

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FRANCIELE CLENICE NAVARINI GIACOBBO

**HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS DE
SECAGEM EM DIETAS SUPLEMENTADAS COM OU SEM ENZIMAS PARA
FRANGOS DE CORTE**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FRANCIELE CLENICE NAVARINI GIACOBBO

**HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS DE
SECAGEM EM DIETAS SUPLEMENTADAS COM OU SEM ENZIMAS PARA
FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cinthia Eyng
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jovanir Inês Müller
Fernandes.

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Giacobbo, Franciele Clenice Navarini
Híbridos de milho submetidos a diferentes temperaturas de secagem em dietas suplementadas com ou sem enzimas para frangos de corte / Franciele Clenice Navarini Giacobbo; orientador(a), Cinthia Eyng; coorientador(a), Jovanir Inês Müller Fernandes, 2020.
111 f.

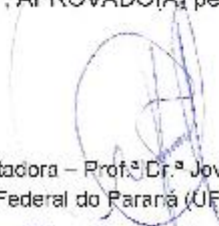
Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

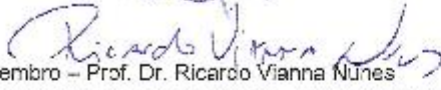
1. Avicultura. 2. Milho. 3. Enzima Endogena. I. Eyng, Cinthia. II. Fernandes, Jovanir Inês Müller. III. Título.

FRANCIELE CLENICE NAVARINI GIACOBBO

Híbridos de milho submetidos a diferentes temperaturas de secagem em dietas suplementadas com ou sem enzimas para frangos de corte

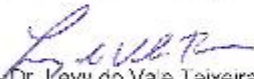
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Doutora em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes", APROVADO(A) pela seguinte Banca Examinadora:


Presidente / Coorientadora – Prof.^a Dr.^a Jovanir Inês Muller Fernandes
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina


Membro – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - Campus de Mar. Cândido Rondon

Membro – Dr. Cristiano Bortoluzzi (*via Skype*)
Texas A&M University


Membro – Prof. Dr. Fernando Rutz
Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)


Membro – Dr. Levy do Vale Teixeira
DSM Produtos Nutricionais

Maréchal Cândido Rondon, 2 de março de 2020.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA – MESTRADO E DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO ANIMAL
LINHA DE PESQUISA: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE NÃO-RUMINANTES

DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA EM BANCA EXAMINADORA
DE TESE DE DOUTORADO NA
UNIOESTE – CAMPUS DE MAL. CÂNDIDO RONDON

Às 14 horas do dia 02/03/2020, participei de forma remota e síncrona com os demais membros que assinam a ata física deste ato público, da Banca Examinadora de Tese de **FRANCIELE CLENICE NAVARINI GIACCOBO**, discente de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Mal. Cândido Rondon, referente ao trabalho intitulado **“Híbridos de milho submetidos a diferentes temperaturas de secagem em dietas suplementadas com ou sem enzimas para frangos de corte”**.

Considerando o trabalho avaliado, as arguições de todos os membros da banca e as respostas dadas pela candidata, formalizo para fins de registro, por meio deste documento, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA**.

Atenciosamente,

Dr. Cristiano Bortoluzzi

bortoluzzi.c@gmail.com

CPF nº 066.306.649-22

Doutorado em *Poultry Science* (2018) pela *University of Georgia* (UGA), Estados Unidos

Pós-Doutorando do Departamento de *Poultry Science* da Texas A&M University

101 Kleberg Center

2472 TAMU

College Station, TX / USA

DEDICATÓRIA

*À minha família,
dedico este trabalho e todas as conquistas...*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar caminhando comigo todos os dias, e por estar vivo em meu coração.

Ao meu esposo Wiliam Giacobbo, pela compreensão, apoio, carinho, dedicação e respeito a mim.

Aos meus familiares, pelo incentivo e apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade para a presente formação.

À professora orientadora Dr^a Cinthia Eyng, pela paciência, dedicação, apoio, orientação, respeito e amizade.

À professora co-orientadora Dr^a Jovanir Inês Muller Fernandes, pela confiança e colaboração.

Ao professor Dr. Ricardo Vianna Nunes e ao grupo de pesquisa GEMADA, ao Cleisson e à Jomara pela colaboração na realização dos experimentos e análises.

À Cooperativa Copagril, por incentivar e disponibilizar sua infra-estrutura para realização de parte do trabalho.

À empresa DSM, pelo incentivo à pesquisa.

HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM EM DIETAS SUPLEMENTADAS COM OU SEM ENZIMAS PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de três diferentes híbridos de milho, duas temperaturas de secagem do grão e efeito da inclusão *on top* de enzimas exógenas em diferentes dietas para frangos de corte. Inicialmente, foi determinado a composição química, conteúdo de polissacarídeos não amiláceos (PNA's), amido retrógrado, análise da morfologia do amido e os valores de energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMA_n) e os coeficientes metabolizáveis aparente e corrigido (CMA e CMA_n). Os valores energéticos foram determinados pelo método tradicional de coleta total de excreta, utilizando frangos de corte de 11 a 21 dias de idade, alocados em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (três híbridos de milho e duas temperaturas de secagem - 80 e 110 ° C), totalizando seis tratamentos, com sete repetições e quatro aves por unidade experimental. Os resultados foram submetidos à análise de variância e os efeitos individuais e a interação entre os fatores foram analisados; quando significativas, as interações foram desdobradas. De maneira geral, os grãos secos a 110°C apresentaram maior conteúdo de amilose e amido resistente, maior teor de nitrogênio ligado à fibra, com redução no conteúdo de PNA's solúveis em relação aos totais e redução no tamanho do grão de amido. Houve interação ($P < 0,05$) entre os fatores avaliados para os valores de EMA e EMA_n . Os valores de energia dentro de cada temperatura de secagem não apresentaram interferência dos híbridos ($P > 0,05$). Entretanto, quando avaliadas as temperaturas de secagem dentro de cada híbrido, os valores de EMA e EMA_n de 3.373 e 3.300 kcal kg⁻¹, respectivamente, obtidos para o híbrido 1 seco a 110°C, reduziram em 73 e 69 kcal. Para os fatores isolados, independentemente da temperatura de secagem, o híbrido 3 apresentou maior CMA e CMA_n , valores de 83,10 e 81,98%, respectivamente. A temperatura de secagem proporcionou variação na composição química do grão de milho. O grão exposto à secagem a 110°C apresentou aumento nos teores de amilose e amido resistente, redução na relação de PNA's solúveis em relação ao total e aumento do nitrogênio ligado à fibra. No entanto, de maneira geral, essas modificações estruturais não foram capazes de proporcionar diferenças nos valores de energia. O segundo experimento teve por objetivo determinar a influência de diferentes híbridos de milho e temperatura de secagem, bem como o efeito da inclusão de enzimas exógenas sobre a digestibilidade ileal dos nutrientes, desempenho, rendimento de

carcaça, morfometria intestinal e microbiota cecal de frangos de corte. Para tanto, foram utilizados 2.160 pintos de corte, machos da linhagem Cobb 500, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (três híbridos de milho, duas temperaturas de secagem - 80 e 110°C, com e sem adição *on top* de blend enzimático (15000 PROT.kg⁻¹ de protease, 80 KNU.kg⁻¹ de amilase e 100 FXU.kg⁻¹ de xilanase), totalizando 12 tratamentos, com nove repetições e 20 aves por unidade experimental. Todas as dietas experimentais continham 1000 FYU.kg⁻¹ de fitase. Para os parâmetros de desempenho e digestibilidade, observou-se que, em geral, houve interferência dos fatores híbrido e temperatura de secagem do milho. A adição *on top* de blend enzimático composto por xilanase, amilase e protease, proporcionou melhor desempenho, parâmetros morfométricos intestinais, maior presença do gênero de bactérias *Lactobacillus*, *Ruminococcus* e *Anaeroplasm*a, na fase inicial (um a 21 dias) em frangos de corte e melhor digestibilidade de nutrientes aos 42 dias de idade. No entanto, a adição do blend enzimático na dieta composta com grãos expostos a temperatura de secagem de 110°C não foi capaz de expressar diferenças nos parâmetros de desempenho e digestibilidade.

Palavras-chave: Amido, polissacarídeos não amiláceos, pós-colheita, composição química, microbiota cecal.

