH, J.; PEISKER, M. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive na anti-nutritive effects in pigs and poultry. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, v.23, n.10, p. 1386-1398, 2001.

CHOCT, M. Managing gut health through nutrition. **Br Poult Sci.** 50(1):9–15,2009.

CHOCT M. Feed polysaccharides: nutritional roles and effect of enzymes. *In: IV Congresso Latino Americano de Nutrição Animal - IV CLANA*. Estância de São Pedro. 65-78, 2010.

CHRISTOFF, A.P.; SEREIA, A.F.R.; BOBERG, D.R.; MORAES, R.L.V.; OLIVEIRA, L.F.V. Bacterial identification through accurate library preparation and high-throughput sequencing. **Neoprospecta Microbiome Technologies.** 2017, 5 p.

CLENCH, M. H. e MATHIAS, J. R. The avian cecum: a review. **Wilson Bull.**v.107, p. 93–121.1995.

COATES, M. E.; FORD, J. E.; HARRISON, G. F. Intestinal synthesis of vitamins of the B complex in chicks. **British Journal of Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 493–498, 2002.

COULTATE T. FOOD: the chemistry of its components. 6th ed. Cambridge: **The Royal Society of Chemistry**; 2016. 599 p.

CORRIER, D.E.; BYRD, J.A.; HARGIS, B.M.; HUME, M.E.; BAILEY, R.H.; STANKER, L.H. Survival of *Salmonella* in the crop contents of market-age broilers during feed withdrawal. **Avian Diseases**, Netherlands, v. 43, p. 453-460, 1999.

COTTER PD, ROSS RP, HILL C. Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics? **Nat Rev Microbiol**. 2013;11:95–105.

CUI Y, WANG Q, LIU S ET AL. Age-related variations in intestinal microflora of free-range and caged hens. **Front Microbiol** 8:1310. 2017.

CUNNINGHAM, J.G. **Textbook of veterinary physiology**. New York: WB Saunders Company, 1992. 608 p.

DÍAZ CARRASCO JM, CASANOVA NA, FERNÁNDEZ MIYAKAWA ME et al. Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection? **Microorganisms** 7:1–15.2019.

DERIU E, LIU JZ, PEZESHKI M, EDWARDS RA, OCHOA RJ, CONTRERAS H, LIBBY SJ, FANG FC, RAFFATELLU M. Probiotic bacteria reduce *Salmonella typhimurium* intestinal colonization by competing for iron. **Cell Host Microbe**. 2013;14:26–37.

DOMINGUEZ-BELLO MG, COSTELLO EK, CONTRERASMET AL. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. **Proc Natl Acad Sci U S A** 107:11971–11975.2010.

DRASAR, B. S., and P. Barrow. 1985. Intestinal Microbiology. **American Society for Microbiology**, Washington, DC.

DUNCAN, H.E.; EDBERG, S.C. Host-microbe interaction in the gastrointestinal tract.

Critical Reviews in Microbiology, England, v. 21, p. 85-100, 1995.

DUNISLAWSKA, A.; SLAWINSKA, A.; STADNICKA, K.; BEDNARCZYK, M.; GULEWICZ, P.; JOZEFIAK, D. et al. Synbiotics for broiler chickens-in vitro design and evaluation of the influence on host and selected microbiota populations following in ovo delivery. **PLoS One**. 12(1), 2017.

DUNKLEY, K. D., T. R. CALLAWAY, V. I. CHALOVA, J. L. MCREYNOLDS, M. E. HUME, C. S. DUNKLEY, L. F. KUBENA, D. J. NISBET, AND S. C. RICKE. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. **Anaerobe**, v. 15, n. 1-2, p. 26–35, 2009.

DURANT, J. A.; LOWRY, V. K.; NISBET, D. J.; STANKER, L. H.; CORRIER, D. E.; RICKE, S. C. Short-chain fatty acids alter HEp-2 cell association and invasion by stationary growth phase *Salmonella* Typhimurium. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1206–1209, 2000.

ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; LESER, T.D.; JENSEN, B.B. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 1311-1319, 2000.

FERREIRA, W.M. Os componentes da parede celular vegetal na nutrição de não ruminantes. In: *Simpósio Internacional de Produção de Não Ruminantes, Maringá. Anais...* Maringá: SBZ, 31: 85-113, 1994.

FIERER, N.; LAUBER, C.L.; RAMIREZ, K.S.; ZANEVELD, J.; BRADFORD, M.A.; KNIGHT, R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. **The ISME Journal**, v.6, n.5, p. 1007-1017, 2012.

FOUHSE JM, ZIJLSTRA RT, WILLING BP. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. **Anim Front** 6:30–36.2016.

FOX, A. Mass spectrometry for species or strain identification after culture or without culture: past, present and futura. **J. Clin. Microbiol.**, v.44, n.8, p.2677-2680, 2006.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar o efeito de uso de probióticos, prebióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 2004, Santa Catarina. **Anais...** Santa Catarina: ACAV, 2004. p. 87-91.

FURUSE, M., e J. OKUMURA. 1994. Nutritional and physiological characteristics in germ-free chickens. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 109:547–556.

GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J.F. Microbiota of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, England, v. 62, p. 499-511, 2006.

GARCIA, G.D.; CARVALHO, M.A.R.; DINIZ, C.G.; MARQUES, J.L.; NICOLI, J.R.; FARIAS, L.M. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group strains recovered from broiler faeces. **British Poultry Science**, England, v. 53, p. 71-76, 2012.

GEDEK, B.R. Intestinal flora and bioregulation. **Review Scientific et Technique**, France, v.8, p. 417-434, 1989.

GIELDA, L.M.; DIRITA, V.J. Zinc competition among the intestinal microbiota. **MBio**, United States, v. 3, p. 71-82, 2012.

GLENDINNING L, MCLACHLAN G, VERVELDE L. Age-related differences in the respiratory microbiota of chickens. **PLoS One** 12:e0188455.2017.

GOHL, D.; VANGAY, P.; GARBE, J.; MACLEAN, A.; HAUGE, A.; BECKER, A.; GOULD, T.; CLAYTON, J.; JOHNSON, T.; HUNTER, R.; KNIGHTS, D.; BECKMAN, K. Systematic improvement of amplicon marker gene methods for increased accuracy in microbiome studies. **Nature Biotechnology**, v.34, n.9, p.942-949, 2016.

GONG, J., R. J. FORSTER, H. YU, J. R. CHAMBERS, P. M. SABOUR, R. WHEATCROFT, e S. CHEN. 2002a. Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken ceca and comparison with bacteria in the cecal lumen. **FEMS Microbiol. Lett.** 208:1–7.

GONG, J., R. J. FORSTER, H. YU, J. R. CHAMBERS, R. WHEATCROFT, P. M. SABOUR, AND S. CHEN. 2002b. Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chickens and comparison with bacteria in the cecum. *FEMS Microbiol. Ecol.* 41:171–179

GONG, J.; SI, W.; FORSTER, R.J.; HUANG, R.; YU, H.; YIN, Y.; YANG, C.; HAN, Y. 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. **Microbiology Ecology**, United States, v. 59, p. 147-157, 2007.

GONZÁLEZ-ALVARADO, J.M; JIMÉNEZ-MORENO, E; LÁZARO, R; MATEOS, G.G. Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. *Poul Sci.* 86: 1705–15, 2007.

GONZÁLEZ-ALVARADO, J.M; JIMÉNEZ-MORENO, E; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, D; LAZARO, R; MATEOS, G.G. Effect of inclusion of oat hulls and sugar beet pulp in the diet on productive performance and digestive traits of broilers from 1 to 42 days of age. *An Feed Sci Tech.* 162: 37 – 46, 2010.

GROSS, C. P., AND K. A. SEPKOWITZ. 1998. The myth of the medical breakthrough: smallpox, vaccination, and Jenner reconsidered. **Int. J. Infect. Dis.** 3:54–60.

GRUPPEN, H. triggering the breaking of nutrients. *Feed Mix*, v.4, n.1, p. 24-28, 1996.

GUARDINO, R. F. 2005. Early history of microbiology and microbiological methods. **Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. Parenteral Drug Association**, Bethesda, MD.

HAISER HJ, TURNBAUGH PJ. Is it time for a metagenomic basis of therapeutics. **Science** 336: 1253–1255.2012.

HERNÁNDEZ, E.R.G.; VALDIVIA, C.B.P. La pared celular: componente fundamental de las células vegetales. 1ª edición. *Carretera:Universidad Autónoma Chapingo*.1995. 96p.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. *World's Poultry Science*. v.60, p.415-422, 2004.

HETLAND, H; SVIHUS, B; CHOCT, M. Role of insoluble fiber on gizzard activity in layers. *Jour App Poul Research*. 14:38-46, 2005.

HERDINA, J.; BANNING, A.; KIPP, A.; LOH, G.; BLAUT, M.; BRIGELIUS-FLOHE, R. The gastrointestinal microbiota affects the selenium status and selenoprotein expression in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, United States, v. 20, p. 638-648, 2009.

HINGAMP, P.; GRIMSLEY, N.; ACINAS, S.G.; CLERISSI, C.; SUBIRANA, L.; POULAIN, J.; FERRERA, I.; SARMENTO, H.; VILLAR, E.; LIMA-MENDEZ, G.; FAUST, K.; SUNAGAWA, S.; CLAVERIE, J.M.; MOREAU, H.; DESDEVISES, Y.; BORK, P.; RAES, J.; de VARGAS, C.; KARSENTI, E.; KANDELS-LEWIS, S.; JAILLON, O.; NOT, F.; PESANT, S.; WINCKER, P.; OGATA, H. Exploring nucleocytoplasmic large DNA viruses in Tara Oceans microbial metagenomes. **The ISME Journal**, v.7, n.9, p.1678-1695, 2013.

HOPWOOD, D.E.; PETHICK, D.W.; PLUSKE, J.R; HAMPSON, D.J. Addition of pearl barley to a rice – based diet for newly weaned piglets increased the viscosity of intestinal contents, reduces starch digestibility and exacerbates post – weaning colibacillosis. *Brit J of Nut*. 92: 419 – 427, 2004.

HUME, M.E.; KUBENA, L.F.; EDRINGTON, T.S.; DONSKEY, C.J. MOORE, R.W.; RICKE, S.C.; NISBET, D.J. Poultry digestive microflora biodiversity as indicated by denaturing gradient gel electrophoresis. **Poultry Science**, Champaing, v. 82, p. 1100-1107, 2003.

HUSEBYE, E.; HELLSTROM, P.M.; SUNDLER, F.; CHEN, J.; MIDTVEDT, T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. **American Journal of Physiology**, United States, v. 280, p. 368-380, 2001.

ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. *Bifidobacterium*: Research and development in Japan. **Food Technology**, England, v. 1, p. 126-135, 1993.

JAMROZ, D.; JAKOBSEN, K.; BACH KNUDSEN, K. E.; WILCZKIEWICZ, A.; ORDA, J. Digestibility and energy value of the non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese, fed diets containing high amounts of barley. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 131, n. 3, p. 657–668, 2002.

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**. 10(10):1863,2020.

JHA, R.; SINGH, A.K.; YADAV, S.; BERROCOSO, J.F.D.; MISHRA, B. Early nutrition programming (in ovo and post-hatch feeding) as a strategy to modulate gut health of poultry. **Front Vet Sci**. 6:82, 2019.

JOHNSON TJ, YOUMANS BP, NOLL S et al. A consistent and predictable commercial broiler chicken bacterial microbiota in antibiotic-free production displays strong correlations with performance. **Appl Environ Microbiol** 84:e00362.2018.

JØRGENSEN, H.; ZHAO, X. Q.; B. KNUDSEN, K. E.; EGGUM, B. O. The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 75, n. 3, p. 379–395, 1996.

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

KANDLER, O.; WEISS, N. **Bergey s Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. 787 p.

KAPLAN, H; HUTKINS, R. W. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and Bifidobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2682–2684, 2000.

KAU, A.L.; AHERN, P.P.; GRIFFIN, N.W.; GOODMAN, A.L.; GORDON, J.I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. **Nature**, United States, v. 474, p. 327- 336, 2011.

KAWASHIMA ERIC, H.; LAURENT, F.; PASCAL, M. (2005-05-12). “Patent: Method of nucleic acid amplification”. Retrieved 2012-12-22.

KAZAKOVA, N.; LI, H.; MORA, A.; JESSEN, K.R.; MIRSKY, R.; RICHARDSON, W.D.; SMITH, H.K. A screen for mutations in zebrafish that affect myelin gene expression in Schwann cells and oligodendrocytes. **Developmental Biology**, United States, v. 297, p.1-13, 2006.

KHAN S, MOORE RJ, STANLEY D, CHOUSALKAR KK. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety. **Appl Environ Microbiol** 86:e00600–e00620.2020.

KEBSCHULL, J.; ZADOR, A. Sources of PCR-induced distortions in highthroughput sequencing data sets. **Nucleic Acids Research**, v.43, n.21, e143, p.1-15, 2015.

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

LAN, P. T. N., H. HAYASHI, M. SAKAMOTO, e Y. BENNO. 2002. Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16s rDNA clone libraries. **Microbiol. Immunol.** 46:371–382.

LANCINI, J.B. **Fisiologia da digestão e absorção das aves**. Campinas: APINCO, 1994. 154 p.

LAPARRA, J.M.; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**, Champaing, v. 61, p. 219-225, 2010.

LEAHY, S.C.; HIGGINS, D.G.; FITZGERALD, G.F.; SIDEREN, D. Getting better with *bifidobacteria*. **Journal of Applied Microbiology**, United States, v. 98, p. 1303-1315, 2005.

LEE, M. D., IPHARRAGUERRE , I. R., ARSENAULT, R. J., LYTE ,M., J. M., HUMPHREY, B., ANGEL, R., KORVER, D. R. Informal nutrition symposium: leveraging the microbiome (and the metabolome) for poultry production. **Poultry Science** 101:101588. 2022.

LESLIE JL, YOUNG VB. The rest of the story: the microbiome and gastrointestinal infections. **Curr Opin Microbiol**. 2015;23:121-5.

LEWIS PD, PERRY GC, FARMER LJ, PATTERSON RLS. Responses of two genotypes of chicken to the diets and stocking densities typical of UK and “Label Rouge” production systems: I. Performance, behaviour and carcass composition. **Meat Sci** 45:501–516. 1997.

LIMA, G.J.M.M. E VIOLA E.S. Ingredientes energéticos: trigo e triticales na alimentação animal. *In: Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal*. Campinas CBNA p.33-61, 2001.

LIN, J.; HUNKAPILLER, A. A.; LAYTON, A. C.; CHANG, Y. J.; ROBBINS, K. R. Response of intestinal microbiota to antibiotic growth promoters in chickens. **Foodborne Pathog**. V. 10, p. 331-337, 2013.

LIU, B.; WANG, W.; ZHU, X.; SUN, X.; XIAO, J.; LI, D. et al. Response of gut microbiota to dietary fiber and metabolic interaction with SCFAs in piglets. **Front Microbiol**. 9:2344,2018.

LU, J., U. IDRIS, B. HARMON, C. HOFACRE, J. J. MAURER, e M. D. LEE. 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Appl. Environ. Microbiol.** 69:6816–6824.

LUMPKINS BS, BATAL AB, LEE MD. Evaluation of the bacterial community and intestinal development of different genetic lines of chickens. **Poult Sci** 89:1614–1621.2010.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; DAHLKE, F.; BOLELI, I.C.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, United States, v. 12, p. 483-492, 2003.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola: In: **Anais V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. p. 119-129, 2004

MANCABELLI, L.; FERRARIO, C.; MILANI, C.; MANGIFESTA, M.; TURRONI, F.; DURANTI, S.; LUGLI, G. A.; VIAPPIANI, A.; OSSIPRANDI, M.C.; VAN SINDEREN, D.; VENTURA, M. Insights into the biodiversity of the gut microbiota of broiler chickens. **Environmental Microbiology**, v.18, n. 12, p. 4727-4738, 2016.

MARTIN, C. F. 1926. An address on preventive medicine. **Can. Med. Assoc. J.** 16:2–6.

MATEOS, G.G.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; SERRANO, M.P.; LÁZARO, R.P. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. **J Appl Poult Res.**21(1):156–74,2012.

MEAD, G.C. Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. **The Veterinary Journal**, United States, v. 159, p. 111-123, 2000.

METZKER, M.L. Sequencing technologies: the next generation. **Nature Reviews Genetics**, v.11, n.1, p.31–46, 2010.

MCGAUGHEY, C. A., AND K. C. SELLERS. 1948. Microflora of the rumen. **Nature** 161:1014.

MIGNON-GRASTEAU S, NARCY A, RIDEAU N et al. Impact of selection for digestive efficiency on microbiota composition in the chicken. **PLoS One**.2015.

MILES, R.D. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tract: natural ways to prevent colonization by pathogens. In: ALTECH BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1993, Flórida. **Proceedings...** Flórida: Alltech, 1993. p.133-150.

MISRA, A.K.; KUILA, R.K. Use of Bifidobacterium in the manufacture of bifidus milk and its antibacterial activity. **Lait**, France, v. 72, p. 213-220, 1992.

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

MOREIRA, I.; MOURINHO, F.L.; CARVALHO, P.L.O.; PAIANO, D.; PIANO, L.M.; KURODA JUNIOR, I.S. Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem complexo enzimático na alimentação de leitões na fase inicial. *R. Bras. Zootec.* 38(12): 2408-2416, 2009.

MUIR, W.I.; BRYDEN, W.L.; HUSBAND, A.J. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. **Developmental e Comparative Immunology**. v. 24, p.325–342, 2000.

MUKAI CORRÊA, R. Produção de micropartículas por gelificação iônica para alimentação de larvas de peixe: Estudos em Sistema-Modelo com inclusão de micropartículas lipídicas ou emulsão lipídica e Testes *in vivo*. 2008. 177 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

MUZZARELLI, R. A. A. et al. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of

the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87, 995– 1012, 2012.

O'DWYER JP, KEMBEL SW, GREEN JL. Phylogenetic diversity theory sheds light on the structure of microbial communities. **PLoS Comput Biol** 8:e1002832.2012.