ENZYMATIC SUPPLEMENTATION AND CORN HYBRIDS SUBMITTED TO DIFFERENT DRYING TEMPERATURES IN DIETS FOR BROILERS

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the effects of three different maize hybrids, two grain drying temperatures of 80 and 110 ° C and the effect of the inclusion on top of exogenous enzymes in different diets for broilers. Initially, it was determined the chemical composition of the grain, content of non-starch polysaccharides (PNA's), retrograde starch, analysis of the starch morphology and the values of apparent metabolizable energy (AME), AME corrected for the nitrogen balance (AMEn) and the coefficients of nitrogen apparent and corrected metabolizable (AMC and AMCn). The energy values were determined by the traditional method of total excreta collection, using broilers from 11 to 21 days of age, allocated in a completely randomized design, in a factorial scheme (three corn hybrids and two drying temperatures - 80 and 110 ° C), totaling six treatments, with seven replications and four birds per experimental unit. The results were subjected to analysis of variance and the individual effects and the interaction between the factors (hybrid and temperature) were analyzed; when significant, the interactions were unfolded. In general, the dried grains at 110 ° C showed a higher content of amylose and resistant starch, a higher content of nitrogen bound to fiber, with a reduction in the content of soluble PNA's in relation to the totals and a reduction in the size of the starch grain. There was an interaction ($P < 0.05$) between the factors evaluated for the AME and AMEn values. The energy values within each drying temperature have not shown interference from the hybrids ($P > 0.05$). However, when the drying temperatures within each hybrid were evaluated, the AME and AMEn values of 3,373 and 3,300 kcal kg⁻¹, respectively, obtained for hybrid 1 dried at 110 ° C, reduced by 73 and 69 Kcal. For the isolated factors, regardless of the drying temperature, hybrid 3 presented higher AMC and AMCn, values of 83.10 and 81.98%, respectively. The drying temperature provided variation in the chemical composition of the corn grain. The grain exposed to drying at 110 ° C showed an increase in the levels of amylose and resistant starch, a reduction in the ratio of soluble PNAs in relation to the total and an increase in nitrogen bound to fiber. However, in general, these structural changes were not able to provide differences in energy values. The second experiment aimed to determine the influence of different corn hybrids and drying temperature, as well as the effect of the inclusion of exogenous enzymes on the ileal digestibility of nutrients, on performance, carcass yield, intestinal morphometry and cecal microbiota of

broilers. For this purpose, 2,160 male day-old broiler chicks were used, distributed in a completely randomized design, in a 3 x 2 x 2 factorial scheme (three corn hybrids, two drying temperatures - 80 and 110 ° C, with and without addition *on top* of enzymatic blend (15000 PROT.kg⁻¹ protease, 80 KNU.kg⁻¹ amylase and 100 FXU.kg⁻¹ xylanase), totaling 12 treatments, with nine replicates and 20 birds per experimental unit. contained 1000 FYU.kg⁻¹ of phytase. For the performance and digestibility parameters, it was observed that, in general, there was punctual interference of the hybrid factors and drying temperature of corn. The addition *on top* of an enzymatic blend composed of xylanase, amylase and protease, provided better performance, intestinal morphometric parameters, greater presence of the genus of bacteria *Lactobacillus*, *Ruminococcus* and *Anaeroplasm*, in the initial phase of life (one to 21 days) in broilers and better nutrient digestibility at 42 days of age. However, the addition of the enzymatic blend in the compound diet with grains exposed to drying temperature of 110 ° C has not been able to express differences in the parameters of performance and digestibility.

Keywords: Starch, non-starch polysaccharides, post harvest, chemical composition, cecal microbiota.

LISTA DE TABELAS

Capítulo II.....	Página
Tabela 1. Composição da ração utilizada no ensaio de digestibilidade (11 a 21 dias de idade) (g.kg ⁻¹).	58
Tabela 2. Composição química dos diferentes híbridos de milho secados em duas diferentes temperaturas.....	59
Tabela 3. Açúcares constituintes dos diferentes híbridos de milho secados em duas diferentes temperaturas.....	60
Tabela 4. Fração do Amido no milho grão e no milho moído dos diferentes híbridos secados em duas diferentes temperaturas.....	61
Tabela 5. Valores de energia metabolizável aparente (EMA, kcal.kg ⁻¹), aparente corrigida (EMA _n , kcal.kg ⁻¹) e os coeficientes de metabolizabilidade aparente (CMA%) e aparente corrigida (CMA _n %) de três híbridos de milho secos em duas diferentes temperaturas para frangos de corte na fase inicial.	62
Tabela 6. Desdobramento das interações dos valores de energia metabolizável aparente (EMA, kcal.kg ⁻¹) e aparente corrigida (EMA _n , kcal.kg ⁻¹) considerando três híbridos de milho secos em duas diferentes temperaturas para frangos de corte na fase inicial.	62
Capítulo III.....	Página
Tabela 1. Composição das rações experimentais (1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias de idade).....	97
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas e com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático.....	98
Tabela 3. Desdobramento da interação enzima x temperatura para as variáveis ganho de peso e conversão alimentar de 1 a 7 dias e para conversão alimentar de 1 a 42 dias..	99
Tabela 4. Desdobramento da interação híbrido x temperatura para a variável conversão alimentar de 1 a 21 dias.....	99
Tabela 5. Altura de vilo (µm), profundidade de cripta (µm), relação altura de vilo:profundidade de cripta e área de absorção (µm ²) do jejuno de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas e com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático... ..	100
Tabela 6. Desdobramento da interação híbrido x enzima para a variável altura de vilo aos 21 dias.....	100

Tabela 7. Desdobramento da interação híbrido x temperatura para a variável relação altura de vilo:profundidade de cripta aos 21 dias.....	101
Tabela 8. Desdobramento da interação híbrido x temperatura para as variáveis relação altura de vilo:profundidade de cripta e área de absorção (μm^2) aos 42 dias.	101
Tabela 9. Desdobramento da interação enzima x temperatura para as variáveis profundidade de cripta (μm) e relação altura de vilo:profundidade de cripta aos 42 dias.....	101
Tabela 10. Predominância de filos, classes e ordens bacteriano encontrados no ceco de frangos de corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático... ..	102
Tabela 11. Predominância de famílias bacterianas encontradas no ceco de frangos de corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático	103
Tabela 12. Predominância de gêneros bacterianos encontrados no ceco de frangos de corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático	104
Tabela 13. Predominância de espécies bacterianas encontradas no ceco de frangos de corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão <i>on top</i> de blend enzimático.....	105
Tabela 14. Valores médios de energia digestível e dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.	106
Tabela 15. Desdobramento da interação (enzima/híbrido e temperatura) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg^{-1}) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.....	107
Tabela 16. Desdobramento da interação (temperatura/enzima e híbrido) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg^{-1}) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.....	107
Tabela 17. Desdobramento da interação (híbrido/temperatura e enzima) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg^{-1}) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.....	108

Tabela 18. Rendimento de carcaça (%), rendimento de cortes (%) e porcentagem de gordura abdominal (%) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas e com ou sem inclusão on top de blend enzimático.....	109
---	-----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I.....	Página
Figura 1. Localização dos componentes do milho.	17
Capítulo II.....	Página
Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura (x1000) de grãos de milho secos a 80°C (superior) e a 110°C (inferior), ordenados por híbridos (H1, H2 e H3).	57
Capítulo III.....	Página
Figura 1. Análise de coordenadas de princípio (PCoA) da composição da microbiota cecal. Cada ponto representa uma amostra posicionado na figura com base em sua composição de microbiota cecal. Cada cor representa ave de diferentes tratamentos, pontos na cor azul sem suplementação de enzimas e pontos na cor vermelha aves que receberam suplementação enzimática.	96

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. Revisão.....	16
2.1. Produção e importância do mercado do milho	16
2.2. A estrutura do grão e os principais componentes do milho	17
2.3. Influência do processo de secagem sobre o valor nutricional do milho	21
2.4. Suplementação de enzimas na alimentação de frangos de corte.....	23
2.5. Microbiota.....	25
2.6. Referências bibliográficas.....	28
3. COMPOSIÇÃO E DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM PARA FRANGOS DE CORTE	36
3.1. INTRODUÇÃO	39
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.3. RESULTADOS	46
3.4. DISCUSSÃO	48
3.5. CONCLUSÃO	53
3.6. REFERÊNCIAS.....	53
4. IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA E TEMPERATURA DE SECAGEM DE HÍBRIDOS DE MILHO NO DESEMPENHO, MORFOMETRIA E MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE	63
4.1. INTRODUÇÃO	65
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	68
4.3. RESULTADOS	75
4.4. DISCUSSÃO	79
4.5. CONCLUSÃO	87
4.6. REFERÊNCIAS.....	87

1. INTRODUÇÃO

O setor avícola trabalha com dietas que satisfazem as necessidades nutricionais do animal, alterando os ingredientes, suas quantidades presentes na formulação, em função do preço de mercado dos mesmos e de suas características nutritivas. Sendo a ração, composta em sua maioria por milho, o principal insumo para a criação de frangos de corte. O milho é o grão comumente utilizado em dietas para aves em todo o mundo, representando em média 60% do total de grãos utilizados na composição das rações (AGEITEC, 2019). Neste contexto, o valor gasto com a alimentação em alguns sistemas de criação animal, como frangos de corte, chega a representar 67,9% dos custos da produção (EMBRAPA, 2019).

O grão do milho apresenta composição em base seca de 61-78% de amido, 6-12% de proteína, 2-4% de fibra (a maioria resíduo detergente neutro), 3-6% de óleo e 1-4% de minerais (OLIVEIRA et al., 2016). No entanto, a qualidade nutricional dos grãos pode ser comprometida durante as operações de colheita e pós-colheita. Para que estes grãos tenham sua qualidade nutricional preservada durante o armazenamento, faz-se necessário um processo de secagem artificial, em secadores de ar quente com o objetivo de reduzir o teor de água dos grãos, evitando assim a proliferação de fungos e bactérias.

De acordo com Odjo et al. (2012), uma temperatura inadequada de secagem do grão pode provocar efeitos adversos, como desnaturação de substâncias lábeis ao calor como vitaminas e proteínas, redução da digestibilidade proteica devido à ocorrência da reação de Maillard e formação de amido retrógrado. De fato, Kaczmarek et al. (2014) observaram redução de ganho de peso e piora na conversão alimentar de frangos de corte alimentados com dietas contendo milho seco em temperatura de 140°C.

As condições de secagem dos grãos de milho podem alterar a presença dos fatores antinutricionais neste ingrediente, como os polissacarídeos não amiláceos (PNA'S) e os inibidores de proteases, influenciando a digestibilidade e consequentemente a utilização dos nutrientes (YEGANI; KORVER, 2013).

O processo de secagem pode comprometer o valor nutricional do milho, com redução da energia metabolizável aparente da dieta e consequentemente nos índices de produtividade animal. Bhuiyan et al. (2010) e Kaczmarek et al. (2014) observaram alteração na digestibilidade do amido e proteína em milho seco em temperaturas de 100°C e 140°C, respectivamente.

Além dos processos de secagem, segundo Masey et al. (2012) o material genético, tipo de solo, nível de adubação e condições climáticas, interferem na composição química do grão

e a utilização dos nutrientes contidos nos ingredientes podem não ser totalmente absorvidos pelos animais. De um modo geral, estima-se que aproximadamente 400 a 450 kcal de energia por kg de dieta não é digerida em uma ração à base de milho e farelo de soja (COWIESON, 2010). Para gerenciar a qualidade variável do milho e melhorar a digestibilidade dos nutrientes, enzimas exógenas como xilanases, amilases e proteases estão sendo cada vez mais usadas em dietas à base de milho para frangos de corte (COWIESON; ADEOLA, 2005; COWIESON e RAVINDRAN, 2008; COWIESON, 2010).

Frequentemente, o fator limitante na definição de dietas é a capacidade das aves em digerir diferentes componentes dos alimentos, especialmente as fibras. Os PNA's aumentam a viscosidade das rações devido à sua capacidade de se ligar à água, formando um gel viscoso, atuando de forma negativa ao interferir na interação entre enzima e substrato, dificultando a absorção de nutrientes pela mucosa intestinal. Para reduzir a capacidade de retenção de água dos PNA's, evitando que haja um aumento na viscosidade do quimo no intestino, é necessário que enzimas atuem decompondo esses compostos complexos em partículas menores, auxiliando a digestão e melhorando a absorção de nutrientes (OPALINSKI, 2006).

Uma das limitações das aves nos processos digestivos é a falta de produção de enzimas que atuem na digestão da parede celular dos carboidratos no trato gastrointestinal. Neste sentido, a adição de enzimas exógenas às dietas melhora a digestibilidade dos nutrientes, eliminando algumas restrições de digestão e absorção, reduzindo assim a quantidade de substâncias microbianas fermentáveis no intestino posterior. O aumento na viscosidade intestinal leva a diminuição da área de contato das enzimas com a digesta, além de interferir sobre a taxa de passagem, o que acarreta em um menor aproveitamento e resulta no aumento da excreção de nutrientes (CLEMENTE, 2015; ZARGHI, 2018).

Tem sido relatado que a suplementação de enzimas exógenas melhora a digestibilidade das dietas, proporcionando melhores resultados em desempenho zootécnico, com melhora na conversão alimentar (KACZMAREK et al., 2014; AMERAH et al., 2016). Em adição, trabalhos relatam a interferência no microbioma das aves, associando a utilização de enzimas com o aumento de microrganismos benéficos ao animal. PTAK et al. (2015) e WITZIG et al. (2015) observaram que a suplementação de fitase aumentou o número total de bactérias como *Lactobacillus* e *Enterococcus* no intestino delgado. Segundo Giannenas et al. (2017) a adição de protease na dieta aumentou a presença de *Lactobacillus* spp. e diminuiu a presença de *Clostridium perfringens* no íleo. De fato, a interação hospedeiro-microbiota é uma área de pesquisa muito ativa e pode ajudar na identificação de bactérias do trato gastrointestinal que

estão associadas ao melhor desempenho e saúde intestinal em animais criados em diferentes ambientes.

O potencial das enzimas exógenas para melhorar o valor nutricional do milho danificado pelo calor quando fornecido a dieta de frangos de corte não é claro. Além disso, trabalhos anteriores concentraram-se quase exclusivamente sobre o efeito da secagem nos valores físicos, químicos e estruturais do grão de milho e não em possíveis danos ao desempenho animal.

Neste contexto, a determinação dos efeitos das condições de secagem dos grãos de milho bem como a estimativa da eficácia de utilização das enzimas exógenas sobre a disponibilidade de nutrientes e sua possível alteração na microbiota de frangos de corte é relevante para a indústria. Fatores estes que podem determinar a recuperação do desempenho animal devido a possíveis prejuízos ocorridos durante o processo de produção.

2. Revisão

2.1. Produção e importância do mercado do milho

Associando o consumo animal ao consumo humano, além do crescimento do uso de milho em aplicações industriais, pode-se observar o aumento da sua importância no contexto da produção de cereais na esfera mundial. As previsões para os próximos anos ainda preveem progressão dessa produção, particularmente devido à diversificação de usos para os quais os grãos de milho são destinados. Este crescimento, em números, tem acompanhado o crescimento da produção de aves, suínos, bovinos e os pequenos animais no Brasil. A produção mundial de milho atingiu aproximadamente 97 bilhões de toneladas em 2017 (FAOSTAT, 2019).

De acordo com dados divulgados pela Agência Embrapa de Informação Tecnológica (AGEITEC, 2019), o uso do milho em grão na alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal no mundo, isto é, cerca de 70%. Esse cenário ressalta a dependência da criação animal em relação ao setor agrícola.

Os principais ingredientes de rações utilizados no Brasil são milho, farelo de soja e de trigo, farinhas de carne e de ossos, calcário e fosfato bicálcico, além de ingredientes oriundos de resíduos agroindustriais. De modo geral, o milho e o farelo de soja constituem 80% das rações. O milho é o ingrediente mais importante na alimentação de aves e suínos, pois sua

inclusão média de aproximadamente 65% nas rações contribui com cerca de 65% da energia metabolizável e 25% da proteína bruta destas (FERNANDES et al., 2017).

2.2. A estrutura do grão e os principais componentes do milho

O grão de milho pode ser dividido em três partes: o pericarpo, que representa 5,5% do grão e é constituído principalmente por fibra, amido e proteínas; o embrião ou gérmen, que representa 11,5% do grão e é constituído principalmente por lipídeos, proteínas, açúcares, amido e matéria mineral; e o endosperma, que representa 83% do grão e é constituído principalmente por amido e proteínas (SINGH et al., 2011) (Figura 1).

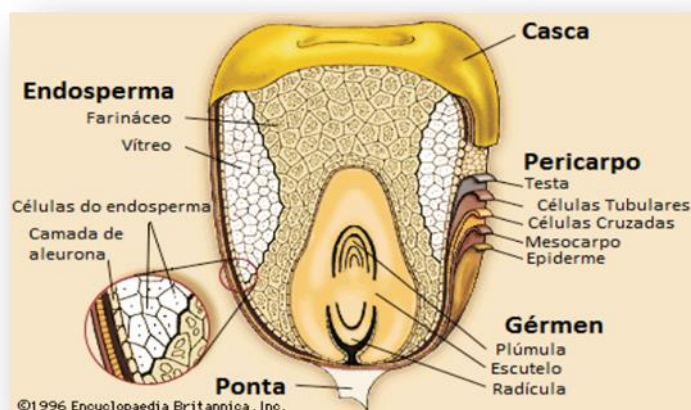


Figura 1 – localização dos componentes do milho.

Fonte: Adaptado de Encyclopaedia Britannica (1996)

A parede celular do endosperma envolve os grânulos de amido envoltos pela matriz proteica. Na parte vítrea do endosperma, os grânulos de amido estão densamente compactados no interior da matriz proteica. Já na parte farinácea do endosperma, os grânulos de amido estão frouxamente associados à matriz proteica. Os grânulos de amido do milho estão em uma associação rígida com a proteína sendo frequentemente quebrados durante a moagem (SINGH et al., 2011).