OLIVEIRA, E.B.; DEMINICIS, R.G.S.; LIMA, M.R.; COSTA, F.G.P.; NASCIMENTO, D.S.; RIBEIRO, T.S. Impacto of Intestinal Health at poultry. **MedCrave**, v. 1, n. 5, 2017.

ONYANGO, E.M.; BEDFORD, M.R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaing, v. 84, p. 248-255, 2005.

O'SULLIVAN, M.G.; THORNTON, G.; O'SULLIVAN, G.C.; COLLINS, J.K. Probiotic bacteria: myth or reality? **Trends in Food Science & Technology**, England, v. 3, p. 309-313, 1992.

PAIVA, E. P. et al. Pectina: Propriedades Químicas e Importância sobre Estrutura da Parede Celular de Frutos Durante o Processo De Maturação. In: Propiedades químicas de las pectinas. *Revista Iberoamericana de Polímero*, 10, 4, 196-211, 2009.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; FIGUEIREDO, D.F.; AMARAL C. M.C. Morphometry and ultra-structure of the intestinal mucosa of broilers fed different additives. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 9, p. 173-180, 2007.

PIRES, D. L. Efeito de esofágica microbiota intestinal inoculação em hematologia, desenvolvimento e integridade intestinal de pintos de corte. 2008. *Dissertação (Mestrado)* –Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Jaboticabal.

POTTY, V.H. Physico-chemical aspects, physiological functions, nutritional importance and technological significance of dietary fibers A critical appraisal. *Journal Food Science Technol*, v.33, p.1-18, 1996.

PRASAI, T. P.; WALSH, K. B.; BHATTARAI, S.P.; MIDMORE, D.J.; VAN, T. T. H.; MOORE, R. J. Biochar, Bentonite and Zeolite Supplemented Feeding of Layer Chickens Alters Intestinal Microbiota and Reduces *Campylobacter* Load. **Plos One** v. 11, 2016.

RASIC, J.L.; KURMANN, J.A.; Bifidobacteria and their role. Microbiological, nutritional- physiological, medical and technological aspects and bibliography. **Experientia**, Basel, v. 39, p. 1-8, 1983.

REVOLLEDO, L. **Patologia aviária**. São Paulo: Ed. Manole Ltda. 2009, 510 p.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632–639, 2003.

RIEDEL, S. 2005. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. **Proc. Bayl. Univ. Med. Cent.** 18:21–25.

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

RODRÍGUEZ-PALENZUELA, P.; GARCIA, J.; DE BLAS, C. Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos. *In: Curso de Especialización FEDNA, 14., 1998, Barcelona. Palestras...* Barcelona: FEDNA. 229-239.1998.

ROSA, A.P.; UTTAPEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte. *In: VIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2007, Chapecó. Anais...* Chapecó, 2007, p.102-115.

ROTO, S. M.; KWON, Y. M. e RICKE, S. C. Applications of in ovo technique for the optimal development of the gastrointestinal tract and the potential influence on the establishment of its microbiome in poultry. *Frontiers in Veterinary Science*. v.3. 2016.

RUSSELL, J. B. Types and Distribution of Anaerobic Bacteria in the Large Intestine of Pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 187-193, 1979.

SAIF, N.; BRAZIER, J.S. The distribution of *Clostridium difficile* in the environment of South Wales. **Journal of Medical Microbiology**, England, v. 45, p. 133-137, 2008.

SAKOMURA, N.K; Da SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES,J.B.K.; HAUSCHILD,L. Nutrição de Não Ruminantes. Jaboticabal, Funep,678p. 2014.

SALANITRO, J. P., I. G. BLAKE, AND P. A. MUIRHEAD. 1974a. Studies on the cecal microflora of commercial broiler chickens. **Appl. Microbiol.** 28:439–447.

SALANITRO, J. P., I. G. FAIRCHILDS, AND Y. D. ZGORNICKI. 1974b. Isolation, culture characteristics, and identification of anaerobic bacteria from the chicken cecum. **Appl. Microbiol.** 27:678–687.

SALANITRO, J.P.; BLAKE, I.G.; MUIRHEAD, P.A.; MAGLIO, M.; GOODMAN, J.R. Bacteria isolated from the duodenum, ileum and cecum of young chicks. **Applied and Environmental Microbiology**, United States, v. 35, p. 782-790, 1978.

SALDAÑA, B. et al. Influence of feed form and energy concentration of the rearing phase diets on productivity, digestive tract development and body measurements of brown-egg laying hens fed diets varying in energy concentration from 17 to 46 wk of age. *Animal Feed Science and Technology*, v. 221A, p. 87-100, 2016.

SAVAGE, D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Annual Review of Microbiology**, United States, v. 31, p. 107-133, 1977.

SELVENDRAN, R.R.; ROBERTSON, J.A. The chemistry of dietary fibre: a holistic view of the cell wall matrix. In: SOUTHGATE, D.A.T.; JOHNSON, I.T.; FENWICK, G.R. (Eds) *Dietary Fiber: Chemical and Biological Aspects*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, n. 83, 1990.

SERGEANT, M. J., C. CONSTANTINIDOU, T. A. COGAN, M. R. BEDFORD, C. W. PENN, AND M. J. PALLEN. 2014. Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. **PLoS One** 9: e91941

SHAO, K.; DING, W.; WANG, F.; LI, H.; MA, D.; WANG, H. Emulsion PCR: a High Efficient Way of PCR Amplification of Random DNA Libraries in Aptamer Selection. **PLoS ONE**, v.6, n.9, e24910, 2011.

SHIVAPRASAD, H.I. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue scientifique et technique**, France, v. 2, p. 405-424, 2000.

SILVA, V.K.; MORITA, V.S.; BOLELI, I.C. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com pectina na ração. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte. 6(4): 1017-1026, 2012.

SIMON, G.L.; GORBACH, S.L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, United States, v. 86, p.174-193, 1984.

SINGHAL, N.; KUMAR, M.; KANAUIA, P. K. et al. MALDI TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. **Front. Microbiol.**, v. 6, p. 1-16, 2015.

SMITS, C.H.N e ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, London, v.52, n.2, p.203-221, July 1996.

SMITH CCR, SNOWBERG LK, GREGORY CJ et al. Dietary input of microbes and host genetic variation shape among-population differences in stickleback gut microbiota. **ISME J** 9:2515– 2526.2015.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota masters of host development and physiology. **Nature Reviews Microbiology**, England, v. 11, p. 227-238, 2013.

STALEY, J. T., AND A. KONOPKA. 1985. Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. **Annu. Rev. Microbiol.** 39:321–346.

STANLEY, D.; GEIER, M. S.; CHEN, H.; HUGHES, R. J.; MOORE, R. J. Comparison of fecal and cecal microbiotas reveals qualitative similarities but quantitative differences. **BMC Microbiology**. v. 15. 2015.

SVIHUS, B. The gizzard: Function, influence of diet structure and effects on nutrient availability. *W PoulSci J.* 67: 207–24. 2011.

TANNOCK, G.W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Champaing, v. 8, p. 527-533, 1998.

TAVERNARI, F.C.; MORATA, R.L.; RIBEIRO JÚNIOR, V.; ALBINO, L.F.T.; DUTRA JÚNIOR, W.M.; ROSTAGNO, H.S. Nutritional and energetic evaluation of sunflower meal in broiler diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62(1): 172-177, 2010.

TREMBLAY, J.; SINGH, K.; FERN, A.; KIRTON, E.; HE, S.; WOYKE, T.; LEE, J.; CHEN, F.; DANGL, J.; TRINGE, S. Primer and platform effects on 16S rRNA tag sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v.6, Article 771, p.1-15, 2015.

TORTUERO, F.; BRENAS, A.; RÍPEREZ, J. The influence of intestinal (ceca) flora on serum and egg yolk cholesterol levels in laying hens. **Poultry Science**, v. 54, n. 6, p. 1935–1938, 1975.

TYAGI, U., AND K. C. BARWAL. 2020. **Ignac Semmelweis-father of hand hygiene**. *Indian J. Surg.* 82:1–2.

VANDAMME, P.; FALSÉN, E.; ROSSAU, R.; HOSTE, B.; SEGERR, P.; TYTGAT, R.; LEY, J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *arcobacter* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, England, v. 41, p. 88-103, 1991.

VAN DER WIELEN, P. W. J. J.; BIESTERVELD S.; NOTERMANS, S.; HOFSTRA, H.; URLINGS, B. A. P.; VAN KNAPEN, F. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2536–2540, 2000.

VAN KRIMPEN, M.M.; KWAKKEL, R.P.; VANPEET-SCHWERING, C.M.C.; DENHARTOG, L.A.; VERSTEGEN, M.W.A. Effects of nutrient dilution and nonstarch polysaccharide concentration in rearing and laying diets on eating behavior and feather damage of rearing and laying hens. *Poul Sci.* 88: 759–73.2009.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2th ed. New York: Cornell University Press, 476p.1994.

VIDENSKA, P.; FALDYNOVA, H.; JURICOVA, H.; BABAK, V.; SISAK, F. Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. *BMC Veterinary Research*. v.9, 2013.

VIJAYENDRA, S.V.N.; GUPTA, R.C. Therapeutic importance of bifidobacteria and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. **Indian Dairyman**, Índia, v. 44, p. 595-599,1992.

VISEK, W.J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**, England, v. 46 p. 1447-1469, 1978.

WALUGEMBE, M.; HSIEH, J.C.; KOSZEWSKI, N.J.; LAMONT, S.J.; PERSIA, M.E.; ROTHSCCHILD, M.F. Effects of dietary fiber on cecal short-chain fatty acid and cecal microbiota of broiler and laying-hen chicks. **Poult Sci**. 94(10):2351–9, 2015.

WEI, S.; MORRISON, M.; YU, Z. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. **Poult Sci**. 92(3):671–83, 2013.

WIJSMAN, M.R.; HEREIJGERS, J.L.P.M.; GROOTE, J.M.F.H. Selective enumeration of *Bifidobacterium* in fermented dairy products. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Netherlands, v. 43, p. 395-405, 1989.

WILLIAMS BA, GRANT LJ, GIDLEY MJ, MIKKELSEN D. Gut fermentation of dietary fibres: physico-chemistry of plant cell walls and implications for health. *Int J Mol Sci*. 18(10):2203, 2017.

WONG S, RAWLS JF. Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and environment. **Mol Ecol** 21:3100–3102. 2012.

YADAV, S.; JHA, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. **J Anim Sci Biotechnol.** 10:2, 2019.

YANG, B.; WANG, Y.; QIAN, P.Y. Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. **Bmc Bioinformatics**, v.17, n.135, p.1-8, 2016.

YEOMAN, C. J.; N. CHIA, P. JERALDO, M. SIPOS, N. D. GOLDENFELD, AND B. A. WHITE. 2012. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. **Anim. Health Res. Rev.** 13:89–99.

ZHANG, Q. **Diseases of poultry.** Iowa: Blackwell Publishing, 2008. 434 p.

ZHANG, J.; CAI, K.; MISHRA, R.; JHA, R. In ovo supplementation of chitooligosaccharide and chlorella polysaccharide affects cecal microbial community, metabolic pathways, and fermentation metabolites in broiler chickens. **Poult Sci.** 99(10):4776–85, 2020.

ZHENG D, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. **Cell Res** 30:492–506. 2020.

ZHU, X. Y.; ZHONG, T.; PANDYA, Y.; JOERGER, R. D. 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 124–137, 2002.

CAPÍTULO 2

Fibra solúvel e insolúvel sobre a digestibilidade, desempenho e biometria dos órgãos gastrointestinais de poedeiras leves

RESUMO

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de fontes de fibra insolúveis, solúveis e mista na dieta de poedeiras sobre a digestibilidade, desempenho e biometria de órgãos gastrointestinais. Nos dois ensaios os tratamentos foram: controle sem inclusão de fonte adicional de fibra, farelo de trigo (fibra mista), celulose (fibra insolúvel) e pectina (fibra solúvel). Para análise de digestibilidade, 60 poedeiras Lohmann[®] foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições e 3 aves por repetição. Para análise de desempenho, 576 poedeiras Lohmann[®] foram distribuídas em DIC com seis repetições por tratamento e 24 aves em cada repetição. Para avaliação de órgãos após o período experimental 24 aves, sendo 6 por tratamento, foram abatidas e posteriormente coletados os órgãos do trato gastrointestinal. Houve diferença nos coeficientes de matéria seca e extrato etéreo ($P < 0,05$), sem prejudicar o desempenho e biometria dos órgãos de poedeiras comerciais. As fontes de fibras podem ser incluídas nas dietas de poedeiras comerciais sendo a disponibilidade e o custo os principais fatores a serem levados em consideração.

Palavras-chaves: avicultura, celulose, pectina, solubilidade, digestibilidade

1. INTRODUÇÃO

O uso de fibras na dieta de aves pode melhorar a digestão, o desenvolvimento de órgãos, especialmente a moela, aumentar a secreção de ácidos biliares e de enzimas e modular a microbiota intestinal. Essas mudanças resultam em melhorias na utilização de nutrientes, desempenho e, eventualmente, saciedade e bem-estar animal (Mateos *et al.*, 2012). Além disso, as fibras podem beneficiar a saúde intestinal, prevenindo a adesão a mucosa epitelial de populações bacterianas patogênicas (Jha *et al.*, 2019).

A fibra pode ser considerada um nutriente ou um fator antinutricional dependendo da sua solubilidade em água, uma vez que a fibra solúvel tem grande capacidade de absorver água e formar substância gelatinosa no trato gastrointestinal, inibindo a digestão dos alimentos de modo geral. No entanto, essa visão sobre a separação das fibras está mudando, pois não há padronização de métodos para separar as frações solúveis das insolúveis. As frações de fibras solúveis e insolúveis podem variar dependendo da temperatura, água ou tampão que são utilizados como solvente durante as análises, e relação fibra/solvente, levando a limitações significativas na classificação da fibra (Williams *et al.*, 2017).

Tanto as fibras solúveis quanto as insolúveis têm implicações práticas para as indústrias de rações e animais não ruminantes, especialmente com o atual aumento na utilização de alimentos alternativos ricos em fibras, o que torna a compreensão do papel funcional de diferentes fibras dietéticas na nutrição de aves um passo fundamental para a produção eficiente (Tejeda e Kim, 2021).

Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da fibra solúvel e insolúvel sobre a digestibilidade dos nutrientes, desempenho, biometria dos órgãos gastrointestinais e custo de produção de poedeiras leves após o pico de produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Experimento digestibilidade

2.1.1. Aves, instalações e manejo

O ensaio de metabolismo para a determinação da digestibilidade dos nutrientes das rações e determinação dos valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio (EMAn) foi realizado pelo método

tradicional de coleta total de excretas no Laboratório de Metabolismo Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Um total de 60 poedeiras Lohmann[®], com 72 semanas de idade, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições e três aves cada. As aves foram alojadas em gaiolas metabólicas de 1 m². O programa de luz utilizado foi de 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

As coletas de excretas foram realizadas após um período de adaptação de três dias. A ração oferecida foi pesada no início e no final do período de coleta para obtenção do consumo de ração no período. As excretas foram coletadas uma vez ao dia, pesadas e colocadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em câmara de congelamento (-15°C).

Posteriormente, as excretas coletadas durante quatro dias foram descongeladas a temperatura ambiente, homogeneizadas, amostradas, pesadas e colocadas em estufa com circulação de ar forçada a 55°C por 72 horas para pré-secagem. Após a pré-secagem, o material foi exposto à temperatura ambiente por uma hora e novamente pesado para obtenção da matéria pré-seca. Em seguida, o material foi moído em moinho tipo faca com peneira de um milímetro.

Foram feitas análises laboratoriais para determinação da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta de acordo com a metodologia AOAC (2012). Para determinação do teor do extrato etéreo nas excretas, previamente, foi realizada hidrólise ácida de acordo com a metodologia do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2005). Em seguida, as amostras foram colocadas no extrator do tipo Soxhlet. Os teores de energia bruta foram determinados em bomba calorimétrica adiabática da marca IKA C2000 basic.

Para mensuração do pH, concomitantemente 10 gramas das excretas após homogeneização de acordo com os tratamentos foram coletadas, acrescidas de 100 ml de água destilada, agitadas por 5 minutos e após decantação foi realizada a leitura de pH, utilizando-se um peagâmetro de bancada (Gehaka[®]).

As rações também foram analisadas para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta. Os valores de energia metabolizável das rações foram calculados utilizando-se as fórmulas de Matterson et al. (1965). A partir dos dados de consumo de ração, produção de excretas e dos resultados das análises de laboratório, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB) e do extrato etéreo (CDEE), conforme a fórmula:

$$\text{Digestibilidade dos nutrientes (\%)} = \frac{\text{nutriente ingerido (g)} - \text{nutriente excretado (g)}}{\text{nutriente ingerido (g)}} * 100$$

A partir do consumo de matéria seca, da determinação dos valores de energia bruta e do nitrogênio das rações e das excretas, calculou-se a energia metabolizável aparente (EMA) e a energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) por meio das seguintes fórmulas:

$$\text{EMA} = ((\text{MS ingerida} * \text{EB ração}) - (\text{MS excretada} * \text{EB excretada})) / \text{MS ingerida}$$

$$\text{EMAn} = ((\text{MS ingerida} * \text{EB ração}) - (\text{MS excretada} * \text{EB excretada}) - 8,22 \text{ BN}) / \text{MS ingerida}$$

$$\text{BN} = (\text{MS ingerida} * \text{N ração}) - (\text{MS excretada} * \text{N excretado})$$

8,22 = fator que corresponde a 8,22 kcal de energia bruta por cada grama de nitrogênio retido

Foram feitas amostragens das fontes de fibras utilizadas nas rações e analisadas conforme Englyst, Quigley e Hudson (1994) para concentração de polissacarídeos não amiláceos.

2.1.2 *Tratamentos*

Os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma:

- A – Ração sem inclusão de fonte de fibra
- B – Ração com inclusão de farelo de trigo como fonte de fibra;
- C – Ração com inclusão de fibra insolúvel (celulose);
- D – Ração com inclusão de fibra solúvel (pectina).