Os grânulos de amido são envolvidos por uma matriz protéica composta por dois tipos de proteínas, classificadas como zeínas (proteínas de reserva ou prolaminas) e não-zeínas. As zeínas representam cerca de 60% da proteína total do endosperma e compreendem quatro grupos estruturalmente distintos α , β , γ e δ . As α -zeínas são as mais abundantes, perfazendo

aproximadamente 60% das proteínas de reserva, seguidas pelas γ -zeínas (25%), β -zeínas (5-10%) e δ -zeínas (5%). As não-zeínas são proteínas encontradas em vários tecidos do grão e compostas basicamente por gluteínas, albuminas e globulinas. A quantidade e o tipo de zeínas afeta a dureza dos grãos (NUNES et al., 2020).

De acordo com Masey et al. (2012) a composição química sofre variação dependendo do material genético, tipo de solo, nível de adubação, condições climáticas, estágio de maturação da planta e insumos agronômicos.

A principal diferença entre os grupos de milho, ocasionada pela genética, é a forma e o tamanho dos grãos, definidos pela estrutura do endosperma (que forma a maior parte do grão) e o tamanho do gérmen (SANTOS, 2015). No entanto, o Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa (IN) nº 60 de 22/12/2011 estabeleceu a partir de setembro de 2013 a classificação do milho com base na consistência e formato do grão, constituindo quatro grupos: dentado, duro, semiduro e misturado (quando não estiver compreendido nos grupos anteriores) (BRASIL, 2011).

De modo geral, o milho pode ser dividido em dois tipos principais, dependendo da composição do amido do endosperma no núcleo: milho normal (milho dentado) e milho ceroso. O milho normal é amplamente cultivado e usado para alimentação e ração animal em todo o mundo, mas o milho ceroso é um tipo especial de milho cultivado que é usado como alimento humano em países asiáticos, como China, Coreia e Japão (HAO et al., 2015).

Milho tipo dentado é cultivado em muitos países e a maioria das variedades é amarela, com apenas alguns tipos brancos. É utilizado principalmente para produção de ração animal em boa parte dos países. É caracterizado pela presença de um endosperma duro nos lados e nas costas dos grãos e um núcleo que é um endosperma mole que se estende até a coroa do endosperma (SA et al., 2018).

O amido é classificado em três grupos de acordo com a taxa de liberação de glicose e sua absorção no trato gastrointestinal: amido rapidamente digerível, amido de digestão lenta e amido resistente. Amido rapidamente digerível é o grupo de amido que pode ser rapidamente hidrolisado por enzimas digestivas, amido de digestão lenta é o grupo digerido a uma taxa relativamente lenta e o amido resistente não é digerido por enzimas digestivas e consequentemente é transferido para o cólon (SINGH et al., 2011).

O amido de milho ceroso é digerido mais rapidamente do que o amido rico em amilose, possivelmente devido à maior área de superfície por molécula da amilopectina do que amilose. O amido proveniente do milho dentado é mais suscetível à amilólise em comparação

com o amido de milho com alto teor de amilose, possivelmente devido à presença de poros e canais superficiais que facilitam a difusão enzimática (ZHANG et al., 2006).

O amido cristalizado é denominado resistente à digestão, passando intacto pelo intestino delgado e alcançando o intestino grosso, onde é fermentado pela microbiota. Alimentos ricos em amilose também promovem uma fermentação considerável, já que a amilose é digerida mais lentamente que a amilopectina e afeta a digestão de outros nutrientes que não carboidratos (IJI et al., 2003).

O milho contém polissacarídeos não amiláceos (PNA's) ou polissacarídeos estruturais que podem ser divididos de acordo com sua solubilidade em água, possuindo aproximadamente, 0,9% de PNA's solúveis e 6% de PNA's insolúveis. A fração solúvel engloba pectinas, gomas e hemicelulose (formada por xiloglucanos, arabinoxilanos, β -glucanos, D-xilanos, D-mananos, entre outros) e a fração insolúvel engloba principalmente celulose e lignina (KOCHER et al., 2003).

Os PNA's, principalmente na forma solúvel, aumentam a viscosidade das rações, pois possuem grande capacidade de absorver água e formar um gel viscoso no trato intestinal, prejudicando tanto a mistura do alimento ingerido com os sucos digestivos quanto o acesso das enzimas aos nutrientes do alimento (enzima e substrato), dificultando a absorção de nutrientes pela mucosa intestinal (TAVERNARI et al., 2008).

A fração insolúvel, devido às suas propriedades de insolubilidade em água, permanece por maior tempo na moela das aves, permitindo assim, uma taxa de passagem que promova maior contato da digesta com as enzimas, favorecendo um maior aproveitamento de proteínas presentes na dieta (VAN SOEST, 1994). Quanto maior o tempo que a digesta permanece retida na moela e associado à acidez e à liberação de pepsinas do proventrículo (digestão gástrica) ocorre um maior fracionamento do alimento onde ocorre o rompimento da parede celular, aumentando assim a digestão (CLEMENTE, 2015).

Quimicamente, os PNA's da parede celular dos vegetais constituem-se basicamente de polímeros de pentoses (arabinose e xilose) e hexoses (glicose, frutose e galactose), unidades básicas que se combinam dando origem a dois grupos principais, β -glicanos e heteroglicanos. No primeiro se encontra a celulose e no segundo, as pectinas e as hemiceluloses. Estes carboidratos, juntamente com a lignina (polímero aromático de ésteres fenólicos) constituem as principais frações dos carboidratos fibrosos (ARRUDA et al., 2003).

Os frangos de corte não têm a capacidade de hidrolisar os PNA's da dieta, devido à falta ou ausência de enzimas endógenas específicas do substrato (COWIESON, 2010). O uso de enzimas específicas pode garantir a degradação e utilização da maioria dos componentes das

dietas à base de milho e farelo de soja. Em grãos de cereais, incluindo milho, os PNA's consistem em arabinoxilanos e β -glucanos, enquanto em farelo de soja predominam os arabinanos, arabinogalactanos, galactanos, galactomananos, mananos e pectinas (SLOMINSKI, 2011).

O principal carboidrato presente no endosperma é o amido. Composto por polímeros de glicose em ligações α -glicosídicas possui dois constituintes principais, que são denominados amilose (15-30%) e amilopectina (70-85%) compostas por uma cadeia glicosídica linear e ramificada, respectivamente (SOARES et al., 2017).

De maneira geral, a amilose e a amilopectina representam de 98 a 99% dos grânulos de amido. A amilose é um polímero longo e relativamente linear, formado por moléculas de D-glicose, com cerca de 99% das ligações α -1,4. Por outro lado, a amilopectina é uma molécula maior que a amilose, mais insolúvel, formada por moléculas de D-glicose, com ligações α -1,4, com ramificações α -1,6 (MISHRA et al., 2016).

As proporções de amilose e amilopectina foram muito próximas tanto no endosperma vítreo como no endosperma farináceo em estudo realizado por Piovesan (2011), independentemente da textura dos grãos, semi-dentado (17,8% amilose e 82,2% amilopectina) ou duro (17,9% amilose e 82,1% amilopectina).

No entanto, dados recentes publicados por Sa et al. (2018) mostram diferenças na relação de amilose:amilopectina. Para o milho tipo ceroso, a proporção de amilose para amilopectina é menor que 15%. Em grãos do tipo dentado a amilose representa de 16% a 35% dos grânulos e grãos do tipo alta amilose o teor de amilose é superior a 36% do grânulo. No milho ceroso, há uma redução drástica na síntese de amilose como resultado de uma mutação recessiva do gene ceroso (wx), com composição do amido exclusivamente de amilopectina (SA et al., 2018).

Na maioria dos tipos de milho cultivados a campo, a quantidade de amilose em relação à amilopectina é relativamente estável e próxima a 20:80. No entanto, a proporção pode ser fortemente afetada por processos genéticos, levando a alterações no conteúdo e composição do amido em grãos. Consequentemente, essas alterações nas características do núcleo conferem esses genótipos com propriedades específicas, levando a grãos especiais, como milho com alto teor de amilose, milho ceroso, milho doce, dentre outros (MISHRA et al., 2016).

Estudos demonstram que a razão amilose:amilopectina está negativamente correlacionada com a digestão do amido em não ruminantes (DENARDIN; SILVA, 2009). A amilase pancreática de aves e suínos tem especificidade para ligações α -1,4. No entanto, a

velocidade de digestão da amilopectina (α -1,4 e α -1,6) é maior em razão, principalmente, da conformação da cadeia, com grande número de ramificações, aumentando a possibilidade de ação enzimática no processo digestivo intestinal (BERTECHINI, 2012).

Especial atenção deve ser dada a esta constituição nas diferentes fontes de amido, pois a proporção adequada de amilose e amilopectina, dependendo da espécie a ser estudada, pode resultar em melhor desempenho produtivo dos animais (MELO et al., 2016).