2.1.3 *Rações*

Os valores dos ingredientes utilizados estão de acordo com Rostagno et al. (2017). A composição das rações e seus valores nutricionais estão na Tabela 1.

2.2 *Experimento desempenho*

2.2.1 *Aves, instalações e manejo*

Para as análises de desempenho, 576 poedeiras Lohmann[®], com 56 semanas de idade, foram distribuídas em quatro tratamentos, cada tratamento com seis repetições de 24 aves cada. O critério de seleção das aves para o experimento foi o peso corporal, baseando-se na uniformidade entre as unidades experimentais.

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa”, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada no município de Igarapé/MG. As aves foram alojadas em galpão de postura convencional, não climatizado, equipado com gaiolas na densidade de 337 cm²/ave, com um total de seis aves por gaiola. As repetições dos tratamentos foram isoladas por um separador de madeira, impedindo o acesso das aves à ração de outra repetição. O manejo das aves foi o mesmo adotado na Fazenda Experimental. O arraçamento foi realizado diariamente e a coleta de ovos foi efetuada quatro vezes ao dia. O programa de luz utilizado foi de 14 horas de luz/dia, sendo 12 horas de luz natural e 2 horas de luz artificial, fornecendo-se uma hora pela madrugada e uma hora no período da noite. As gaiolas foram equipadas com comedouros tipo calha de PVC, com arraçamento manual e bebedouros do tipo copinho (um bebedouro para duas gaiolas). As aves receberam água e ração à vontade.

Os procedimentos adotados foram aprovados pelo comitê de ética de uso de animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG – nº. 220/2021).

2.2.2 Tratamentos

Os tratamentos para análise de desempenho foram os mesmos descritos no experimento de digestibilidade (Tabela 1).

2.2.3. Rações

As rações foram formuladas utilizando os valores dos ingredientes indicados nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017), exceto para celulose e pectina, em que os teores nutricionais dessas fontes de fibra foram fornecidos pelo fabricante (1%).

Tabela 1. Composição percentual das rações e seus respectivos valores nutricionais calculados

Ingredientes (g/Kg)	A	B	C	D
Milho	64,20	63,50	64,20	64,20
Farelo de soja 46% PB	21,00	20,30	20,60	20,60
Farinha de carne e ossos 48% PB	2,50	2,40	2,70	2,70
Calcário	10,80	10,87	10,77	10,77
Suplemento vitamínico e mineral ^a	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-Metionina	0,11	0,11	0,11	0,11
L-Lisina	0,00	0,00	0,00	0,00
Cloreto de Colina	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte	0,77	-	-	-
Farelo de Trigo	-	2,20	-	-
Celulose	-	-	1,0	-
Pectina	-	-	-	1,00
Níveis nutricionais calculados				
Proteína bruta, %	16,13	16,05	16,04	16,04
Energia metabolizável, Kcal/Kg	2.691	2.689	2.687	2.687
Energia metabolizável galinhas, Kcal/Kg	2.728	2.729	2.724	2.724
Cálcio, %	4,30	4,31	4,31	4,31
Fósforo disponível, %	0,25	0,25	0,26	0,26
Lisina digestível, %	0,74	0,72	0,73	0,73
Metionina digestível, %	0,36	0,36	0,36	0,36
Treonina digestível, %	0,53	0,52	0,52	0,52

^a Suplemento vitamínico mineral (composição por kg do produto): Vit. A 8.000.000 UI, Vit D3 2.100.000 UI, Vit E 7.000 mg, Vit. K3 2.000 mg, Vit B₁ 1.000 mg, Vit. B₂ 3.000 mg, Vit. B₆ 700 mg, Vit B₁₂ 6.000 mg, Ácido Fólico 100 mg, Biotina 10 mg, Niacina 20.000 mg, Pantotenato de cálcio 10.000 mg, Antioxidante 2.000 mg, Manganês 55.000 mg, Zinco 40.000 mg, Ferro 50.000 mg, Cobre 6.000 mg, Cobalto 100 mg, Iodo 1.000 mg, Selênio 200 mg.

2.2.4 Análise de desempenho

O período experimental teve duração de 17 semanas e as variáveis obtidas foram: produção de ovos registrada diariamente, de acordo com cada repetição experimental, sendo posteriormente calculada a porcentagem de postura semanal. Ao final do período experimental foi calculado o percentual médio de produção. Número de ovos por ave alojada, ao final do período experimental foi calculado o percentual médio de produção por ave alojada no início da fase de produção. Consumo diário de ração, a ração diária

correspondente a cada repetição foi pesada no início da semana e armazenada em baldes identificados. Ao final de cada semana, a sobra de ração no comedouro foi pesada e, por diferença, foi determinado o consumo de ração diário, expresso em g/ave. Conversão alimentar foi obtida de duas maneiras: 1) dividindo-se o total de ração consumida por dúzias de ovos produzidas pelas aves de cada repetição durante o experimento (Kg ração/dúzia ovos); 2) divisão do total de ração consumida pelas aves da repetição pelo peso total de ovos produzidos no mesmo período (Kg ração/Kg ovos). Viabilidade, o número de aves mortas foi registrado diariamente e calculado a porcentagem de mortalidade, e a partir dessa taxa, calculada a porcentagem de viabilidade. A fim de complementar os dados obtidos anteriormente, o peso corporal foi obtido ao final do experimento (73 semanas de idade), totalizando duas pesagens (56 e 73 semanas) com a pesagem de todas as aves de cada repetição, e expresso em gramas. A cada período de 28 dias, todos os ovos produzidos no dia foram coletados, identificados e pesados para obtenção do peso médio dos ovos (em gramas), de acordo com as repetições de cada tratamento. Ao final do período experimental foi calculado o peso médio dos ovos produzidos.

2.3. Avaliações do trato gastrintestinal

2.3.1. Peso relativo dos órgãos

Ao final do período experimental, foram selecionadas seis aves por tratamento, sendo cada ave considerada uma repetição. O critério de seleção das aves foi o peso médio do tratamento ($\pm 5\%$). As aves foram eutanasiadas por deslocamento cervical para a retirada dos órgãos do trato gastrintestinal (proventrículo, moela, fígado e intestinos). O proventrículo e a moela foram devidamente esvaziados para a obtenção do peso dos órgãos vazios. Todos os órgãos foram pesados em balança de precisão de 2 g e os dados expressos em g/kg de peso vivo.

2.3.2. Comprimento relativo dos intestinos

Os intestinos foram medidos (cm) com o auxílio de uma fita métrica do início do duodeno até a junção com os cecos. Para a delimitação das partes do intestino delgado, considerou-se como duodeno a alça que envolve o pâncreas, o jejuno até o divertículo de Meckel e o íleo até a junção dos cecos.

2.4. Análise Econômica

A avaliação econômica e financeira dos quatro tratamentos foi realizada a partir das informações dos desembolsos com alimentação das aves em função dos tratamentos, da receita total, receita menos custo alimentar (RMCA) e comprometimento das receitas em nutrição (CRCN), representadas pelas equações abaixo:

$$\text{Desembolsos com alimentação} = \left(\sum C_{ij} \times P_j \right) \times R\$_i$$

C = representa o somatório do consumo da dieta i em kg na semana j; P, o número de semana no período total do ensaio j; e R\$_i\$, o custo da dieta i utilizada na alimentação (R\$) na semana j.

$$\text{Receita total} = \left(\sum PRO_{ij} \times P_j \right) \times R\$_{ovo}$$

PRO = representa o somatório da produção de ovos (unidades) da dieta i na semana j; P, o número de semana no período total do ensaio j; e R\$_{ovo}\$, o preço da unidade do ovo produzida.

$$RMCA = \text{Receita total} - \text{Desembolsos com alimentação}$$

$$CRCN = (\text{Desembolsos com alimentação} / \text{Receita total}) \times 100$$

As bases de dados utilizadas para a obtenção de informações sobre os preços dos insumos utilizados na dieta e do produto foram obtidas de fornecedores e da Companhia Nacional de Abastecimento Agropecuário (CONAB, 2020).

A inclusão do risco da mudança das dietas foi obtida a partir de um modelo estocástico utilizando a simulação de Monte Carlo (SMC), com simulações realizadas utilizando o software Crystal Ball®, versão 11.1.2.4.850 para Microsoft Office®.

Para a execução da SMC, um modelo determinístico (caso base) foi construído considerando os indicadores: receita total, desembolsos com nutrição, receita menos custo alimentar e comprometimento de receitas com nutrição, obtidos neste ensaio. Em seguida, um modelo constituído pela receita e custo adicional em função dos tratamentos em contraste ao tratamento controle. Assim, foram definidas as variáveis de entrada (inputs) e saída (output).

Os inputs considerados na construção do modelo foram: 1) receita adicional da dieta *i*; 2) desembolso adicional das dietas *i*; As distribuições de probabilidade foram ajustadas usando os testes de Kolmogorov Smirnov (K-S), Qui-Quadrado (X^2) e Anderson-Darling (D-A) com base no AIC, onde as variáveis obedeceram uma distribuição normal.

O output foi composto pelos Prejuízo/Lucro em função da troca do tratamento. Foram realizadas 10.000 interações para as variáveis de inputs e outputs.

2.5. Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso (DIC). Nas avaliações da metabolizabilidade, o DIC foi composto por quatro tratamentos e cinco repetições com três aves em cada. Para análise do desempenho produtivo e análise econômica, o DIC foi composto por quatro tratamentos e seis repetições com 24 aves cada.

As análises de dados foram realizadas através do software SAS (2002), declarando-se como 5% a probabilidade do erro tipo 1. Os dados foram submetidos à análise de variância e foram verificados quanto aos pressupostos estatísticos de normalidade e homocedasticidade.

3. RESULTADOS

3.1. Digestibilidade

A influência da fibra sobre as medidas de desempenho e fisiologia dos animais não ruminantes não depende somente do teor de parede celular incorporado à dieta, mas também dos constituintes dessa parede, como sua composição química e associação com demais nutrientes. Conforme observado na tabela 2 os principais constituintes dos polissacarídeos não amiláceos encontrados na celulose (fonte de fibra insolúvel) foram: xilose (4,3%), manose (9,3%) e glicose (33,1 %), que são os principais constituintes das hemiceluloses. Já a pectina (fonte de fibra solúvel) possuem como principais constituintes arabinos (2,9%), galactose (4,6%) e o ácido galacturônico (72,2%). O ácido galacturônico que aparece em grande proporção é o principal constituinte da pectina, responsável pela formação do gel no trato gastrointestinal dos animais.

Não houve efeito dos tratamentos para os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) ($p>0,05$) (Tabela 3).

Já para o coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), o tratamento controle apresentou o maior coeficiente de digestibilidade de matéria seca e o tratamento de fonte de fibra mista (farelo de trigo) apresentou o menor coeficiente. Os tratamentos de fonte insolúvel e solúvel não diferiram estatisticamente dos demais ($p\leq 0,05$). Para o coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE), o tratamento controle e o de inclusão da fibra insolúvel apresentaram o maior coeficiente, seguido pelo tratamento com fonte de fibra solúvel e o pior coeficiente foi observado no tratamento com inclusão da fonte mista de fibra ($p\leq 0,05$).

Conforme apresentado na tabela 4, o pH e umidade das excretas das aves não foram alteradas ($p>0,05$) em função dos tratamentos.

Tabela 2. Concentração de Polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) em matéria natural (%) no farelo de trigo, casca de soja e casca de café

FONTES FIBRAS	RAMNOSE			FUPOSE			ARABINOSE			XILOSE			MANOSE			GALACTOSE			GLICOSE			ÁCIDO GALACTURÔNICO		
	S	I	T	S	I	T	S	I	T	S	I	T	S	I	T	S	I	T	S	I	T	S	I	T
CELULOSE	0	0	0	0	0	0	0,10	0,80	1,00	0,00	4,30	4,30	0,50	8,80	9,30	0,20	1,40	1,60	0,70	32,50	33,10	0	0	0
PECTINA	0	0	0	0	0	0	2,90	0	2,90	0,20	0	0,20	0,30	0,10	0,40	4,60	0,00	4,60	1,30	0,30	1,60	72,20	0	72,20

S= Solúvel ; I = Insolúvel; T = Total

Tabela 3. Coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) com base na matéria seca das aves na fase de produção de acordo com as fontes de fibras na ração

Tratamentos	CDMS(%)	CDPB (%)	CDEE (%)	EMA (Kcal/Kg)	EMAn (Kcal/Kg)
Controle	84,28 a	91,44	93,32 a	3,321	3,187
Mista	80,28b	92,08	86,10 c	3,329	3,133
Insólúvel	83,26 ab	91,74	94,34 a	3,255	3,109
Solúvel	83,17 ab	92,51	89,94 b	3,268	3,103
Valor de p	0,012	0,684	<0,001	0,206	0,117
CV (%)	2,07	1,57	1,53	1,92	1,81

Médias seguidas por letras distintas na coluna foram consideradas diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
CV: Coeficiente de variação

Tabela 4. pH e Umidade das excretas das aves na fase de produção de acordo com as fontes de fibras na ração

Tratamentos	pH	Umidade (%)
Controle	6,33	73,24
Mista	6,36	72,49
Insólúvel	6,54	73,49
Solúvel	6,23	75,25
Valor de p	0,179	0,096
CV (%)	3,28	2,24

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p > 0,05$).
CV: Coeficiente de variação

3.2 Análise de desempenho

Tabela 5: Dados de desempenho das aves submetidas a diferentes inclusões de fontes de fibras

Tratamentos	Peso Inicial (Kg)	Peso Final (Kg)	Viabilidade (%)	CMR (g)
Controle	1,686	1,690	96,53	113,8
Mista	1,686	1,692	94,45	115,0
Insolúvel	1,703	1,687	95,83	113,0
Solúvel	1,700	1,657	94,43	112,2
Valor de P	0,699	0,543	0,894	0,814
CV (%)	1,87	2,76	5,97	4,53

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

CMR: consumo médio de ração.

CV: Coeficiente de variação

Tabela 6: Dados de produção das aves submetidas a diferentes inclusões de fontes de fibras

Tratamentos	Produção de ovos (%)	OAA	Peso ovo (g)	CA/Dz (Kg: Dz)	CA/Kg (Kg:kg)
Controle	89,74	106,84	63,4	1,52	1,98
Mista	90,09	104,27	63,2	1,57	1,99
Insolúvel	87,86	102,77	63,7	1,60	2,01
Solúvel	88,99	104,94	63,4	1,52	1,97
Valor de P	0,395	0,319	0,774	0,181	0,829
CV (%)	2,65	3,53	1,52	4,52	4,36

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste F ($p > 0,05$).

OAA: ovo/ave/alojada; CA/Dz: conversão alimentar por dúzia de ovos; CA/kg: conversão alimentar por kg de ovo

CV: Coeficiente de variação

Não houve efeito dos tratamentos para as variáveis de desempenho analisadas ($p > 0,05$). O mesmo foi observado para as variáveis de peso relativo da moela, proventrículo e intestino e comprimento do intestino das aves alimentadas com diferentes fontes de fibras ($p > 0,05$) (Tabela 7).

3.5 Peso relativo dos órgãos e comprimento do intestino

Tabela 7 – Peso relativo da moela, proventrículo, intestino (%) e comprimento do intestino de poedeiras leves alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de fibra

Tratamentos	Moela (%)	Proventrículo (%)	Intestino (%)	Intestino (cm)
Controle	1,62	0,54	4,25	132,83
Mista	1,61	0,44	4,27	138,00
Insolúvel	1,62	0,44	4,10	127,50
Solúvel	1,59	0,42	3,71	132,67
Valor de P	0,992	0,059	0,150	0,589
CV (%)	11,02	16,76	11,05	9,77

Médias seguidas por letras distintas na coluna foram consideradas diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

CV: coeficiente de variação

3.6 Análise econômica

Tabela 8 - Receita, desembolsos com nutrição, receita menos custo alimentar (RMCA) e comprometimento das receitas com nutrição em função das diferentes fontes de fibras na dieta de poedeiras leves

Tratamentos	Receita (R\$/ave/semana)	Desembolsos (R\$/ave/semana)	RMCA (R\$/ave/semana)	Comprometimento das receitas com nutrição (%)
Controle	3,01	1,27 ^b	1,75 ^a	42% ^c
Mista	2,98	1,28 ^b	1,70 ^a	43,0% ^{bc}
Insolúvel	2,90	1,31 ^b	1,59 ^a	45,1% ^b
Solúvel	2,99	2,77 ^a	0,17 ^b	94,00% ^a
Valor de P	0,0681	1,58E-17	2,38E-16	6,44E-18
EPM	0,030	0,023	0,046	0,0073
CV (%)	2,50	3,70	8,64	3,55

* Custo dos tratamentos em R\$/Kg respectivamente: R\$1,59; R\$1,59; R\$1,66; R\$3,58

**Letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença entre as receitas por ave por semana ($p > 0,05$) já que o preço de venda dos ovos foi o mesmo e não houve diferença no número de ovos por ave durante

o período experimental. Os desembolsos com as dietas foram maiores ($p \leq 0,05$) para a dieta que continha pectina não diferindo das demais. A dieta com inclusão de pectina, fonte de fibra solúvel, foi a que apresentou o maior valor por quilo de ração em função da utilização de uma fonte purificada de pectina com alto custo no mercado. As demais fontes possuíam preços mais acessíveis. Sendo 2,25 vezes maior que a dieta controle A (sem inclusão de fonte adicional de fibra). Conseqüentemente é a dieta que apresenta o maior comprometimento das receitas com nutrição, 94,00% e tendo uma RMCA/ave/por período de R\$ 0,17, ou seja, após o pagamento das despesas relacionadas com a nutrição resta ao produtor o montante de R\$ 0,17 para quitar as demais despesas (Tabela 8).