2.3. Influência do processo de secagem sobre o valor nutricional do milho

Não apenas a escolha do ingrediente, mas também as técnicas de processamento afetam a digestibilidade do amido. O aquecimento e a expansão do amido na presença de água rompem as pontes de hidrogênio entre as cadeias de amilose, hidratam a molécula e gelatinizam o amido. Em um ambiente onde o conteúdo de água do meio é limitado, ocorre a expansão do amido e como não há entrada de água na molécula, originam-se pontes de hidrogênio entre as cadeias e parte do amido é cristalizado após o resfriamento, devido à perda da ordem molecular (LU et al., 2007; SAKOMURA et al., 2014). Esse processo origina o amido retrógrado que não é digerido e absorvido no intestino delgado do animal (SAKOMURA et al., 2014).

A taxa de retrogradação e sua extensão variam com as propriedades do amido e estrutura cristalina. Os amidos com maior teor de amilose apresentam maiores taxas de retrogradação (SINGH et al., 2006). A retrogradação torna o amido resistente à quebra por enzimas digestivas e consequentemente reduz o índice glicêmico (FREDRIKSSON et al., 2000). Carboidratos que se decompõem rapidamente durante a digestão e liberam glicose rapidamente na corrente sanguínea são consideradas como tendo um alto índice glicêmico.

A retrogradação pode ocorrer também após um processo inadequado de secagem do grão, expansão ou até mesmo peletização. Tanto a redução da temperatura após o processo quanto pelo avanço no tempo, pode ocorrer maior interação entre as cadeias que compõe o amido, formando pontes de hidrogênio que estabilizam as duplas hélices, e esse arranjo obriga a saída da água (SAKOMURA et al., 2014). Desta forma, ocorre a cristalização ou retrogradação do amido. Inicialmente, ocorre a perda do arranjo lamelar (perda de cristalinidade) durante o aumento da temperatura e, em seguida, a divisão das cadeias de amilopectina inicialmente presentes em duplas hélices (perda de ordem molecular) (MALUMBA, 2009).

A secagem é utilizada para remover a umidade dos grãos para posterior armazenamento, sendo a forma mais usada na conservação de grãos após a colheita. Esta operação facilita o transporte dos grãos e garante sua preservação, evitando alterações que podem resultar no desenvolvimento de microrganismos. No entanto, é uma operação crítica no processamento sendo a maior causa de deterioração na sequência de processamento dos grãos, que engloba a colheita, limpeza, secagem, transporte e o armazenamento (IZLI; ISIK, 2013).

O tipo de secador, o tempo de exposição, a velocidade do ar de secagem e sua temperatura devem ser adequados para que os grãos tenham sua umidade reduzida, de modo a permitir seu armazenamento adequado, sem alterar sua qualidade física e química (EMBRAPA, 2007).

Altas temperaturas empregadas na secagem podem mudar irreversivelmente várias características dos grãos, modificando a estrutura dos principais componentes, podendo afetar propriedades funcionais do milho e seus derivados. Neste contexto, embora o amido resistente seja formado durante o desenvolvimento da semente, a sua proporção pode aumentar durante a secagem do grão e o armazenamento (BROWN, 1996). Temperaturas de secagem mais altas também resultam em aumento na amilose e sua proporção com amilopectina (BHUIYAN et al., 2012). A proporção de amilose e amilopectina normalmente encontrada em grãos de milho é de 20 a 25% para amilose e de 75 a 80% para a amilopectina (JAMBRAK et al., 2010).

Em estudo realizado por Bhuiyan et al. (2010), conforme houve aumento na temperatura de secagem de 80 até 100°C do grão de milho, foi observada alteração na relação de PNA's, acarretando em uma redução da digestão *in vitro* do amido, o que pode ser devido ao aumento do teor de amilose.

Uma temperatura de secagem mais elevada (105°C) ao longo de um período prolongado favorece o aumento do teor de amido resistente e o conteúdo de amilose (BHUYAN et al., 2012). Segundo estes autores, o conteúdo de amilose aumentou enquanto o teor de amilopectina diminuiu com o aumento da temperatura e do período de aquecimento. Iji et al. (2003) observaram um aumento do teor de amido resistente devido ao tratamento térmico de grãos de milho a 100°C .

No entanto, em estudo realizado por Mazzuco et al. (2002), onde o milho foi submetido à secagem a 100, 70 e 40°C, as condições de colheita e secagem dos grãos não influenciaram a composição química e o valor energético do milho para frangos de corte.

Já os dados de desempenho apresentados por Kaczmarek et al. (2014) mostram que o crescimento de frangos de corte foi afetado negativamente pela alta temperatura de secagem

do milho (140°C). Além disso, o alto teor de umidade pós-colheita pode ser responsável por uma maior sensibilidade à temperatura de secagem proporcionando maiores danos físicos-químicos aos grãos.

Carvalho et al. (2009) determinaram os coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos de amostras de milho submetidas à diferentes temperaturas de secagem (temperatura ambiente e secagem artificial a 80, 100 e 120°C). De acordo com os autores, o conteúdo da maioria dos aminoácidos essenciais e não-essenciais (principalmente metionina, lisina, metionina + cistina, treonina, triptofano, fenilalanina e isoleucina) do milho foi reduzido quando os grãos de milho foram submetidos à elevada temperatura de secagem e por longo período de armazenamento.

2.4. Suplementação de enzimas na alimentação de frangos de corte

Ingredientes de origem vegetal possuem fatores antinutricionais, como fitato, inibidores de tripsina, tanino, substâncias que não são normalmente digeridas pelas enzimas digestivas (FERREIRA et al., 2015). No entanto, atualmente, inúmeras possibilidades de aditivos dietéticos estão disponíveis para melhorar a produção dos frangos de corte. Dentre os aditivos disponíveis, as enzimas exógenas atuam melhorando a digestibilidade dos alimentos e consequentemente o desempenho das aves, reduzindo os custos das rações (COWIESON, 2010; BARBOSA et al., 2014; MATIAS et al., 2015).

Segundo Zarghi (2018) ao adicionar a enzima à ração, o processo digestivo é aprimorado aumentando a eficiência nutricional. As enzimas exógenas quebram ligações químicas que não são digeridas pelas enzimas endógenas aumentando a disponibilidade de amido, proteínas e minerais contidos na parede, ou por compostos antinutricionais complexos, que as enzimas endógenas não são capazes de digerir (BEDFORD; PARTRIDG, 2001).

A estratégia de adicionar enzimas exógenas na dieta pode auxiliar a ação das enzimas endógenas na melhora da digestibilidade da dieta, já que, enzimas como xilanase, amilase, protease e fitase, podem melhorar o acesso de enzimas endógenas ao conteúdo celular devido à hidrólise dos substratos (COWIESON, 2005).

No entanto, a atividade das enzimas no trato digestório das aves pode sofrer alterações, de acordo com as condições de tempo de passagem, condições físico-químicas em consequência ao tipo de dieta (granulometria, fibra, extrato etéreo, pH e efeito tampão do alimento, dentre outros), condições ambientais (alcalose respiratória e acidose metabólica), qualidade físico-química da água (pH, teor e tipo de minerais presentes), além de outros

aspectos (KRABBE; LOARANDI, 2014). A ação das enzimas exógenas pode depender também da qualidade do milho, tamanho das partículas, nível de resistência do amido (amido resistente tipo 1, 2 ou 3), proporção de amilose e amilopectina e inclusive das condições de secagem (BEDFORD et al., 1997).

Romero et al. (2014) relataram que a adição dietética de enzima exógena, na forma isolada ou utilizando combinações de enzimas como amilase, xilanase, protease e fitase, aumenta a digestibilidade do amido, aminoácidos e energia metabolizável aparente corrigida em frangos jovens. De Souza et al. (2015) encontraram melhoria no desempenho de aves que receberam enzimas em sua dieta.

Segundo Lathan et al. (2016) variações no teor de nutrientes do milho podem ser prejudiciais ao desempenho de frangos de corte quando um valor estático de energia metabolizável aparente é usado para formulações. Sendo assim, a inclusão de enzima exógena, como a xilanase, pode ser uma ferramenta de ajuste de dietas a base de milho, pois pode reduzir a variabilidade na disponibilidade de nutrientes como energia e consequentemente reduzir a variabilidade no desempenho de frangos de corte, principalmente na fase inicial de vida. Segundo Bedford e Partridge (2001) as enzimas exógenas contribuem melhorando a ação das enzimas endógenas.

Dietas compostas por ingredientes como milho e farelo de soja contêm alto nível de amido e PNA's, que podem ser potencialmente antagônicos à utilização de nutrientes pelo animal. Portanto, a adição de enzimas, como xilanase e β -glucanase, em dietas a base de milho e farelo de soja, pode hidrolisar os polissacarídeos e desbloquear as moléculas de amido que estão encapsuladas, resultando em melhora na digestibilidade dos nutrientes (ZOU et al., 2013). Para Mohammed et al. (2017) a utilização de enzima exógena em rações para aves reduz o efeito antinutricional das dietas, possivelmente pela hidrólise de PNA's solúveis e insolúveis, proporcionando melhora no desempenho animal.