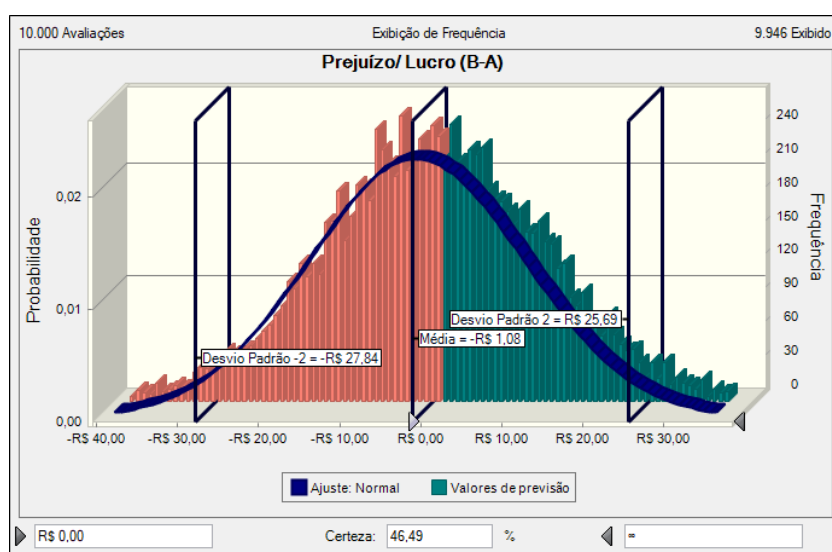


Figura 1. Probabilidades e distribuição de frequência para Lucro/Prejuízo em função da troca B-A

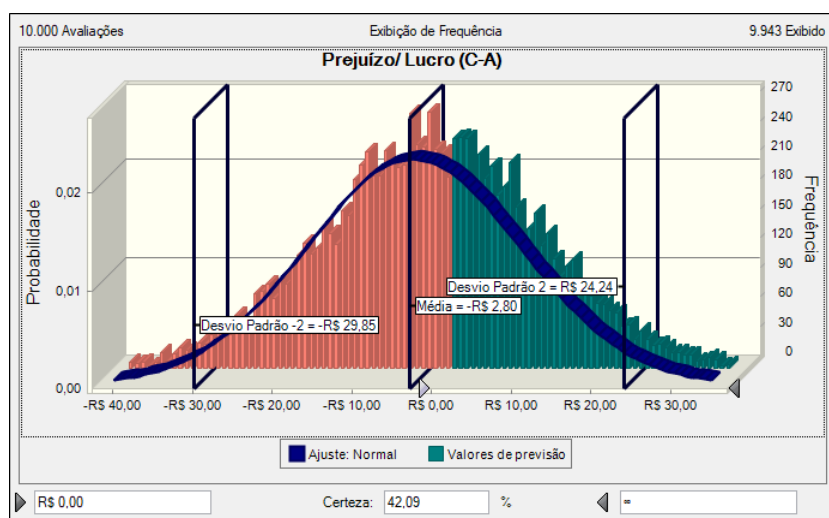


Figura 2. Probabilidades e distribuição de frequência para Lucro/Prejuízo em função da troca C-A

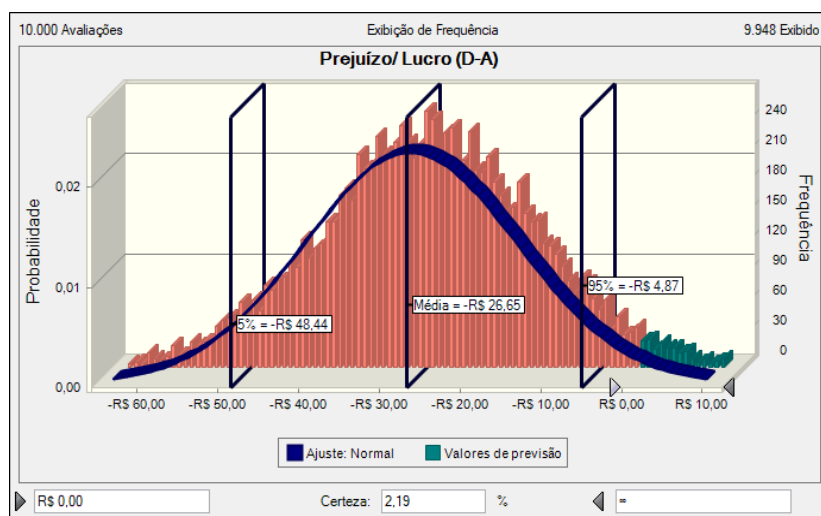


Figura 3. Probabilidades e distribuição de frequência para Lucro/Prejuízo em função da troca D-A

4. DISCUSSÃO

As características da fibra no trato gastrointestinal das aves favorecem a regulação da morfologia intestinal (Sklan *et al.*, 2003 e Rezaei *et al.*, 2018), interação com os nutrientes da digesta (Hetland *et al.*, 2003) e modulação da atividade e morfologia geral dos órgãos digestivos (Jorgensen *et al.*, 1996 e Sittiya *et al.*, 2020), resultando em mudanças na utilização e metabolismo dos nutrientes e consequentemente no desempenho das aves (Tejeda e Kim, 2021).

Segundo Mateos *et al.* (2012), a inclusão de tipos específicos de fibras insolúveis, como a celulose em 3-5% na dieta, pode melhorar o aproveitamento de nutrientes, além de influenciar a atividade enzimática do pâncreas e o peristaltismo que pode levar a aumento na digestibilidade dos nutrientes. O peristaltismo reverso faz com que os sais biliares cheguem à moela, onde o bolo alimentar está sendo misturado com as secreções gástricas. Isso resulta em melhor emulsificação da gordura, reduzindo o potencial das gotículas de gordura para revestir os nutrientes e, como consequência, os nutrientes são mais prontamente hidrolisados e absorvidos (Hetland *et al.*, 2004). O que corrobora com os achados deste experimento nos quais a inclusão de celulose como fonte de fibra insolúvel

apresentou os melhores CDEE e CDMS. Já para os demais coeficientes (CDPB, EMA e EMAn) a não influência pode ser explicada pela inclusão, já que neste trabalho a inclusão das fontes insolúvel e solúvel foram de 1%, conforme indicação dos fabricantes. O que abre um caminho para a utilização de mais fontes de fibra na nutrição de poedeiras, já que são dietas que possuem baixa inclusão das fontes de fibras utilizadas, logo sua utilização nos níveis avaliados dependeria mais da disponibilidade, objetivo e custos de aquisição.

Aves mais velhas possuem trato gastrointestinal mais desenvolvido e com isso maior capacidade de se adaptarem as alterações realizadas na dieta (Sousa *et al.*, 2019). Esse desenvolvimento em função da idade juntamente com o fato de que ainda se utiliza como referência os valores de energia metabolizável determinados com frangos de corte com aproximadamente 20 dias de idade, sugere que os valores de referências utilizados para galinhas podem estar superestimados. Mesmo referências mais atuais que trazem valores de energia metabolizável específicos para galinhas (Rostagno *et al.*, 2017), os valores estabelecidos para frangos de corte continuam sendo utilizados como referências para poedeiras. Desta forma, podemos ter um excesso de valorização de energia empregado nas formulações de rações (Tabela 1) o que poderia explicar a não diferenciação dos coeficientes de EMA e EMAn encontrados nesse trabalho (Tabela 3).

Outro ponto que pode ser levado em consideração é o tamanho das partículas das fontes de fibras utilizadas nas dietas das aves. Segundo Ferrando *et al.* (1987), a diferença entre os tamanhos das partículas das fibras solúveis e insolúveis afetam a taxa de passagem intestinal depende do local de ação de cada tipo de fibra. Quando a fibra insolúvel é fornecida como partículas maiores que 1,5 mm, ela pode se acumular na parte superior do trato gastrointestinal, ou seja, moela e alça do duodeno, onde a maior parte da digesta se mistura com enzimas e onde ocorre a trituração mecânica (moela). Sendo o que foi observado neste trabalho, a fonte de fibra insolúvel possuía tamanho médio de partícula de 1,78mm e a ração como um todo 1,32 mm. O que não foi observado nas demais fontes de fibras utilizadas como a fonte mista e solúvel que apresentavam tamanho médio de partículas de 0,88mm e 0,21mm, respectivamente e conseqüentemente suas rações que apresentaram 0,99mm e 1,16mm. Já a ração controle na qual não houve inclusão de fonte adicional de fibra foi a que apresentou tamanho médio de partícula mais próximo com a da ração com fonte insolúvel de 1,23mm, o que pode explicar os resultados obtidos. Logo conclui-se que partículas maiores de fibras podem ajudar na

retenção do bolo alimentar na porção superior do trato gastrointestinal, diminuindo a taxa de passagem e aumentando a exposição dos componentes da alimentação ao HCl e às enzimas do proventrículo. Isso resulta no acúmulo de fibras insolúveis na moela e aumenta o refluxo gastroduodenal e a subsequente digestibilidade dos nutrientes (Hetland *et al.*, 2004 e Sacranie *et al.*, 2012).

Em relação as fontes de fibras solúveis, estas podem produzir alta viscosidade no intestino delgado podendo afetar a ingestão de ração devido à menor taxa de passagem, que por sua vez pode causar proliferação microbiana no intestino. Os β -glucanos e as pentosanas solubilizados parecem atuar como uma barreira da difusão dos nutrientes, limitando a taxa de absorção, podendo causar diversos problemas como excretas aquosas, devido à alta retenção de água no trato gastrointestinal dos animais (Tavernari *et al.*, 2010). O que não foi observado nos resultados obtidos no presente trabalho. A formação de gel é a principal característica funcional da pectina e depende essencialmente das características do meio: pH, teores de sólidos solúveis e cátions divalentes, além de depender dos níveis de pectinas e do seu grau de metoxilação (Paiva *et al.*, 2009). A pectina é um ácido com valor de pK de aproximadamente 3,5 aumentando a relação entre os grupos ácidos dissociados e grupos ácidos não dissociados. Logo a formação de géis pode aumentar fortemente quando ocorre a redução do pH do sistema. Outro ponto é a interação com outras substâncias, já é sabido que os polissacarídeos amiláceos solúveis como a pectina são solúveis em água porém podem ser tornar insolúveis se os grupos carboxilas se combinarem com Ca^{++} ou Mg^{++} para formar sais (Mukaicorrêa, 2008 e Menezes *et al.*, 2015).

Para melhores avaliações e definições sobre o efeito da fibra, existem diferentes fatores que precisam ser levados em consideração, como fonte de fibra (ou seja, solúvel x insolúvel), tamanho de partícula, nível de inclusão, espécie, idade, estado, níveis de energia, proteína e aminoácidos na dieta e a duração da inclusão (Hetland e Svihus, 2001; Tejeda e Kim, 2020). A maioria dos estudos relata mudanças no desempenho quando a fibra insolúvel é incluída nas dietas (Tejeda e Kim, 2021), o que não foi observado neste trabalho, e que corrobora com os achados de Sousa *et al.* (2019), nos quais os autores justificam que a composição das fontes de fibra utilizadas não foi capaz de promover alterações na viscosidade da digesta a ponto de comprometer o consumo de ração e consequentemente o desempenho das aves. O que geralmente é observado é uma melhora na eficiência alimentar e peso corporal quando há inclusão de fibras insolúveis, porém

Tejeda e Kim (2021) ressaltam que a maioria dos trabalhos não formulam dietas isonitrogenadas e isocalóricas, podendo ser um dos motivos das diferenças observadas nos resultados obtidos com o uso da fibra alimentar.

As aves quando recebem dietas com altos teores de fibras têm capacidade de modificar o metabolismo e características do trato gastrointestinal para melhorar o aproveitamento dos nutrientes (Sousa *et al.*, 2019). Um papel importante da moela é regular o tamanho das partículas da digesta no trato gastrointestinal (Shivus 2011), com a capacidade de detectar e modular a passagem do alimento do trato digestivo superior para o intestino delgado com base no tamanho da partícula. Fatores como tipo de fibra e tamanho de partícula são determinantes e estimulam a atividade muscular da moela, resultando em aumento de tamanho (González-Alvarado *et al.*, 2008). A retenção normal de ração na moela tem sido demonstrada entre meia hora a uma hora, podendo aumentar até duas horas quando componentes estruturais (ou seja, fibras) são adicionados às dietas (Van der Klis *et al.*, 1990 e Tejeda e Kim, 2021). Amerah *et al.* (2009) relataram que a inclusão de 6% de maravalha aumentou o tamanho da moela e reduziu o peso relativo do intestino delgado. Sousa *et al.* (2019) também observaram maior peso relativo da moela nas aves que receberam casca de café (fibra solúvel) como fonte de fibra. O que não foi observado neste trabalho (Tabela 6), o tamanho da partícula da fibra solúvel que foi incluída na dieta das aves inferior a 1,5mm pode ter sido crucial para o não desenvolvimento da moela.

Após a análise do risco da mudança das dietas, pode-se observar que ao realizar a troca da ração controle pela ração com fonte mista de fibra a probabilidade de lucro gira em torno de 46,49%. Já a substituição da ração controle pela ração com inclusão de fonte de fibra insolúvel 42,09% e pela ração com inclusão de fonte de fibra solúvel apenas 2,19% em condições semelhantes ao deste ensaio.

A inclusão de farelo de trigo e lignocelulose apresentam riscos econômicos semelhantes na produção de ovos, apesar de aumentar o comprometimento da receita com nutrição, em dietas de poedeiras leves após o pico de postura em condições semelhantes ao que o ensaio foi realizado. Em relação a inclusão de pectina, a mesma apresentou baixa probabilidade de lucro em função do seu alto custo e conseqüentemente maior comprometimento da receita com nutrição.

5. CONCLUSÃO

Na quantidade e tamanho de partículas semelhantes a utilizada nesse trabalho as fontes de fibras podem ser utilizadas na dieta de poedeiras sem prejudicar o desempenho da ave. A escolha do tipo de fibra vai depender do valor de aquisição da mesma.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 408696/2018-4). Os autores agradecem a colaboração da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R.G. Influence of insoluble fibre and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 50, 366–375. 2009.

ARAUJO, D.M.; SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A. Farelo de trigo na alimentação de poedeiras semipesadas na fase de recria. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.1, p.67-72, 2008.

FERRANDO, C.; VERGARA, P.; JIMÉNEZ, M.; GOÑALONS, E. Study of the Rate of Passage of Food With Chromium-Mordanted Plant Cells in Chickens (*Gallus Gallus*). *Q. J. Exp. Physiol.* 72, 251–259.1987.

GONZÁLEZ-ALVARADO, J.M.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; VALENCIA, D.G.; LÁZARO, R.; MATEOS, G.G. Effects of Fiber Source and Heat Processing of the Cereal on the Development and pH of the Gastrointestinal Tract of Broilers Fed Diets Based on Corn or Rice. *Poult. Sci.* 87, 1779–1795.2008.

HETLAND, H.; SVIHUS, B. Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 42, 633–637.2001.

HETLAND, H.; SVIHUS, B.; KROGDAHL, Å. Effects of oat hulls and wood shavings on digestion in broilers and layers fed diets based on whole or ground wheat. *Br. Poult. Sci.* 44, 275–282.2003.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. *Worlds Poult. Sci. J.* 60, 415–422. 2004.

JHA, R.; SINGH, A.K.; YADAV, S.; BERROCOSO, J.F.D.; MISHRA, B. Early nutrition programming (in ovo and post-hatch feeding) as a strategy to modulate gut health of poultry. *Front Vet Sci.* 6:82, 2019.

JORGENSEN, H.; ZHAO, X.-Q.; KNUDSEN, K.E.B.; EGGUM, B.O. The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. *Br. J. Nutr.* 75, 379–395. 1996.

MATEOS, G.G.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; SERRANO, M.P.; LÁZARO, R.P. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. *J. appl. Poult. Res.* 21:156–174. 2012.

MENEZES, M.F.S.C.; ZANCAN RODRIGUES, L.; PASQUALIN, C.C.; ETCHEPARE, M.A.; MENEZES, C.R. Microencapsulação de probióticos por gelificação iônica externa utilizando pectina. *Ciência e Natura.* 37: 5, 2015.

PAIVA, E. P. et al. Pectina: Propriedades Químicas e Importância sobre Estrutura da Parede Celular de Frutos Durante o Processo De Maturação. In: Propiedades químicas de las pectinas. *Revista Iberoamericana de Polímero*, 10, 4, 196-211,2009.

REZAEI, M.; TORSHIZI, M.A.K.; WALL, H.; IVARSSON, E. Body growth, intestinal morphology and microflora of quail on diets supplemented with micronised wheat fibre. *Br. Poult. Sci.* 59: 422–429, 2018.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F. de; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.* 4. ed. – Viçosa, MG: UFV, DZO, 2017, 488p.

SACRANIE, A.; SVIHUS, B.; DENSTADLI, V.; MOEN, B.; IJI, P.A.; CHOCT, M. The effect of insoluble fiber and intermittent feeding on gizzard development, gut motility, and performance of broiler chickens. *Poult. Sci.* 91, 693–7.2012.

SVIHUS, B. The gizzard: Function, influence of diet structure and effects on nutrient availability. *Worlds Poult. Sci. J.* 67, 207–223.2011.

SITTIYA, J.; YAMAUCHI, K.; NIMANONG, W.; THONGWITTAYA, N. Influence of levels of dietary fiber sources on the performance, carcass traits, gastrointestinal tract development, fecal ammonia nitrogen, and intestinal morphology of broilers. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 22, 1–8.2020.

SKLAN, D.; SMIRNOV, A.; PLAVNIK, I. The effect of dietary fibre on the small intestines and apparent digestion in the turkey. *Br. Poult. Sci.* 44,735–740, 2003.

SOUSA, L. S.; CARVALHO, T. S. M.; NOGUEIRA, F. A.; SALDANHA, M. M.; VAZ, D. P.; BERTECHINI, A. G.; BAIÃO, N. C. AND LARA, L. J. C. Fiber source and xylanase on performance, egg quality, and gastrointestinal tract of laying hens. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 48.2019.

TEJEDA, O.J.; KIM,W.K. The effects of cellulose and soybean hulls as sources of dietary fiber on the growth performance, organ growth, gut histomorphology, and nutrient digestibility of broiler chickens. *Poult. Sci.* 99, 6828–6836. 2020.

TEJEDA, O.J.; KIM,W.K. Role of Dietary Fiber in Poultry Nutrition. *Animals.* 11:461, 2021.

WILLIAMS BA, GRANT LJ, GIDLEY MJ, MIKKELSEN D. Gut fermentation of dietary fibres: physico-chemistry of plant cell walls and implications for health. *Int J Mol Sci.* 18(10):2203, 2017.

CAPÍTULO 3

Efeito da fibra solúvel e insolúvel sobre a qualidade de ovos e concentração lipídica do sangue e dos ovos de poedeiras leves

RESUMO

Foram realizadas duas análises de qualidade de ovo e concentração lipídica do sangue e de ovos de poedeiras Lohmann® com 65 e 72 semanas de idade com objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de fontes de fibra insolúveis, solúveis e mista na dieta de poedeiras . Os tratamentos foram: controle sem inclusão de fonte adicional de fibra, farelo de trigo, (fibra mista), celulose (fibra insolúvel) e pectina (fibra solúvel). Para análise de qualidade de ovos foram utilizados 24 ovos por tratamento, sendo cada ovo considerado uma unidade experimental. Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso do ovos, porcentagem de gema, albúmen e casca, Unidades Haugh, peso específico, espessura de casca, resistência da casca a quebra e cor de gema. Para análise de concentração lipídica foram avaliados 30 ovos por tratamento, totalizando 120 ovos por análise. Já para quantificação de colesterol foi realizada a coleta de sangue de seis aves por tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), para as análises de qualidade dos ovos. A inclusão de fontes de fibras não foi capaz de alterar o peso e componentes dos ovos, bem como a concentração de colesterol tanto no ovo quanto no sangue ($p>0,05$). A inclusão de fontes de fibra solúvel e insolúvel melhorou os parâmetros de peso específico e espessura de casca ($p\leq 0,05$). A inclusão de fonte de fibras na dieta de poedeiras após o pico de postura não é capaz de reduzir a qualidade e o colesterol dos ovos, bem como o colesterol sanguíneo. A inclusão de fonte de fibra insolúvel e solúvel melhorou os parâmetros de qualidade de casca nas concentrações e condições avaliadas neste trabalho.

Palavras-chaves: avicultura, celulose, pectina, solubilidade, colesterol

1. INTRODUÇÃO

A fibra, por muitos anos, foi considerada um fator antinutricional. No entanto, essa visão sobre a separação das fibras está mudando, pois não há padronização de métodos para separar as frações solúveis das insolúveis. As frações de fibras solúveis e insolúveis podem variar dependendo da temperatura, água ou tampão que são utilizados como solvente durante as análises e relação fibra/solvente, levando a limitações significativas na classificação da fibra (Williams *et al.*, 2017).

Tanto as fibras solúveis quanto as insolúveis têm implicações práticas e comerciais para as fábricas de rações e animais não ruminantes, especialmente com o atual aumento dos custos das fontes de fibras e surgimento de novas fontes sintéticas de fibras, o que torna a compreensão do papel funcional de diferentes fibras dietéticas na nutrição de aves um passo fundamental para a produção eficiente (Tejeda e Kim, 2021).

Outro fator relacionado à fibra dietética para poedeiras é a diluição da energia da dieta, a inclusão de fontes de fibra na ração implica na redução do teor de energia da mesma, que é um fator determinante na nutrição de poedeiras. Além da importância econômica (a energia representa o componente mais caro da dieta), a poedeira regula o consumo de ração conforme suas necessidades energéticas. Dessa forma, o uso de dietas com menores teores de energia pode favorecer o consumo de ração e, conseqüentemente, dos nutrientes de modo geral, inclusive de cálcio, o que pode trazer benefícios na qualidade dos ovos (Saldaña *et al.*, 2016). A fibra tem sido mencionada como um fator nutricional com potencial para a redução da concentração de colesterol na gema. De acordo com Lesson e Summers (2001), a fibra solúvel pode ter efeito negativo na digestão dos lipídios, devido à formação de complexos com os sais biliares. Estes complexos reduziram a reabsorção do colesterol e, conseqüentemente, a liponeogênese no fígado, reduzindo a concentração de colesterol nas gemas dos ovos.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da fibra solúvel e insolúvel sobre qualidade dos ovos e concentrações lipídicas do sangue e dos ovos de poedeiras leves após o pico de produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aves, instalações e manejo

Foram utilizadas 576 poedeiras Lohmann[®], com 56 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado composto de quatro tratamentos, com seis repetições e 24 aves cada. O critério de seleção das aves para o experimento foi o peso corporal, baseando-se na uniformidade entre as unidades experimentais. O experimento teve a duração de 17 semanas.

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa”, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada no município de Igarapé/MG. As aves foram alojadas em galpão de postura convencional, não climatizado, equipado com gaiolas na densidade de 450 cm²/ave, com um total de seis aves por gaiola. As repetições dos tratamentos foram isoladas por um separador de madeira, impedindo o acesso das aves à ração de outra repetição. O arraçamento foi realizado diariamente e a coleta de ovos quatro vezes ao dia. O programa de luz utilizado foi de 14 horas de luz/dia, sendo 12 horas de luz natural e 2 horas de luz artificial, fornecendo-se uma hora pela madrugada e uma hora no período da noite. As gaiolas foram equipadas com comedouros tipo calha de PVC, com arraçamento manual e bebedouros do tipo copinho (um bebedouro para duas gaiolas). As aves receberam água e ração à vontade.

Os procedimentos adotados foram aprovados pelo comitê de ética de uso de animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG – nº. 220/2021).

2.1.1 *Tratamentos*

Os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma: controle sem adição de fonte adicional de fibra; inclusão de farelo de trigo (fonte de fibra mista), inclusão de celulose (fibra insolúvel) e inclusão de pectina (fibra solúvel).

2.1.2. Rações

As rações foram formuladas utilizando os valores nutricionais dos ingredientes indicados nas tabelas brasileiras para aves e suínos (Rostagno et al., 2017), exceto para celulose e pectina, em que os teores nutricionais dessas fontes de fibra foram fornecidos pelo fabricante e analisadas para comprovação. A composição das rações de cada tratamento com seus respectivos valores nutricionais encontra-se nas tabelas a seguir:

Tabela 1. Composição percentual das rações e seus respectivos valores nutricionais calculados

Ingredientes (g/Kg)	A	B	C	D
Milho	64,20	63,50	64,20	64,20
Farelo de soja 46% PB	21,00	20,30	20,60	20,60
Farinha de carne e ossos 48% PB	2,50	2,40	2,70	2,70
Calcário	10,80	10,87	10,77	10,77
Suplemento vitamínico e mineral ^a	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-Metionina	0,11	0,11	0,11	0,11
L-Lisina	0,00	0,00	0,00	0,00
Cloreto de Colina	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte (areia)	0,77	-	-	-
Farelo de Trigo	-	2,20	-	-
Celulose	-	-	1,0	-
Pectina	-	-	-	1,00
Níveis nutricionais calculados				
Proteína bruta, %	16,13	16,05	16,04	16,04
Energia metabolizável, Kcal/Kg	2.691	2.689	2.687	2.687
Energia metabolizável galinhas, Kcal/Kg	2.728	2.729	2.724	2.724
Cálcio, %	4,30	4,31	4,31	4,31
Fósforo disponível, %	0,25	0,25	0,26	0,26
Lisina digestível, %	0,74	0,72	0,73	0,73
Metionina digestível, %	0,36	0,36	0,36	0,36
Treonina digestível, %	0,53	0,52	0,52	0,52

^a Suplemento vitamínico mineral (composição por kg do produto): Vit. A 8.000.000 UI, Vit D3 2.100.000 UI, Vit E 7.000 mg, Vit. K3 2.000 mg, Vit B₁ 1.000 mg, Vit. B₂ 3.000 mg, Vit. B₆ 700 mg, Vit B₁₂ 6.000 mg, Ácido Fólico 100 mg, Biotina 10 mg, Niacina 20.000 mg, Pantotenato de cálcio 10.000 mg, Antioxidante 2.000 mg, Manganês 55.000 mg, Zinco 40.000 mg, Ferro 50.000 mg, Cobre 6.000 mg, Cobalto 100 mg, Iodo 1.000 mg, Selênio 200 mg.

2.2 Parâmetros de qualidade dos ovos

As análises dos parâmetros de qualidade dos ovos foram realizadas nos ovos das aves com 65 e 72 semanas de idade. Foram utilizados 24 ovos de cada tratamento, para cada idade da ave, tomados ao acaso, sendo cada ovo considerado uma repetição. As avaliações foram feitas no mesmo dia da postura. As análises foram realizadas no Laboratório de Aves e Ovos, da Escola de Veterinária da UFMG.

2.2.1. Peso específico

Antes das avaliações do peso específico, os ovos foram pesados individualmente em balança analítica digital com precisão de 0,01g. O método de análise foi baseado no princípio de Arquimedes, no qual os valores de peso específico, expressos em g/mL H₂O foram obtidos pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso do ovo no ar} \div (\text{Peso do ovo no ar} - \text{Peso do ovo na água})$$

O equipamento utilizado para esta avaliação foi montado com uma balança de precisão de 0,5 g, e suporte de ferro utilizado para sustentar um recipiente contendo água destilada, que possui espaço adequado para a pesagem do ovo no ar. Lateralmente, foi colocada outra estrutura de ferro, da qual descia uma haste com aro apropriado para a pesagem do ovo dentro da água. O equipamento foi colocado sobre a balança que em seguida foi zerada para iniciar a pesagem dos ovos, sempre com a balança zerada antes da próxima pesagem. Os pesos dos ovos dentro e fora da água foram anotados para o cálculo posterior do peso específico.

2.2.2. Unidade Haugh

Os ovos foram quebrados em mesa com superfície lisa, onde foi aferida a medida da altura de albúmen, utilizando-se um aparelho medidor de Unidade Haugh – Ames modelo S-8400, Massachussets, EUA (Haugh, 1937). A partir dos dados de peso do ovo (precisão de 0,01 g) e altura do albúmen, as UH foram obtidas pela fórmula seguinte, de acordo com (Brant et al., 1951).

$$UH = 100 \log(H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$$

em que:

H = altura do albúmen denso (milímetros);

W = peso do ovo (gramas).

Os dados para o cálculo foram obtidos na mesma amostra utilizada para peso dos ovos.

2.2.3. Porcentagem da gema, casca e albúmen

Para as avaliações das proporções de gema, de albúmen e de casca em relação ao peso do ovo, foram utilizados os mesmos ovos previamente pesados para análise de peso específico. Após a quebra dos ovos, foi separado o albúmen, a gema e a casca. A separação da gema foi realizada manualmente, e o resíduo da clara, aderido à gema, foi removido com auxílio de papel absorvente. Após este procedimento, as gemas foram pesadas individualmente. As cascas, depois de lavadas com água corrente para retirada de resíduos do albúmen, secaram a temperatura ambiente durante 24 horas e foram pesadas individualmente. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo inteiro e o peso da gema mais o peso da casca:

$$\text{Peso do albúmen} = \text{Peso do ovo inteiro} - (\text{Peso da gema} + \text{Peso da casca})$$

2.2.4. Espessura da casca

Os mesmos ovos utilizados para determinação do peso específico foram utilizados para determinação da espessura de casca. A espessura da casca foi medida utilizando-se um micrômetro digital da marca Ames[®], com precisão de 0,010 mm, em três pontos distintos da casca (região apical, equatorial e basal). O resultado foi obtido pela média dos três pontos, expresso em (mm).

2.2.5. Coloração da gema

Os mesmos ovos utilizados para determinação do peso específico foram utilizados para determinação da coloração das gemas, utilizando o leque colorimétrico (DSM YOLK COLOR FAN, 2005 – HMB 51548). Imediatamente após o ovo ser quebrado, a cor da gema foi comparada com a cor correspondente mais próxima do leque de cores, que varia de 1 a 15. Estas avaliações foram feitas pela mesma pessoa, sempre no mesmo local, a fim de evitar variações, principalmente por ser uma análise subjetiva.

2.2.6. Resistência da casca

Foi coletada uma amostra ao acaso de quatro ovos por repetição, sendo cada ovo considerado uma repetição, totalizando 24 ovos por tratamento. Foi determinado em g pressão/mm² (Stadelman, 1995). O referido foi realizado através de Aparelho Egg

Force Reader”, mostrando os dados de saída no RS-232 tela (ORKA, West Bountiful, Utah, EUA).

2.2.7. Concentração de colesterol total na gema dos ovos

As análises foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica, da Escola de Veterinária da UFMG

Na 65^a e 72^a semanas de idade, 30 ovos por tratamento foram coletados aleatoriamente e quebrados para a amostragem de uma porção de gema, que foi congelada até o momento da análise. A gema foi diluída em solução salina 0,9%, na proporção de 0,1g de gema para 0,9mL de salina. A concentração de colesterol na gema dos ovos foi determinada por espectrofotometria (Cobas-Roche), por meio de kit específico, da marca Biotécnica, sendo seu resultado expresso em mg/dL.

2.2.8. Concentração de colesterol total no plasma sanguíneo das aves

As amostras de sangue, de uma ave por repetição, foram colhidas na região do forame magno nos mesmos dias das coletas de ovos para análise de qualidade. Para obtenção do soro, o sangue, depois de coletado, foi deixado em repouso à temperatura ambiente durante 20 minutos e o coágulo obtido foi desprendido cuidadosamente das paredes do tubo por meio de um bastão de vidro de extremidade lisa. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 7100 x g, durante 15 minutos, e, depois da sedimentação do coágulo, o sobrenadante foi pipetado (Lima et al., 2001). As dosagens de colesterol total foram determinadas por espectrofotometria (Cobas-Roche), por meio de kit específico, da marca Biotécnica, sendo seu resultado expresso em mg/dL.

2.3 *Análises Estatísticas*

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), para as análises de qualidade dos ovos foram utilizadas 24 repetições por tratamento; para a análise de concentração de colesterol na gema foram utilizadas 30 repetições por tratamento; para

as avaliações de colesterol sanguíneo foram utilizadas seis repetições por tratamento. As análises de dados foram realizadas através do software SAS (2002), declarando-se como 5% a probabilidade do erro tipo 1. Os dados foram submetidos à análise de variância e foram verificados quanto aos pressupostos estatísticos de normalidade e homocedasticidade.

Os dados foram analisados utilizando-se o procedimento ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey e SNK, conforme o caso, a 5% de probabilidade.

3.RESULTADOS

3.1. Qualidade de ovo

Tabela 2. Peso do ovo, porcentagem de gema, casca e albúmen e unidades Haugh de ovos provenientes de aves com 65 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Tratamentos	Peso Ovo (g)	Gema (%)	Casca (%)	Albúmen (%)	Unidade Haugh
Controle	64,3	30,2	9,35	60,43	91,8
Mista	64,4	29,8	9,35	60,83	91,8
Insolúvel	65,1	30,0	9,28	60,71	89,4
Solúvel	62,5	30,3	9,64	60,07	88,3
CV (%)	6,42	6,66	7,09	3,65	5,45
Valor de P	0,169	0,837	0,270	0,645	0,060

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p>0,05$).

CV: coeficiente de variação

As diferentes fontes de fibra não alteraram os parâmetros de peso do ovo, porcentagem de gema, casca e albúmen, Unidade Haugh (Tabela 2), resistência e espessura da casca, colesterol da gema e colesterol sérico ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Peso específico, resistência e espessura da casca, cor da gema e colesterol da gema e sanguíneo provenientes de aves com 65 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Tratamentos	Peso Específico	Resistência Casca (kgf)	Espessura Casca (mm)	Cor Gema	Colesterol Gema (mg/dl)	Colesterol Sanguíneo (mg/dl)
Controle	1,08 b	3,89	0,38	6,88 a	222,31	166,31
Mista	1,08 b	3,85	0,38	6,38 ab	303,28	162,43

Insolúvel	1,11 a	4,12	0,37	6,33 ab	238,37	171,52
Solúvel	1,11 a	4,23	0,38	6,17 b	220,83	171,24
CV (%)	1,63	20,00	6,07	3,65	61,56	28,20
Valor de P	<0,001	0,3153	0,7574	0,6448	0,1218	0,9845

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p>0,05$). CV: Coeficiente de variação

Houve efeito dos tratamentos para peso específico e cor da gema dos ovos provenientes das aves com 65 semanas de idade ($p\leq 0,05$). Os ovos provenientes das aves que receberam a dieta com inclusão de fonte de fibra insolúvel ou solúvel apresentaram maior peso específico em comparação as aves que receberam a dieta sem inclusão de fonte adicional de fibra ou inclusão de fonte mista (Tabela 3). A cor da gema também foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 3). Os ovos das aves que consumiram a dieta controle apresentaram maiores índices de cor de gema em comparação com os provenientes das aves que receberam a dieta com inclusão de fibra solúvel. Os ovos das aves que receberam a dieta com inclusão de fonte de fibra mista e insolúvel apresentaram cor de gema intermediária e semelhante às demais fontes de fibra ($p\leq 0,05$).

Tabela 04: Peso do ovo, porcentagem de gema, casca e albúmen e unidades Haugh de ovos provenientes de aves com 72 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Tratamentos	Peso Ovo (g)	Gema (%)	Casca (%)	Albúmen (%)	Unidade Haugh
Controle	63,54	29,14	9,44	61,43	87,34 a
Mista	65,17	29,91	9,33	60,76	84,41 ab
Insolúvel	66,04	29,37	9,29	61,34	80,85 b
Solúvel	65,75	29,09	9,51	61,40	83,56 ab
CV (%)	6,73	6,17	7,62	3,02	9,53
Valor de P	0,205	0,380	0,686	0,559	0,042

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p>0,05$).

CV: Coeficiente de variação

As diferentes fontes de fibra não alteraram os parâmetros de qualidade do ovo de aves com 72 semanas de idade como: peso do ovo, porcentagem de gema, casca e albúmen (Tabela 4), resistência e colesterol da gema e sanguíneo ($p>0,05$) (Tabela 5).

Houve efeito dos tratamentos para Unidade Haugh ($p\leq 0,05$), os ovos provenientes das aves que receberam a dieta controle apresentaram maiores valores de Unidade Haugh

quando comparado aos ovos das aves que receberam dieta com inclusão de fonte de fibra insolúvel (Tabela 4). Os ovos das aves que receberam a dieta com fonte adicional de fibra mista e solúvel apresentaram valores intermediários e semelhantes as demais fontes de fibra.