Segundo Gilbert et al. (2001) as enzimas promovem hidrólise dos PNA's, consequentemente reduzem a quantidade de substratos disponíveis para a proliferação das bactérias reduzindo a carga bacteriana que, geralmente, é alta nas porções distais do intestino delgado. De acordo com os autores, a suplementação de protease, xilanase e amilase, proporcionou aumento da área de superfície de vilos e da área de absorção no jejuno de frangos de corte, aos 42 dias de idade, atribuindo tais melhorias a menor concentração de bactérias intestinais nas aves alimentadas com dietas contendo as enzimas.

A xilanase tornou-se uma enzima exógena comumente usada em dietas para frangos de corte. Vários estudos relatam seus benefícios quanto a digestibilidade energética (Campasino

et al., 2015; Williams et al., 2018) e desempenho dos animais (Coppedge et al., 2012; Williams et al., 2018; Latham et al., 2016).

Os benefícios no desempenho das aves com a utilização de enzimas não se deve apenas a melhoria no aproveitamento dos nutrientes, mas também ao equilíbrio da microbiota intestinal das aves. A utilização de enzimas exógenas reduz a quantidade de resíduo não digerido que chega ao intestino grosso, como consequência do melhor aproveitamento de nutrientes no intestino delgado, reduzindo a população microbiana no íleo terminal (BEDFORD; APAJALAHTI, 2001).

2.5. Microbiota

O trato gastrointestinal (TGI) das aves abriga uma microbiota complexa que desempenha um papel importante na saúde geral do hospedeiro (PAN; YU, 2014). A microbiota intestinal participa de diversos processos fisiológicos, como a digestão e absorção de nutrientes, desenvolvimento do sistema imunológico e exclusão de patógenos (STANLEY et al., 2014).

De fato, a microbiota presente no TGI das aves engloba mais de 100 gêneros de bactérias e 600 espécies bacterianas diferentes (TOROK et al., 2011). Em geral, o mais abundante filo na microbiota intestinal de frangos é o Firmicutes seguido pelos filos Proteobacteria e Bacteroidetes (POURABEDIN et al., 2015).

De acordo com Modh (2015) existe uma mudança temporal no intestino do frango, com relação ao desenvolvimento e a diversidade da microbiota tanto do íleo como do ceco. Stanley et al. (2014) também observaram um aumento na riqueza de espécies à medida que o frango envelheceu tanto no íleo como no ceco, sendo que, foi encontrada uma maior diversidade bacteriana no ceco em comparação com o íleo. Neste sentido, sugere-se que uma modulação da microbiota poderia ser melhor realizada durante a fase transitória, quando esta ainda é instável.

No entanto, o período de estabilidade da microbiota ainda não está bem definido. Diversos autores relataram estabilização da microbiota ocorrendo desde o estágio inicial de vida, podendo ocorrer flutuação da microbiota desde o quarto dia de vida até os 25 dias de idade (LU et al., 2003; GONG et al., 2007; MOHD et al., 2015; APAJALAHTI et al., 2016).

Além do fator idade, a composição microbiana pode variar de acordo com a localização do TGI em aves. Papo, moela e duodeno compartilham microbiota semelhante, dominada pelo gênero *Lactobacillus*, chegando a 99% em algumas aves (SEKELIA et al., 2012). O jejuno

também é dominado por espécies de *Lactobacillus*, principalmente *L. salivarius* e *L. aviarius* (GONG et al. 2007; FENG et al., 2010). A composição microbiana do íleo é mais diversificada e menos estável comparada com o duodeno e o jejuno. O íleo é dominado por *Lactobacillus*, *Candidatus arthromitus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli* / *Shigella* e *Clostridium* XI (SHAUFI et al., 2015; POURABEDIN et al., 2015). O ceco é mais densamente colonizado e com uma diversidade de bactérias maior do que as do TGI superior.

O ceco apresenta principalmente bactérias das famílias Clostridiaceae, Lachnospiraceae e Ruminococcaceae, pertencentes à ordem Clostridia (DANZEISEN et al., 2011). Enterococcaceae, Enterobacteriaceae e Bacteroidaceae também são famílias abundantes relatadas na microbiota cecal (YIN et al., 2010). A nível de espécies, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus reuteri* representam mais de 40% da microbiota cecal (STANLEY et al., 2015). Segundo Stanley et al. (2015), o ceco é uma região importante para abrigo de bactérias responsáveis pela fermentação de carboidratos não digeríveis.

Como citado anteriormente, a composição da microbiota fecal altera dependendo das contribuições variáveis da microbiota de diferentes segmentos gastrointestinais. No entanto, Lactobacillaceae, Peptostreptococcaceae, Streptococcaceae, Clostridiaceae e Enterobacteriaceae foram identificados como famílias comuns para todos os segmentos (VIDENSKA et al., 2014).

De acordo com Yin et al. (2018) os *Lactobacillus* (Firmicutes) estão presentes em todo o TGI de aves e a presença destas bactérias pode estar relacionada a melhores resultados de desempenho. Segundo Mohd et al. (2015) os *Lactobacillus* são considerados bactérias probióticas na promoção da saúde intestinal. De acordo com Lu et al. (2003), *Lactobacillus* são geralmente considerados benéficos para aves, por sua produção de ácidos, como lácticos e acéticos, levando à redução do pH, bem como à produção de certas bacteriocinas, constituindo aproximadamente 8% da população do ceco.

Análises abrangentes da microbiota intestinal levam a uma melhor compreensão das interações microbianas e da biodiversidade, o que é importante para a implementação de estratégias para melhorar a saúde intestinal (MOHD et al., 2015).

A composição química e a estrutura da digesta determinam amplamente a distribuição de espécies da comunidade bacteriana no TGI, pois as espécies bacterianas diferem em suas preferências de substrato e requisitos de crescimento. Consequentemente, a estrutura da comunidade bacteriana e a função metabólica são muito dependentes das condições

bioquímicas da digesta, como resultado da composição da alimentação e das respostas fisiológicas do hospedeiro, como secreções endógenas (KIARIE et al., 2013).

Segundo Borda-Molina et al. (2018) as dietas para aves têm um grande impacto no microbioma intestinal quanto a diversidade e composição. Jozefiak et al. (2010) relataram que a suplementação com enzimas exógenas influencia a microbiota no ceco de frangos de corte e pode ter o efeito de reduzir populações potencialmente patogênicas de enterobactérias. A suplementação de xilanase e glucanase pode ter um impacto importante na saúde intestinal de aves, em particular no que diz respeito a possível migração de algumas espécies bacterianas para as partes superiores do TGI.

Diferenças na composição da dieta, utilização ou não de enzimas e o modo de ação enzimático, podem favorecer mudanças na composição dos substratos, produto final de fermentação no segmento ceco (JOZEFIK et al., 2004).

Nas últimas décadas, muito esforço foi feito para otimizar a microbiota intestinal de aves usando intervenções alimentares (POURABEDIN et al., 2015). A dieta e aditivos alimentares podem afetar a microbiota intestinal do frango em relação à diversidade, composição e estrutura (AMERAH et al., 2011; RODRIGUEZ et al., 2012).

2.6. Referências bibliográficas

- AGEITEC – Agencia Embrapa de Informação e tecnologia. <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/Abertura.html>>. (Acesso em: 09 outubro 2019).
- AMERAH, A.M., GILBERT, C., SIMMINS, P. H., RAVINDRAN, V. Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. **J. W. Poult. Sci.** 67:29-46. 2011.
- AMERAH, A. M., ROMERO, L. F., AWATI, A., RAVINDRA, V. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diet. 0:1–10. 2016.
- APAJALAHTI J, VIENOLA K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. **Anim Feed Sci Technol.** (2016) 221:323–330. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.05.004
- ARRUDA, A. M. V.; PEREIRA, E. S.; IVONE, Y. M.; SILVA, L. D. F. Importância da fibra na nutrição de 28ifere. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 24, n. 1, p. 181-190, jan./jun. 2003
- BARBOSA, N. A.; BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; FERNANDES, J. B. K.; KAWAUCHI, I. M. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. **Comunicata Scientiae, Bom Jesus**, v. 5, n. 4, p. 361- 369, 2014.
- BEDFORD, M. R.; APAJALAHTI, J. Microbial interactions in the response to exogenous enzyme utilization. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Londres: Cabi international, Cap.12, p.299-314, 2001.
- BEDFORD, M. R., F. G. SILVERSIDES, COWAN, W. D.. Process stability and methods of detection of feed enzymes in complete diets. In: **Enzymes in farm animal nutrition** (Ed. M. R. Bedford and G. G. Partridge). CABI, Oxford, UK. pp. 377-388. 2001.
- BEDFORD, M. R, MORGAN AJ, CLARKSONK, SCHULTZEHK. Enzyme feed additive and animal feed. US Patent 5612055, 1997.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**, 2 edn. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2012.
- BHUIYAN, M.M., Islam, A.F.; Iji, P.A. Variation in nutrient composition and structure of high-moisture maize dried at different temperatures. Department of Animal Science, School of Environmental and Rural Science, **South African Journal of Animal Science**, 40 (3), 2010.

- BHUIYAN, M. M., ISLAM, F., COWIESON, A. J., IJI, P. A. Effect of and processing on maize grain quality and nutritional value for broiler chickens 1. Heat treatment and physiochemical properties. **Asian J. Poult. Sci.** 4:101-116. 2012.
- BORDA-MOLINA D.; ZUBER, T., SIEGERT, W., SILVA, C. A., FEUERSTEIN, D., RODEHUTSCORD, M. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. **Poultry Science** 98:2906–2918, 2018.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 60 de 22 de dez. Estabelecer o Regulamento Técnico do Milho na forma da presente. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília (23 de dez. 2011); Sec. 1: 3-5. De 2011.
- BRITANNICA, Encyclopaedia Britannica, Inc 1996. The outer layers and internal structures of a kernel of corn. Disponível em: <<http://global.britannica.com/EBchecked/topic/103350/cereal-processing>>. Acesso em: 10 outubro. 2019.
- BROWN, I., Complex carbohydrates and resistance starch. **Nutr. Rev.** 54, S115-S119. 1996.
- CAMPISANO, A., PANCHER, M., PUOPOLO, G., PUDDU, A., LÓPEZ-FERNÁNDEZ, S., BIAGINI, B., PERTOT, I. Diversity in endophyte populations reveals functional and taxonomic diversity between wild and domesticated grapevines. **Am J Enol Vitic.** 66:1, 12-21. 2015.
- CARVALHO, D. C. O.; ALBINO, L. F. T.; VARGAS, J. G. J.; TOLEDO, R. S.; OLIVEIRA, J. E.; SOUZA, R. M. Coeficiente de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos e valores de aminoácidos digestíveis do milho submetido a diferentes temperaturas de secagem e períodos de armazenamento. **R. Bras. Zootec.**, v.38, n.5, p.850-856, 2009.
- CLEMENTE, A.H.S. Níveis de fibra dietética e energia metabolizável em rações para frangos de corte. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil, 62p. 2015.
- COPPEDGE, J. R., L. A. ODEN, B. RATLIFF, B. BROWN, F. RUCH, LEE, J. T. Evaluation of nonstarch polysaccharide-degrading enzymes in broiler diets varying in nutrient and energy levels as measured by broiler performance and processing parameters. **J. Appl. Poult. Res.** 21:226–234. 2012.
- COWIESON, A.J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, v.84, p.1860-1867, 2005.
- COWIESON, A J. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/ soy-based poultry diets. **Japanese Poultry Science** 47, 1–7, 2010.
- COWIESON, A. J. & RAVINDRAN, V. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **British Poultry Science**, 49, 37-44. 2008.

- DANZEISEN JL, KIM HB, ISAACSON RE, et al. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS One* 6:27949. 2011.
- DENARDIN, C. C. SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-. **Ciência Rural**, v.39, n.3, mai-jun, 2009.
- DE SOUSA, J. P. L., ALBINO, L. F. T., VAZ, R. G. M. V., RODRIGUES, K. F., DA SILVA, G. F., RENNO, L. N., KANEKO, I. N. The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive, bone, and blood biochemistry characteristics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 17:1, 69-76, 2015.
- EMBRAPA, 1. ISSN 1679-012 Versão Eletrônica – 3^a edição. Cultivo do Milho. Editor Técnico: José Carlos Cruz, zecarlos@cnpms.embrapa.br. Nov/2007.
- EMBRAPA. Central de inteligência de Aves e Suínos. <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/custos/icpfrango>. (Acesso em: 09 out 2019).
- FAOSTAT..<<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>>. (Acesso em: 09 out 2019). 2019
- FENG Y, GONG J, YU H, et al. Identification of changes in the composition of ileal bacterialmicrobiota of broiler chickens infected with *Clostridium perfringens*. **Vet Microbiol** 140:116–21. 2010.
- FERNANDES, J. I. CONTINI, J. P., PROKOSKI, K., GOTTARDO, E. T., CRISTO, A. B., PERINI, P. Desempenho produtivo de frangos de corte e utilização de energia e nutrientes de dietas iniciais com milho classificado ou não e suplementadas com complexo enzimático. **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 181-190, 2017.
- FERREIRA, C. B.; GERALDO, A.; VIEIRA FILHO, J. A. Et al. Associação de carboidrases e fitase em dietas valorizadas e seus efeitos sobre desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras leves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 1, p. 249-254, 2015.
- FREDRIKSSON, H.; BJORCK, I.; ANDERSSON, R.; LILJEBERG, H.; SILVERIO, J.; ELIASSON, A. Studies on α -amylase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato. **Carbohydr. Polym.**, v.43, p.81–87, 2000.
- GIANNENAS, I., BONOS, E., ANESTIS, V., FILIOUSSIS, G., PAPANASTASIOU, D. K., BARTZANAS, T., SKOUFOS, I. Effects of protease addition and replacement of soybean meal by corn gluten meal on the growth of broilers and on the environmental performances of a broiler production system in greece. **PloS one**, 12:1, 2017.
- GILBERT, C.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. The effects of lupin inclusion with or without enzyme supplementation on the morphology of the posterior gastrointestinal tract. **British Poultry Science**, 42 (Supp. 1): 2001.

- GONG J, FORSTER RJ, YU H, CHAMBERS JR, WHEATCROFT R, SABOUR PM, et al. Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chickens and comparison with bacteria in the cecum. **FEMS Microbiol Ecol.** 41:171–9. 2002.
- HAO, D., ZHANG, Z., CHENG, Y., CHEN, G., LU, H., MAO, Y., ... XUE, L. Identification of Genetic Differentiation between Waxy and Common Maize by SNP Genotyping. **PLOS ONE**, 10(11), e0142585, 2015.
- IJI PA, KHUMALO K, SLIPPERS S, GOUS RM. Intestinal function and body growth of broiler chickens on diets based on maize dried at different temperatures and supplemented with a microbial enzyme. **Reproduction, Nutrition, Development** 43, 77–90, 2003.
- IZLI, N., ISIK, E. Batch drying characteristics of dent corn (*Zea mays* var. *indentata* Sturt). **Journal of Food, Agriculture & Environment** Vol.11 (1): 259 – 263. 2013
- JAMBRAK, A.R., HERCEG, Z., SUBARIC, D., BRNCIC, M., BRNCIC, S. R. B., BOSILJKOV, T., CVEK, D., TRIPALO, B., GELO, J. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. **Carbohydrate Polymers** 79, 91-100, 2010.
- JOZEFIK , D., RUTKOWSKI, A. MARTIN, S.A. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113: 1–15, 2004.
- JOZEFIK, D., RUTKOWSKI, A., KACZMAREK, S., JENSEN, B. B., ENGBERG, R. M., HOJBERG, O. Effect of β -glucanase and xylanase supplementation of barley- and rye-based diets on caecal microbiota of broiler chickens. **British Poultry Science**, 51(4), 546–557, 2010.
- KACZMAREK, S. A., A. ROGIEWICZ, M. MOGIELNICKA, A. RUTKOWSKI, R. O. JONES, SLOMINSKI, B. A. The effect of protease, amylase, and non-starch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. **Poult. Sci.** 93:1745–1753, 2014.
- KOTARSKI SF, WANISKA RD, THURN KK. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *J of Nutr*[on line]. 122(1):178-190, 1992.
- KIARIE, E., ROMERO, L. F., NYACHOTI, C. M., The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutr. Res. Rev.** 26, 71–88. 2013.
- KOCHER, A., M. CHOCT, G. ROSS, J. BROZ, AND T. K. CHUNG. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal based diets in broilers. **J. Appl. Poult. Res.** 12:275–283, 2003.
- KRABBE, E., LORANDI, S. Atualidades e tendências no uso de enzimas na nutrição de aves. *Anais...31 latino- americano de nutrição animal.* 2014
- LATHAM, R.E., M.P. WILLIAMS, C. FLORES, MASEY O'NEILL H.V., YORK T.W., LEE J.T. Impact of variable corn nutrient content, Impact of variable corn nutrient content, AME prediction, and xylanase inclusion on growth performance. **J. Appl. Poult. Res.** 25:338–351. 2016.