Tabela 05 . Peso específico, resistência e espessura da casca, cor da gema e colesterol da gema e sanguíneo provenientes de aves com 72 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Tratamentos	Peso Específico	Resistência Casca (kgf)	Espessura Casca (mm)	Cor Gema	Colesterol Gema (mg/dl)	Colesterol Sanguíneo (mg/dl)
Controle	1,08	3,85	0,40 ab	7,46 a	326,25	120,92
Mista	1,08	3,91	0,39 ab	7,46 a	346,00	143,70
Insolúvel	1,08	4,10	0,39 b	6,83 b	269,25	133,22
Solúvel	1,08	4,38	0,41 a	7,04 ab	332,04	102,36
CV (%)	0,69	18,34	7,49	11,96	35,80	35,36
Valor de P	0,084	0,074	0,023	0,028	0,051	0,427

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

CV: Coeficiente de variação

Houve efeito dos tratamentos para espessura de casca e cor da gema dos ovos provenientes das aves com 72 semanas de idade ($p \leq 0,05$). A espessura de casca foi maior nos ovos provenientes das aves que receberam dieta com inclusão da fibra solúvel em comparação com os ovos das aves que receberam a dieta com inclusão da fibra insolúvel. Os ovos das aves que receberam dietas sem inclusão de fonte adicional de fibra e com inclusão de fonte mista de fibra apresentaram espessura de casca intermediária e semelhante às demais fontes de fibra (Tabela 5). A cor da gema foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 5). Os ovos das aves que consumiram a dieta controle e com inclusão de fonte mista apresentaram maiores índices de cor de gema em comparação com os ovos provenientes das aves que receberam a dieta com inclusão de fibra insolúvel. Os ovos das aves que receberam a dieta com inclusão de fonte de fibra solúvel apresentaram cor de gema intermediária e semelhante às demais fontes de fibra ($p \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Os pesos dos ovos juntamente com seus componentes (porcentagem de gema, casca e albúmen) não sofreram efeito dos tratamentos ($p > 0,05$), em nenhuma das duas análises

de qualidade realizada nesse experimento (Tabela 2 e 4), bem como o resultado da Unidade Haugh da primeira avaliação (Tabela 2). Segundo Leeson e Summers (2005), os teores de proteína, aminoácidos e gordura são os principais fatores nutricionais que afetam o peso do ovo e, conseqüentemente, a proporção de seus componentes, principalmente em aves mais jovens. Como neste estudo, as poedeiras receberam dietas isonutritivas, ou seja, as rações foram formuladas para conterem níveis nutricionais similares e juntamente com o fator das aves serem mais velhas, sugere-se que os nutrientes ingeridos pelas aves foram suficientes para que os componentes dos ovos se mantivessem estáveis. Os valores de unidade Haugh provenientes dos ovos de aves com 72 semanas de idade foram maiores nas aves que receberam a dieta controle, os menores valores foram observados nos ovos das aves que receberam a dieta com inclusão da fibra insolúvel. Segundo Menezes et al. (2012), a diminuição da unidade Haugh é dada principalmente em função do tempo de armazenamento e aumento no pH, consequência da perda de CO₂ pela casca, que causa alterações no complexo lisozima-ovomucina, responsável da consistência gelatinosa da albumina, levando a degradação da albumina e fazendo com que ela fique mais líquida e, conseqüentemente, reduzindo a altura do albúmen. Como as análises foram realizadas logo após a postura dos ovos, os resultados observados não eram esperados. Ambos os resultados corroboram com os achados de Sousa et al. (2019), aonde os autores, ao incluírem fontes de fibras na dieta, não observaram diferença entre os componentes dos ovos. Ainda segundo Souza et al. (2019), em relação a unidade Haugh, os ovos provenientes das aves que receberam casca de café (fibra mista) apresentaram maiores valores quando comparados aos demais tratamentos.

Houve efeito dos tratamentos para peso específico (Tabela 3) e espessura de casca (Tabela 5). O que não corrobora com os achados de Araujo et al. (2008), que observaram que a inclusão de até 9% de farelo de trigo não influenciou o peso específico dos ovos de poedeiras Lohmann Brown[®] em primeiro ciclo de produção. A inclusão de até 24,8% de farelo de girassol não afetou a porcentagem e espessura da casca dos ovos de poedeiras de 28 a 34 semanas de idade segundo Shi et al. (2012). Sousa et al. (2019) observaram que a inclusão de casca de café (fonte mista de fibra) reduziu a porcentagem de casca e espessura de casca. Tanto o peso específico como a espessura da casca são parâmetros relacionados com a qualidade da casca e intimamente relacionada com a deposição de cálcio.

Nos achados deste trabalho observou-se que a inclusão das fontes de fibra insolúvel e solúvel promoveram os melhores resultados de peso específico na primeira avaliação e espessura da casca na segunda. A formação de gel é a principal característica funcional da pectina e depende essencialmente das características do meio: pH, teores de sólidos solúveis e cátions divalentes, além de depender dos níveis de pectinas e do seu grau de metoxilação (Paiva *et al.*, 2009). Já é sabido que os polissacarídeos amiláceos solúveis como a pectina são solúveis em água, porém podem se tornar insolúveis se os grupos carboxilas se combinarem com Ca^{++} ou Mg^{++} para formar sais (Mukaicorrêa, 2008 e Menezes *et al.*, 2015). Sendo assim, como rações de poedeiras em produção são muito ricas em cálcio, pode-se concluir que a interação com os minerais presentes na dieta como o Ca^{++} , impossibilitou a formação do gel não prejudicando a qualidade da casca dos ovos.

A cor da gema foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 3 e 5). Os ovos das aves que consumiram a dieta controle apresentaram maiores índices de cor de gema em comparação com os demais tratamentos ($p \leq 0,05$). Vários fatores afetam a coloração das gemas, tais como a quantidade, qualidade e variedade das xantofilas da ração, linhagem das aves, diferenças individuais entre aves, criação em gaiolas, doenças, estresse, gordura dietética, antioxidantes e os alimentos utilizados na formulação da dieta (Saleh *et al.*, 2021). A composição da ração afeta a absorção desses pigmentos, pois as gorduras favorecem sua absorção. A porcentagem de deposição também mostra grandes variações entre os diferentes carotenoides, de 14% de astaxantina a 40% de cantaxantina (Maguregui, 2020). As xantofilas mais importantes para a coloração da gema do ovo são a zeaxantina e a luteína, uma vez que são naturalmente encontradas, principalmente no milho. Como as quantidades de milho foram muito próximas entre os tratamentos, esses resultados podem indicar que certas fibras possam interferir na absorção de substâncias pigmentantes.

Diversas pesquisas têm sido conduzidas com a fibra dietética no sentido de diminuir o colesterol do ovo. Entretanto, os resultados ao longo dos anos indicam não ser possível asseverar os reais efeitos das fontes de fibras sobre a redução na concentração de colesterol na gema. Esses efeitos são geralmente relacionados a fração da fibra insolúvel, já que a mesma exerce influência sobre o metabolismo do colesterol pela possível combinação com os sais biliares com diminuição da absorção do colesterol e pela redução no tempo de permanência da digesta no trato gastrointestinal, aumentando a excreção do

colesterol via fezes (Vargas e Naber, 1984 e Moura e Melo, 2018). Aliado as propriedades físico-químicas das fontes de fibras utilizadas, a presença de esteróis, também chamados de fitosteróis, possuem propriedades que auxiliam na redução da concentração de colesterol (Moura e Melo, 2018). De acordo com Moghadasian (2000), estudos *in vitro* e com animais sugerem que os fitosteróis têm alta afinidade pelas micelas nas quais o colesterol encontra-se agregado. Dessa forma, os fitoesteróis presentes nas fontes de fibras plantas substituíram o colesterol presente nas micelas, diminuindo a absorção do colesterol. Além disso, os fitosteróis podem inibir a atividade de algumas enzimas envolvidas no metabolismo do colesterol, tais como a acetil-CoA carboxilase e a HMG-CoA redutase.

Laudadio *et al.* (2014) observaram redução dos níveis de colesterol na gema dos ovos com a inclusão de fontes de fibra na dieta para poedeiras. Segundo Bitman e Wood (1980), a taxa de deposição de colesterol na gema reduz com o aumento na produção e no tamanho do ovo. Juntamente com o fato de que há um limite inferior para a concentração de colesterol na gema do ovo a partir do qual a produção de ovos é interrompida (Hargis, 1988).

No presente estudo a inclusão de diferentes fontes de fibras não foi capaz de alterar as concentrações de colesterol tanto na gema do ovo quanto a concentração plasmática das aves (Tabela 3 e 5), porém ao analisar o valor de *p* encontrado na segunda avaliação realizada nos ovos provenientes das aves com 72 semanas de idade, observa-se uma tendência de que a inclusão de fonte de fibra insolúvel poderia reduzir a concentração de colesterol em gemas de ovos ($p = 0,051$). Devido as características da variável analisada sugere-se um maior número de repetições utilizadas durante a quantificação do colesterol.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de fonte de fibras na dieta de poedeiras após o pico de postura não é capaz de reduzir a qualidade e o colesterol dos ovos, bem como o colesterol sanguíneo. A inclusão de fonte de fibra insolúvel e solúvel foi capaz de melhorar os parâmetros de qualidade de casca nas concentrações e condições avaliadas neste trabalho.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 408696/2018-4). Os autores agradecem a colaboração da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, D. M.; SILVA, J. H. V.; MIRANDA, E. C.; ARAUJO, J. A.; COSTA, F. G. P.; TEIXEIRA, E. N. M. Farelo de trigo e complexo enzimático na alimentação de poedeiras semipesadas na fase de produção. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 37,5,843-848, 2008.

BITMAN, J.; WOOD, D.L. Cholesterol and cholesteryl esters of eggs from avian species. *Poultry Science*. 59, 2014-2023, 1980.

HARGIS, P. S. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 44, n. 1, p. 17-29, 1988.

LAUDADIO, V.; CECI, E., LASTELLA, N.M.B; TUFARELLI, V. Effect of feeding low-fiber fraction of air-classified sunflower (*Helianthus annuus* L.) meal on laying hen productive performance and egg yolk cholesterol. *Poultry Science*. 93, 11, 2864–2869, 2014.

LEESON, S.; SUMMERS J.D.; CASTON, L.J. Response of layers to low nutrient density diets. *The Journal of Applied Poultry Research*.10,1,46-52, 2001.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. *Comercial poultry nutrition*. 3.ed. Ontario: University Books, 2005. p. 413.

LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B. et al. Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 850p

MAGUREGUI, E. L. Color de la yema del huevo y los pigmentantes. *Veterinaria Digital* , pp. 8. 2020.

MENEZES, P. C. D., LIMA, E. R. D., MEDEIROS, J. P. D., OLIVEIRA, W. N. K. D., EVÊNCIO-NETO, J. Egg quality of laying hens in different conditions of storage, ages and housing densities. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, n. 9, p. 2064-2069, 2012.

MENEZES, M.F.S.C.; ZANCAN RODRIGUES, L.; PASQUALIN, C.C.; ETCHEPARE, M.A.; MENEZES, C.R. Microencapsulação de probióticos por gelificação iônica externa utilizando pectina. *Ciência e Natura*. 37: 5, 2015.

MOGHADASIAN, M.H. Pharmacological properties of plant sterols in vivo and in vitro observations. *Life Sciences*, 67, 605-615, 2000.

MOURA, A.M.A.; MELO, T.V. ESTRATÉGIAS NUTRICIONAIS PARA MANIPULAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL NO OVO DE POEDEIRAS COMERCIAIS. *Acta Biomedica Brasiliensia*. 9, 1, 2018.

PAIVA, E. P. et al. Pectina: Propriedades Químicas e Importância sobre Estrutura da Parede Celular de Frutos Durante o Processo De Maturação. In: Propriedades químicas de las pectinas. *Revista Iberoamericana de Polímero*, 10, 4, 196-211,2009.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F. de; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 4. ed. – Viçosa, MG: UFV, DZO, 2017, 488p.

SALDAÑA, B. et al. Influence of feed form and energy concentration of the rearing phase diets on productivity, digestive tract development and body measurements of brown-egg laying hens fed diets varying in energy concentration from 17 to 46 wk of age. *Animal Feed Science and Technology*. 221A, 87-100, 2016.

SALEH, A. A.; EL-AWADY, A.; AMBER, K.; EID, Y. Z.; ALZAWQARI, M. H.; SELIM, S.; SOLIMAN, M. M.; SHUKRY, M. Efeitos da suplementação de farinha de girassol como fonte complementar de proteína na dieta de galinhas poedeiras no desempenho produtivo, qualidade do ovo e nutrientes. *Digestibilidade. Sustentabilidade* . 2021

SHI, S. R.; LU, J.; TONG, H. B.; ZOU, J. M.; WANG, K. H. Effects of graded replacement of soybean meal by sunflower seed meal in laying hen diets on hen performance, egg quality, egg fatty acid composition, and cholesterol content. *The Journal of Applied Poultry Research*. 21, 367–374, 2012.

SOUSA, L. S.; CARVALHO, T. S. M.; NOGUEIRA, F. A.; SALDANHA, M. M.; VAZ, D. P.; BERTECHINI, A. G.; BAIÃO, N. C. AND LARA, L. J. C. Fiber source and xylanase on performance, egg quality, and gastrointestinal tract of laying hens. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 48.2019.

TEJEDA, O.J.; KIM,W.K. Role of Dietary Fiber in Poultry Nutrition. *Animals*. 11:461, 2021.

VARGAS, R.E.; NABER, E.C. Relationship between dietary fiber and nutrient density and its effect on energy balance, egg yolk cholesterol and hen performance. *Journal of Nutrition*.114, 4,645-652, 1984.

WILLIAMS BA, GRANT LJ, GIDLEY MJ, MIKKELSEN D. Gut fermentation of dietary fibres: physico-chemistry of plant cell walls and implications for health. *Int J Mol Sci*. 18(10):2203, 2017.

CAPÍTULO 4

Composição microbiana cecal e concentração sérica de ácidos graxos de cadeia curta de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes de fibras

Resumo

A microbiota intestinal é cada vez mais reconhecida como importante componente da saúde, metabolismo e imunidade do hospedeiro. Neste estudo, 24 conteúdos cecais de galinhas poedeiras brancas Lohmann[®], divididos em quatro tratamentos com seis repetições cada, foram coletados e analisados usando sequenciamento de 16S rRNA para explorar as variações espaciais e temporais na microbiota intestinal. Os resultados mostraram que a diversidade da estrutura da comunidade microbiana no ceco aumentou com a inclusão de fontes de fibras na dieta. Principalmente para os filos Bacteroidota, Campilobacterota, Firmicutes e Spirochaetota. Houve diferença para concentração do ácido acético, propanoico, isobutírico e isovalérico em amostras de sangues de poedeiras com inclusão de fontes de fibras na dieta ($p > 0,05$). O grupo controle, sem inclusão de fontes adicionais de fibras na dieta, apresentou a menor concentração de ácidos graxos em todos os grupos avaliados. Os resultados deste estudo fornecem evidências de que fatores relacionados a dieta, como as fontes de fibras, afetam a composição da microbiota intestinal e a produção de ácidos graxos de cadeia curta.

Palavras-chave: galinhas poedeiras, diversidade, comunidade, 16S rRNA, AGCC

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento da microbiologia intestinal de aves avançou de uma capacidade limitada com uma cultura relativamente simples, até a tentativa de entender complexas interações entre a ave e sua microbiota. Esta nova interação é fundamental já que a microbiota e o hospedeiro se comunicam e influenciam uns aos outros, determinando a saúde, a patogenicidade de doenças infecciosas e até mesmo o comportamento das aves (Lee *et al.*, 2022).

Mudanças importantes ocorreram nas últimas duas décadas na compreensão das interações das aves com as populações microbianas no trato intestinal. Deixando de estudar populações microbianas intestinais na tentativa de identificar espécies individuais para descrevê-las como organismos vivos em um ecossistema específico. O foco nos últimos anos tem-se voltado para o conceito de microbioma, que observa o comportamento da microbiota em um determinado espaço (Berg *et al.*, 2020). Objetivando assim, determinar os principais fatores que alteram o equilíbrio da microbiota intestinal, haja visto a sua influência não só no trato gastrointestinal, mas no organismo animal como um todo.

A modulação da microbiota com o objetivo de melhorar a saúde e a produção das aves exige conhecimento de como essa intervenção afetará o hospedeiro. Sabe-se quais microrganismos estão presentes nos vários segmentos do trato gastrointestinal das aves (Yeoman *et al.*, 2012). O que se deseja saber atualmente são os benefícios fornecidos por esses microrganismos para o hospedeiro (Sergeant *et al.*, 2014), bem como suas interações. Vários são os fatores tais como, nutrição, estresse, temperatura, entre outros, que influenciam não só a composição mas também a função da microbiota intestinal que por sua vez pode trazer tanto benefícios como prejuízos sobre a saúde das aves.

O desenvolvimento de tecnologias que permitem identificar a microbiota bem como a sua função são as chaves para a compreensão da estreita relação que existe entre o hospedeiro e sua microbiota e a influência que a mesma exerce sobre a saúde e desempenho das aves com isso este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da fibra solúvel e insolúvel sobre a microbiota intestinal e a produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) de poedeiras leves após o pico de produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Foram utilizadas 24 amostras de conteúdo cecal provenientes de poedeiras com 72 semanas de idade, que foram submetidas a dietas com diferentes fontes de fibras por um período de 17 semanas.

Ao final do período experimental, seis aves por tratamento foram selecionadas, sendo cada ave considerada uma repetição. O critério de seleção das aves foi o peso médio do tratamento, de modo que o peso da ave a ser abatida poderia variar em no máximo 5%

em relação ao peso médio do tratamento. As aves foram eutanasiadas por deslocamento cervical para retirada do conteúdo cecal.

Os tratamentos os quais as aves foram submetidas estão descritos abaixo:

A – Ração sem inclusão de fonte de fibra;

B – Ração com de farelo de trigo como fonte de fibra;

C – Ração com inclusão de fibra insolúvel (celulose);

D – Ração com inclusão de fibra solúvel (pectina).

2.2 Extração de DNA

As amostras estavam armazenadas no ultrafreezer -80°C até seu processamento, sendo 24 amostras de conteúdo cecal. Inicialmente realizou um pré-tratamento com o reagente InhibitEX do kit comercial (QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit – Qiagen Inc., Toronto, Ontário) e logo em seguida foi utilizado 0,3 g de beads de zircônio 0,1mm, a homogeneização da amostra foi realizada no TissueLyser LT durante 10 minutos em velocidade máxima. Esse pré-tratamento tem como principal objetivo permitir a lise da parede celular de bactérias gram-positivas. Posteriormente, prosseguiu-se com a utilização dos demais reagentes do kit comercial, seguindo as recomendações do fabricante. O DNA foi quantificado e a purificação foi determinada pelo espectrofotômetro NanoDrop[®] 2000/2000c (ThermoFisher Scientific, USA).

2.3 Sequenciamento genômico

Para a reação em cadeia da polimerase (PCR) inicial foi delineado primer conforme protocolo da Illumina para *MiSeq*. Combinações de primers para a PCR do 16S Amplicon

Forward	Primer	=
5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCA		
G	e	16S
	Reverse	Primer
		=
5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGACAGGACTACHVGGGTATCTAA		
TCC		

visando as regiões hipervariáveis V3-V4 do gene 16s rRNA. Para a realização da PCR para a amplificação do 16S rRNA foi utilizado Platinum[™] Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen). Os ciclos utilizados foram 1 ciclo de desnaturação inicial a

94°C por 3 min, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 segundos, anelamento à 58°C por 30 segundos e extensão a 68°C durante 1 min, extensão final a 68°C por 7 minutos.

Posteriormente, os amplicons de PCR foram purificados usando esferas Agencourt AMPure (Beckman Coulter, Indianapolis, IN). Os amplicons purificados foram amplificados com pares únicos de i5 forward index i7 reverse index fornecidos pelo kit Nextera XT Index (Illumina, San Diego, CA, EUA). Cada conjunto de PCRs incluiu extração e PCR em branco. Ambos [i5] e [i7] são as sequências de 10 pb de códigos de barras únicos, que permitiram que as bibliotecas agrupadas fossem sequenciadas simultaneamente, conhecido como multiplexação de amostra. Os amplicons com código de barras de índice foram purificados usando esferas Agencourt AMPure (Beckman Coulter, Indianapolis, IN) e quantificados usando Fluorômetro Qubit®2.0 e Qubit™ dsDNA HS and BR Assay Kits (Thermo Fisher Scientific, EUA). Quantidades iguais de cada amplicon purificado contendo código de barras foram reunidas para construir bibliotecas. As bibliotecas foram sequenciadas na plataforma Illumina MiSeq usando o protocolo paired-end 2 × 300 bp MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) (Illumina, San Diego, CA, EUA).

2.4 Análise bioinformática

Os dados brutos da sequência foram analisados usando o pipeline QIIME 2 (versão 2020.6) e o pacote phyloseq R. Os dados brutos da sequência foram removidos usando DADA2 no pacote QIIME 238. Os arquivos FASTQ de extremidade emparelhada foram processados por filtragem de qualidade baseada em pontuação de qualidade Phred, fusão das extremidades emparelhadas, remoção de quimera, remoção de singleton e construção de uma tabela de recursos que consiste em variantes de sequência amplicon (ASV). Usando o método DADA2 denoise-single foram removidas regiões de baixa qualidade das sequências. Foi definida a opção de sequência truncada para 260. Todos os ASV foram alinhados para mafft por meio do alinhamento q2 e a análise filogenética foi realizada usando fasttree2. Um classificador de taxonomia de aprendizado de máquina scikitlearn naïve Bayes contra as sequências de referência eHOMD (banco de dados de microbioma oral humano) 16S rRNA RefSeq Versão 15.1 foi treinado com o plugin q2-feature-classifier usando as regiões V3V4 de sequências 16S rRNA39. A taxonomia foi atribuída a cada ASV usando o comando ‘classifysklearn’ no q2-feature-classifier.

Usando a árvore filogenética enraizada construída foram realizadas análises de diversidade usando o plugin de diversidade dentro do pacote QIIME 2.

2.5 Quantificação de Ácidos Graxos Voláteis (AGVs)

24 amostras de sangue, de uma ave por repetição, foram coletadas na região do forame magno no mesmo dia e ave das coletas de conteúdo cecal para microbioma. Para obtenção do soro, o sangue, depois de coletado, foi deixado em repouso à temperatura ambiente durante 20 minutos e o coágulo obtido foi desprendido cuidadosamente das paredes do tubo por meio de um bastão de vidro de extremidade lisa. Em seguida as amostras foram acondicionadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até realização das análises. Após centrifugação a 4000 rpm, durante 15 minutos, 0,5 mL de sobrenadante foi misturado com 0,1 mL de solução 25% (p/v) de ácido metafosfórico, deixado em repouso por 30 minutos e o sobrenadante pipetado e transferido para outro recipiente (Playne, 1985). Finalmente, a mistura foi usada para medir as concentrações de AGV. As concentrações dos ácidos acético, propanoico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico nas amostras foram determinadas por cromatografia gasosa utilizando cromatógrafo Shimadzu[®] GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DA[™] (30m, 0,25mm ID, 0,25 μm df, Restek[©]) e detector de ionização de chama (FID), após acidificação das mesmas com 1 M de ácido o-fosfórico p.a. (Ref. 100573, Merck[©]) e fortificação com mistura de ácidos voláteis livres (Ref. 46975, Supelco[©]). Uma alíquota de 1 μL de cada amostra foi injetada com taxa de split de 40:1, utilizando hélio como gás de arraste com velocidade linear de 42 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, obtendo-se a separação dos analitos em uma corrida cromatográfica de 11,5 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, 250 $^{\circ}\text{C}$ e 300 $^{\circ}\text{C}$ e temperatura inicial da coluna de 40 $^{\circ}\text{C}$. A rampa de temperatura da coluna se iniciou com um gradiente 40 até 120 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 40 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, seguido de um gradiente de 120 até 180 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e de 180 a 240 $^{\circ}\text{C}$ à taxa de 120 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, mantendo-se a temperatura a 240 $^{\circ}\text{C}$ por mais 3 minutos ao final. Para a quantificação dos analitos, uma calibração do método foi feita com diluições do padrão WSFA-2 (Ref. 47056, Supelco[©]) e de ácido acético glacial (Ref. 33209, Sigma-Aldrich[©]) analisadas sob as condições descritas acima. A determinação e a integração dos picos foram feitas utilizando-se o software GCsolution v. 2.42.00 (Shimadzu[©]).

2.6 Análises Estatísticas

A Chao1 (riqueza) e a diversidade de Shannon foram calculadas entre os grupos usando o teste de pares de Kruskal-Wallis e a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA), respectivamente. Foi analisada a abundância microbiana diferencial entre os dois grupos com análise discriminante linear Effect Size (LEfSe) no aplicativo da web Galaxy (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>)⁴⁰. O valor alfa para o teste fatorial de Kruskal-Wallis entre as classes foi de 0,5 e o limiar na pontuação logarítmica LDA para características discriminativas foi de 3,0.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), para as análises de AGV foram utilizadas seis repetições por tratamento. A análise dos dados foram realizadas através do software SAS (2002), declarando-se como 5% a probabilidade do erro tipo 1. Os dados foram submetidos à análise de variância e foram verificados quanto aos pressupostos estatísticos de normalidade e homocedasticidade. Os dados foram analisados utilizando-se o procedimento ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

A análise da diversidade alfa revelou que a riqueza de espécies e a diversidade das comunidades microbianas foram distintas para as diferentes fontes de fibra. Ao comparar os grupos entre si observou-se diferença nas comparações do grupo controle (A) com o grupo que recebeu dieta com a inclusão da fibra insolúvel (C) ($P=0,001$) e do grupo de inclusão da fibra insolúvel (C) com o grupo que recebeu fonte de fibra solúvel ($P=0,004$), a comparação entre os demais grupos não apresentou diferença entre a composição da microbiota. Foram observados índices de diversidade de Shannon mais altos no microbioma cecal das aves que receberam farelo de trigo e celulose como fonte de fibra adicional (Figura 1).

Para determinar as mudanças na composição e estrutura da comunidade nos cecos de galinhas poedeiras com diferentes fontes de fibras na dieta, uma análise de coordenadas principais (PCoA) foi realizada com base nas distâncias de Bray-Curtis. Amostras cecais mostraram que as distâncias entre as fontes de fibras adicionais e o controle foram longas. Esses resultados indicaram que a comunidade do microbioma cecal eram distintas. Essas observações sugerem que a inclusão de fontes de fibras na dieta (farelo de trigo, celulose e pectina) independentemente da sua composição afeta a

composição da microbiota intestinal e que a comunidade da microbiota intestinal mudou significativamente com a inclusão dessas fontes na dieta (Figura 2).

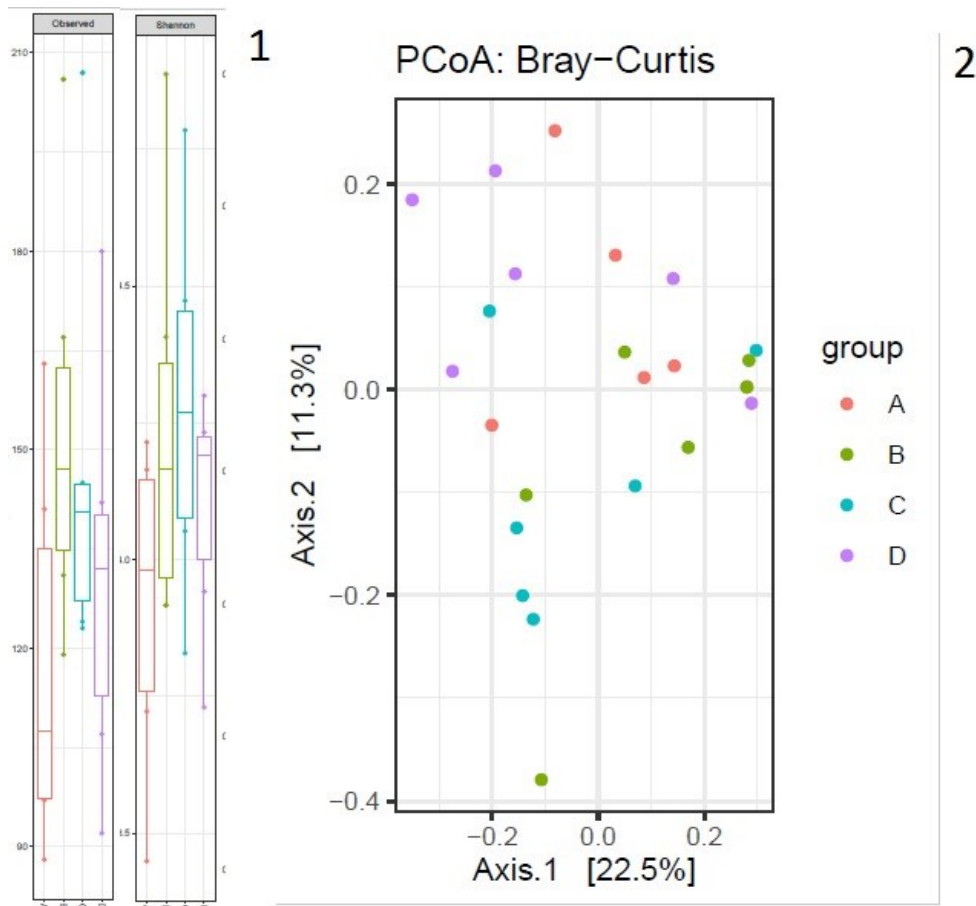


Figura 1. α -diversidade no ceco de poedeiras comerciais com dietas com fontes de fibras ((A) grupo controle cor rosa; (B) fibra mista cor verde; (C) fibra insolúvel cor azul; (D) fibra solúvel cor roxa); **Figura 2:** análise coordenada principal (PCoA) da dissimilaridade da comunidade microbiana.

Ao comparar as sequências de rRNA 16S com o banco de dados eHOMD, em nível de filo, Bacteroidetes, Campilobacterota, Firmicutes, Spirochaetota foram os filios mais abundantes em todas as amostras. A abundância relativa de Bacteroidetes aumentou durante o período experimental, enquanto a abundância relativa dos demais filios diminuiu com a inclusão de fibras na dieta. A nível de gênero, os oito principais gêneros foram *Alloprevotella*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Helicobacter*, *Phascolarctobacterium*, *Prevotellaceae Ga6A1*, *Rikenellaceae RC9*, *Treponema* em todos os grupos (Figura 3).

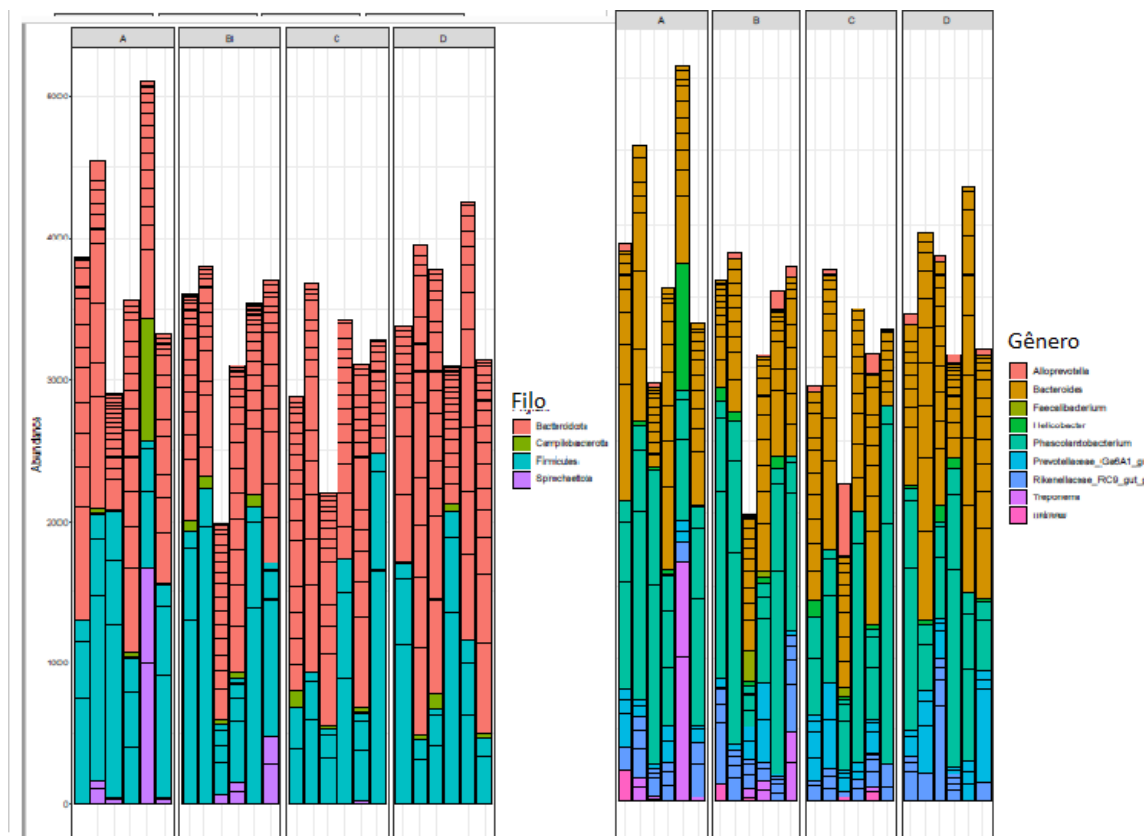


Figura 3: Composição da microbiota intestinal de poedeiras comerciais com diferentes fontes de fibras na dieta em nível de filo e nível de gênero (A- grupo controle; B-fibra mista; C-fibra insolúvel; D-fibra solúvel).

As características bacterianas associadas ao estágio foram identificadas usando um algoritmo que se concentra não apenas na significância estatística, mas também na consistência biológica. As abundâncias bacterianas associadas ao estágio desses recursos foram visualizadas usando um mapa de calor (Figura 4). A análise confirmou a maioria das observações mencionadas acima. De fato, houve redução dos gêneros *Phascolarctobacterium* e *Treponema*, enquanto os gêneros *Bacteroides* e *Alloprevotella* apresentaram maior abundância nas aves que receberam dieta com inclusão de fibra independente da sua classificação. Já a inclusão de fonte de fibra mista propiciou aumento dos gêneros *Faecalibacterium* e do *Rikenellaceae RC9*. As fontes de fibra solúvel e insolúvel propiciaram maior abundância da família *Prevotellaceae*. No geral, os cecos das aves apresentaram maior diversidade bacteriana quando houve inclusão de fontes de fibras na dieta independentemente da sua classificação.

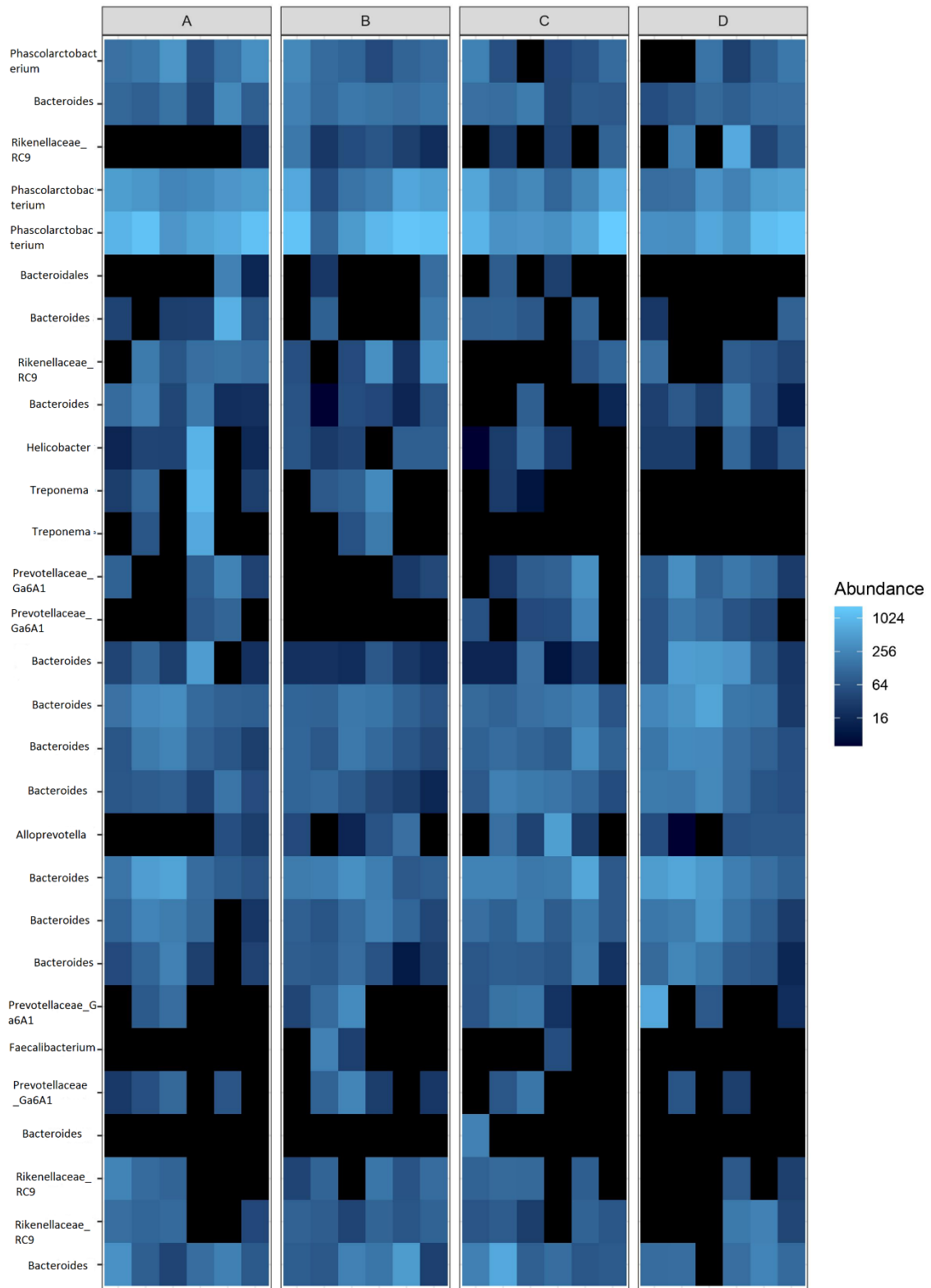


Figura 4. Mapa de calor exibindo a abundância relativa médiado gênero da microbiota de poedeiras (A- grupo controle; B-fibra mista; C-fibra insolúvel; D-fibra solúvel).

Houve diferença para concentração do ácido acético, propanoico, isobutírico e isovalérico em amostras de sangues de poedeiras com inclusão de fontes de fibras na dieta ($p>0,05$). O grupo controle no qual não houve a inclusão de fontes de fibras na dieta apresentou a menor concentração em todos os grupos avaliados ($P<0,05$). Para o ácido acético a inclusão de fonte fibra mista (farelo de trigo) determinou maior concentração em comparação as aves que não receberam fonte adicional de fibra ($P<0,05$). A inclusão de fonte de fibra solúvel e insolúvel determinou valores intermediários de ácido acético e semelhantes as demais fontes de fibra. Para o ácido propanoico a inclusão de fonte solúvel determinou a maior concentração, seguido pela fonte mista e a menor concentração foi observada nas aves que não receberam fonte adicional de fibra. A inclusão de fonte solúvel determinou valor intermediário deste ácido e semelhante as fontes de fibra solúvel e mista (Tabela 1).

Os ácidos isobutírico e isovalérico apresentaram o mesmo comportamento, na qual a inclusão de fonte mista e solúvel apresentaram as maiores concentrações de ácidos graxos voláteis no plasma sanguíneo em comparação as aves que não tiveram inclusão de fonte adicional de fibra ($P<0,05$). A inclusão de fonte insolúvel determinou valor intermediário e semelhante as demais fontes de fibras (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de ácidos graxos voláteis (ppm) no sangue provenientes de aves com 72 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Tratamentos	Acético	Propanoico	Butírico	Isobutírico	Valérico	Isovalérico
Controle	63,41 b	31,19 c	36,31	32,99 b	38,43	38,34 b
Mista	72,74 a	34,14 b	36,74	38,66 a	40,68	47,41 a
Insolúvel	70,32 ab	36,50 ab	32,81	35,73 ab	37,05	42,85 ab
Solúvel	70,98 ab	37,80 a	36,02	39,57 a	41,80	48,81 a
CV (%)	7,43	6,21	10,62	7,07	10,40	8,52
Valor de P	0,043	<0,001	0,288	0,002	0,220	<0,001

Médias seguidas por letras iguais na coluna foram consideradas semelhantes pelo teste Tukey ($p>0,05$).

CV: coeficiente de variação

4. DISCUSSÃO

As bactérias estão presentes em diferentes nichos do trato gastrointestinal, incluindo o lúmen, a camada de muco e a superfície da mucosa (Russell, 1979). A composição da microbiota (quantidade e proporção de cada gênero) varia de acordo com a idade, o

estado fisiológico, a região do intestino, o uso de antimicrobianos, o sistema de criação, bem como a composição da dieta, especialmente, a presença e a natureza da fibra dietética, que é o principal substrato bacteriano (Montagne *et al.*, 2003; Mancabelli *et al.*, 2016). Sua diversidade tende a aumentar durante as primeiras semanas de vida, podendo diferir entre poedeiras e linhagens de corte. Verifica-se também que os fatores ambientais, como o nível de biossegurança, características do alojamento, tipo de cama, acesso a alimentação e ambiência também possuem efeito sobre a composição da microbiota intestinal (Kers *et al.*, 2018).

Fibras dietéticas são essenciais para uma dieta saudável, podem indiretamente influenciar a digestão de nutrientes e a saúde intestinal em função da modulação da microbiota. No ceco das aves pode ocorrer fermentação e degradação da fibra com produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato e butirato, que podem ser utilizados como fonte de energia pelo hospedeiro (David *et al.*, 2014), enquanto a falta de fibra na dieta pode reduzir a diversidade da microbiota intestinal afetando a saúde intestinal das aves (Qiu *et al.*, 2022).

Mancabelli *et al.* (2016), por meio da amplificação do gene rRNA16S, observaram que a microbiota cecal é dominada (83%) principalmente por bactérias dos filos Firmicutes e Bacteroidetes. O que corresponde com os achados deste trabalho, no qual os principais filos identificados foram: Bacteroidota, Campilobacterota, Firmicutes e Spirochaetota.

As Bacteroidotas gênero *Bacteroides*, reino Bacteria, classe Bacteroidetes, ordem Bacteroidales e família Bacteroidaceae, são bactérias anaeróbias gram-negativas comensais, possuem papel fundamental no desenvolvimento e continuidade da funcionalidade intestinal e no sistema imunológico, porém são oportunistas em casos de lesões na mucosa intestinal e podem apresentar caráter patogênico (Garcia *et al.*, 2012), principalmente quando há condições predisponentes, como lesão na mucosa intestinal (Kandler e Weiss, 1986). Pesquisas recentes demonstram que as bactérias desse filo conseguem utilizar os polissacarídeos presentes nas fibras (Chijiwa *et al.*, 2020).

Em relação ao filo Firmicutes, as principais bactérias pertencem ao gênero *Clostridium*, são gram-positivas, anaeróbias e produtoras de toxinas. Pertencem ao reino Bacteria, classe Clostridia, ordem Clostridiales e família Clostridiaceae. São encontradas no intestino delgado e ceco (Barrios *et al.*, 2013; Apajalahti e Vienola, 2016 e Souza, 2017). As espécies do *Clostridium* são conhecidas por produzirem toxinas que causam lesões em bactérias benéficas levando a morte celular,

consequentemente se proliferam e causa um processo infeccioso. Apresentam ótimo crescimento em temperaturas de 20°C a 50°C e suportam pH de 5,0 a 8,0. Mas também são capazes de fermentar diferentes açúcares, aminoácidos e ácidos nucleicos, gerando ácido acético, ácido butírico e álcool (Albornoz *et al.*, 2014 e Cruz *et al.*, 2022). O trato gastrointestinal das aves é colonizado por microrganismos comensais, simbióticos benéficos e patogênicos, por isso é aceitável encontrar o filo Firmicutes, o problema é quando ocorre desbalanço dessas populações e as bactérias patogênicas começam a ser quantificadas, sendo sinal de uma microbiota pouco saudável, o que não ocorreu neste trabalho já que não foi identificada nenhum gênero e/ou espécie de *Clostridium*.

Posteriormente, na identificação dos táxons microbianos no nível de gênero foram observados 8 táxons mais abundantes (*Alloprevotella*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Helicobacter*, *Phascolarctobacterium*, *Prevotellaceae Ga6A1*, *Rikenellaceae RC9*, *Treponema*). Segundo Qiu *et al.* (2022), esses gêneros de bactérias podem estar envolvidos no metabolismo de açúcares, aminos e nucleotídeos, metabolismo de frutose e manose e glicólise/gliconeogênese. Sugerindo que diferentes fontes de fibra dietética podem regular a função microbiana.

Os AGCC são metabólitos gerados pela fermentação bacteriana da fibra dietética no intestino posterior e desempenham papel significativo na regulação da saúde intestinal em aves. Os AGCC são absorvidos principalmente no intestino e usados pelos enterócitos como substrato chave para a produção de energia. Podendo inibir a invasão e colonização de patógenos, diminuindo o pH intestinal (Liu *et al.*, 2021). O ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico são os principais produtos metabólicos.

O acetato é mais abundante no cólon, respondendo por mais da metade do total de AGCC (Louis *et al.*, 2007). *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Ruminococcus* spp., *Blautia hydrogenotrófica* e *Clostridium* spp. estão envolvidos na formação deste composto (Rey *et al.*, 2010 e Louis *et al.*, 2014). O que vai de acordo com os achados deste trabalho, aonde a inclusão de fontes de fibras na dieta propiciaram aumento das bactérias do gênero *Bacteroides* spp. por exemplo em relação as aves que não tiveram inclusão adicional de fonte de fibra e consequentemente aumentaram a concentração de ácido acético no sangue das aves.

O propionato pode ser produzido pelo succinato, que envolve a descarboxilação do metilmalonil-CoA a propionil-CoA (Duncan *et al.*, 2014). Firmicutes e Bacteroidetes participam desta via. Neste trabalho a fonte de fibra solúvel foi a que proporcionou

maior concentração de ácido propanóico quando comparado com as demais fontes de fibras (Tabela 1), não diferindo das aves que receberam a fonte insolúvel na dieta e, ao analisar a composição dos principais filos quantificados, ambos os tratamentos apresentaram maiores quantidades de Firmicutes e Bacteroidota (Figura 3).

Butirato é produzido a partir de acetil-CoA (a via clássica) por bactérias do filo Firmicutes (Zhang *et al.*, 2021). Walugembe *et al.* (2015) observaram que a proporção de butirato diminuiu com o aumento do teor de fibra alimentar, com menos efeito sobre outros ácidos graxos, o que não foi observado neste trabalho, já que não houve diferença entre as concentrações de ácido butírico entre os tratamentos avaliados.

Além disso, a fermentação de proteínas no intestino posterior também pode produzir AGCC, bem como AGCC ramificados, dentre eles são citados o ácido isobutírico e ácido isovalérico. Os AGCC ramificados são derivados de aminoácidos de cadeia ramificada (como valina, leucina e isoleucina) (Smith e Macfarlane, 1997). A produção desses metabólitos nitrogenados provenientes da fermentação excessiva de aminoácidos ou proteínas no intestino posterior pode ser prejudicial à integridade do intestino (Russell *et al.*, 2011). Alguns estudos demonstraram que a adição de fibra alimentar diminui os AGCC ramificados, por exemplo o isobutirato e o isovalerato nas fezes ou no ceco e aumenta o butirato e os demais AGCC. O que vai de contrapartida com os achados desse experimento na qual a inclusão de fonte mista e solúvel na dieta de poedeiras aumentou a concentração de isobutírico e isovalérico no sangue das aves.

5. CONCLUSÃO

A utilização de fontes de fibras na dieta de poedeiras nos níveis utilizados neste experimento possibilitou a modificação da microbiota intestinal e o mais importante maior produção de ácidos graxos de cadeia curta. As fibras são capazes de modular esses parâmetros, logo são necessários mais estudos para determinar com maior precisão níveis, fontes e proporções adequadas.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 408696/2018-4). Os autores agradecem a colaboração da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERG, G., D. RYBAKOVA, D. FISCHER, T. CERNAVA, M.-C. C. VERGES, T. CHARLES, X. CHEN, L. COCOLIN, K. EVERSOLE, AND G. H. CORRAL. Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. *Microbiome* 8:1–22. 2020.

CHIJIWA, R., M. HOSOKAWA, M. KOGAWA, Y. NISHIKAWA, K. IDE, C. SAKANASHI, K. TAKAHASHI, AND H. TAKEYAMA. Single-cell genomics of uncultured bacteria reveals dietary fiber responders in the mouse gut microbiota. *Microbiome*. 81:5, 2020.

CRUZ, L.C.F.; COSTA, T.F.; SAMPAIO, S.A; DIAS DA SILVA, N.G; ABREU, J.M de; BORGES, K.F; VENDAS, G.M.; ALEXANDRINO, S.L de SA.; SANTOS, F.R dos; MINAFRA, C.S. Microbioma intestinal de aves e sua importância. *Investigação, Sociedade e Desenvolvimento* ,11, 2, 2022.

DAVID, L. A.; MAURICE, C. F.; CARMODY, R. N.; GOOTENBERG, D. B.; BUTTON, J. E.; WOLFE, B. E.; LING, A. V.; DEVLIN, A. S.; VARMA, Y.; FISCHBACH, M. A.; BIDDINGER, S. B.; DUTTON, R. J.; TURNBAUGH, P. J. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014.

DUNCAN, S.H.; REICHARDT, N.; YOUNG, P.; BELENGUER, A.; MCWILLIAM, C.; SCOTT, K.P.; et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *ISME J.* 8,1323–35, 2014.

GARCIA, G.D.; CARVALHO, M.A.R.; DINIZ, C.G.; MARQUES, J.L.; NICOLI, J.R.; FARIAS, L.M. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group strains recovered from broiler faeces. *British Poultry Science*, England, v. 53, p. 71-76, 2012.

KANDLER, O.; WEISS, N. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. 787 p.

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

LEE, M. D., IPHARRAGUERRE , I. R., ARSENAULT, R. J., LYTE ,M., J. M., HUMPHREY, B., ANGEL, R., KORVER, D. R. Informal nutrition symposium: leveraging the microbiome (and the metabolome) for poultry production. *Poultry Science*. 101:101588. 2022.

LIU, L.; LI, Q.; YANG, Y.; GUO, A. Biological Function of Short-Chain Fatty Acids and Its Regulation on Intestinal Health of Poultry. *Front. Vet. Sci.* 8, 2021.

LOUIS, P.; HOLD, G.L.; FLINT, H.J. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol.* 12:661–72, 2014.

LOUIS, P.; SCOTT, K.P.; DUNCAN, S.H.; FLINT, H.J. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J Appl Microbiol.* 102:1197–208,2007.

MANCABELLI, L.; FERRARIO, C.; MILANI, C.; MANGIFESTA, M.; TURRONI, F.; DURANTI, S.; LUGLI, G. A.; VIAPPIANI, A.; OSSIPRANDI, M.C.; VAN SINDEREN, D.; VENTURA, M. Insights into the biodiversity of the gut microbiota of broiler chickens. *Environmental Microbiology*, v.18, n. 12, p. 4727-4738, 2016.

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

QIU, M.; HU, J.; PENG, H.; LI, B, XU, J.; SONG, X.; YU, C.; ZHANG, Z.; DU, X.; BU, G.; HUANG, A.; HAN, X.; ZENG, X.; YANG, C.; KONG, F. Research Note: The gut microbiota varies with dietary fiber levels in broilers. *Poultry Science*.2022.

REY, F.E.; FAITH, J.J.; BAIN, J.; MUEHLBAUER, M.J.; STEVENS, R.D.; NEWGARD, C.B. et al. Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. *J Biol Chem.* 285:22082–90, 2010.

RUSSELL, J. B. Types and Distribution of Anaerobic Bacteria in the Large Intestine of Pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 37, n. 2, p. 187-193, 1979.

RUSSELL, W.R.; GRATZ, S.W.; DUNCAN, S.H.; GRIETJE, H.; JENNIFER, I.; LORRAINE, S.; et al. High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote

metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *Am J Clin Nutr.* 93:1062–72. 2011.

SERGEANT, M. J., C. CONSTANTINIDOU, T. A. COGAN, M. R. BEDFORD, C. W. PENN, AND M. J. PALLEN. Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. *PLoS One* 9: e91941. 2014.

SMITH, E.A.; MACFARLANE, G.T. Dissimilatory amino Acid metabolism in human colonic bacteria. *Anaerobe.* 3:327–37, 1997.

WALUGEMBE, M., J. C. HSIEH, N. J. KOSZEWSKI, S. J. LAMONT, M. E. PERSIA, AND M. F. ROTHSCHILD. Effects of dietary fiber on cecal short-chain fatty acid and cecal microbiota of broiler and laying-hen chicks. *Poult. Sci* 94:2351–2359. 2015.

YEOMAN, C. J.; N. CHIA, P. JERALDO, M. SIPOS, N. D. GOLDENFELD, AND B. A. WHITE. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. *Anim. Health Res. Rev.* 13:89–99.2012.

ZHANG, S.; ZHONG, G.; SHAO, D.; WANG, Q.; HU, Y.; WU, T, et al. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* promotes growth performance of broilers by altering the dominant microbial community. *Poult Sci.* 100:100935, 2021.