- LU J, IDRIS U, HARMON B, HOFACRE C, MAURER JJ, LEE MG. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Appl Environ Microbiol** 69:6816–6824, 2003.
- LU, T.-J., DUH, C.-S, LIN, J.-H. & CHANG, Y.-HO. Effect of granular characteristics on the viscoelastic properties of composites of amylose and waxy starches. **Food Hydrocolloids**, 22, 164-173, 2007.
- MALUMBAA. P.; JANASA. S.; MASIMANGOB. T.; SINDICA,. M.; DEROANNEA. C.; BÉRAA. F. Influence of drying temperature on the wet-milling performance and the proteins solubility indexes of corn kernel. **Journal of Food Engineering** 95, 393–399, 2009.
- MASEY O’NEILL HV, LUI N, WANG JP, DIALLO A, HILL S. Effect of xylanase on performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. **Asian-Aust J Anim Sci.** 25:515–523. 2012.
- MATIAS, C. F. Q.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A.; BAIÃO, R. C. et al. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.67, n. 2, p. 492-498, 2015.
- MAZZUCO, H. et al. Composição química e energética do milho com diversos níveis de umidade na colheita e diferentes temperaturas de secagem para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n. 6, p.2216-2220, 2002.
- MELO FILHO, ARTUR BIBIANO DE; VASCONCELOS, MARGARIDA ANGÉLICA DA SILVA. **Química dos alimentos**. 2016.
- MISHRA, A., SINGH, A., SHARMA, M. et al. **BMC Plant Biol** 16: 217. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0896>, 2016.
- MOHAMMED, A.A., A.B. HABIB, A.M. ELTREFI, E.S.A. SHULUKH, A.A. ABUBAKER. Effect 32iferenteent levels of multi-enzymes (Natuzyne Plus®) on growth performance, carcass traits and meat quality of broiler chicken. **Asian J. Anim. Vet. Adv.**, 13 (1), pp. 61-66, 2017.
- MOHD SHAUFI M et al. Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses. **Gut Pathogens** 7:4. 2015.
- NUNES, F. C., COSTA, T. F., GUIMARÃES, M. A. B., TEIXEIRA, P. C., DOS SANTOS, L. P., GUIMARÃES, K. C. Use of processed corn in ruminant diets. Research, **Society and Development**, 9:6, 188963674, 2020.
- ODJO S. et al. Influence of drying and hydrothermal treatment of corn on the denaturation of salt-soluble proteins and color parameters. **J. Food Eng.**, 109, 561-570. 2012.

- OLIVEIRA, E. P.; SANTOS, W. F.; SANTOS, L. F. S.; MACIEL, L. C.; SILVA, R. M., R. M.; LUCAS SODRÉ VIEIRA, L. S. Teores de lipídeo e proteína em grãos de milho visando aplicação industrial. **Rev Ciên Farm Básica Apl.**, Araraquara, v. 37 Supl. 1, Agosto 2016.
- OPALINSKI M. Utilização de enzima e soja integral em rações para frangos formuladas com ingredientes alternativos com base em aminoácidos digestíveis e totais. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2006.
- PAN D, YU Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microb.** 5:108-19. 2014.
- PIOVESAN, V.; OLIVEIRA, V. E GEWEHR, C.E. 2011. Milhos com diferentes texturas de endosperma e adição de alfa – amilase na dieta de leitões. **Cienc Rural**, 41:2014-2019.
- POURABEDIN M, GUAN L, ZHAO X. Xylo-oligosaccharides and virginiamycin differentially modulate gut microbial composition in chickens. *Microbiome*, 3:1–12. 2015.
- PTAK, A., BEDFORD, M.R., SWIATKIEWICZ, Z., JOZEFIAK, D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. *Plos ONE*; 10(3). 2015.
- RODRIGUEZ, M. L., REBOLE, A., VELASCO, S., ORTIZ, I. T., ALZUETA, C. Wheat and barley-based diets with or without additives influence broiler chicken performance, nutrient digestibility and intestinal microflora. **J. Sci. Food Agriculture**. 92: 184-190. 2012.
- ROMERO, L. F., SANDS, J. S., INDRAKUMAR, S. E., PLUMSTEAD, P. W., DALSGAARD, S., & RAVINDRAN, V. Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn-and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease. **Poultry science**, 93:10, 2501-2513, 2014.
- ROMERO, L. F., C. M. PARSONS, P. L. UTTERBACK, P. W. PLUMSTEAD, V. RAVINDRAN. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. **Anim. Feed Sci. Technol.** 181:35–44, 2013.
- SA KJ, HONG TK, LEE JK. Genetic diversity and association analyses of canadian maize inbred lines with agronomic traits and simple sequence repeat markers. **Plant Breed Biotechnol** 6(2):159–169, 2018.
- SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. R. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p. 466-484. 2014.
- SANTOS, C.S. Características nutricionais e físicas do milho com diferentes texturas e tempos de armazenamento. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Goiana: UFG, 115p. 2015.

- SEKELJA, M., RUD, I., KNUTSEN, S. H., DENSTADLI, V., WESTERENG, B., NAES, T., & RUDI, K. Abrupt temporal fluctuations in the chicken fecal microbiota are explained by its gastrointestinal origin. **Appl. Environ. Microbiol.**, 78:8, 2941-2948, 2012.
- SILVA DJ, QUEIROZ AC. *Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3ed. Viçosa: UFV, 235 p, 2002.
- SINGH, J., MCCARTHY, O. J., SINGH, H. Physicochemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. **Carbohydrate Polymers**, 64, 569–581, 2006
- SINGH, N., SINGH, S., SHEVKANI, K. Maize: Composition, Bioactive Constituents, and Unleavened Bread. Copyright Elsevier Inc. All rights reserved. DOI: 10.1016/B978-0-12-380886-8.10009-1. 2011.
- SHAUFI, M. A. M., SIEO, C. C., CHONG, C. W., GAN, H. M., & HO, Y. W. Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses. **Gut pathogens**, 7:1, 4. 2015.
- SLOMINSKI, B. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, v. 90, n. 9, p. 20132023, 2011.
- SOARES, J. D. S., ATUI, M. B., MARCIANO, M. A. M., & LORINI, I. *Análise microscópica do amido extraído de milho (Zea mays) convencional e transgênico*. Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2017.
- STANLEY D, HUGHES RJ, MOORE RJ. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. **Appl Microbiol Biotechnol**. 98:4301–10. 2014.
- STANLEY D, GEIER MS, CHEN H, et al. Comparison of fecal and cecal microbiotas reveals qualitative similarities but quantitative differences. **BMC Microbiol** 15:51. 2015.
- TAVERNARI, F.C.; CARVALHO, T.A.; ASSIS, A.P.; LIMA, H.J. Polissacarídeos não-amiláceos solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista eletrônica Nutritime**, v.5, n° 5, p. 673-689, setembro/outubro, 2008.
- TOROK, V. A., R. J. HUGHES, L. L. MIKKELSEN, R. PEREZ-MALDONADO, K. BALDING, R. MACALPINE, N. J. PERCY, A. N., K. OPHEL-KELLER. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. **Appl. Environ. Microbiol**. 77:5868–5878. 2011.
- VAN SOESTE, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2th ed. New York: Cornell University Press, 1994.
- VIDENSKA P, RAHMAN MM, FALDYNNOVA M, et al. Characterization of egg laying hen and broiler fecal microbiota in poultry farms in Croatia, Czech Republic, Hungary and Slovenia. **PloS One**. 9:e110076. 2014.

- WILLIAMS, M. P., MASEY, O. H. V., YORK, T., LEE, J. T. Effects of nutrient variability in corn and xylanase inclusion on broiler performance, nutrient utilisation, and volatile fatty acid profile. **Journal of Applied Animal Nutrition**. 6:1-10. 2018.
- WITZIG, M., CAMARINHA-SILVA, A., GREEN-ENGERT, R., HOELZLE, K., ZELLER, E., SEIFERT, T., et al. Correction: Spatial variation of the gut microbiota in broiler chickens as affected by dietary available phosphorus and assessed by T-RFLP analysis and 454 pyrosequencing, PLOS one 10(2): e 0145588. 2015.
- YEGANI, M., KORVER, D. R. Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chicken. *Poultry Science* 92:1208–1220, 2013.
- YIN Y, LEI F, ZHU L, et al. Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. *ISME J* 4: 367–76. 2010.
- YIN, D., X. YIN, X. WANG, Z. LEI, M. WANG, Y. GUO, S. E. AGGREY, W. NIE, YUAN J. Supplementation of amylase combined with glucoamylase or protease changes intestinal microbiota diversity and benefits for broilers fed a diet of newly harvested corn. **J. Anim. Sci. Biotechnol.** 9:24, 2018.
- ZARGHI H. Application of Xylanas and β -Glucanase to Improve Nutrient Utilization in Poultry Fed Cereal Base Diets: Use of Enzymes in Poultry Diet. **Insights Enzym Res.** Vol. 2 No. 1: 11. 2018.
- ZHANG, Y., W. P. LAI, P. C. LEUNG, C. F. WU, X. S. YAO, AND M. S. WONG. Effects of Fructus Ligustri Lucidi extract on bone turnover and calcium balance in ovariectomized rats. **Biol. Pharm. Bull.** 29:291–296. 2006.
- ZOU, J. et al. Effects of exogenous enzymes and dietary energy on performance and digestive physiology of broilers. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, p. 1–9, 2013.

(Artigo nas normas da Revista Poultry Science)

3. COMPOSIÇÃO E DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO. A variação nos componentes nutricionais do milho pode afetar a lucratividade na produção de frangos, uma vez que o milho constitui aproximadamente 65% da ração. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química, o conteúdo de polissacarídeos não amiláceos (PNA's), amido retrógrado, análise da morfologia do amido e os valores de energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMA_n) e os coeficientes metabolizáveis aparente e corrigido (CEMA e CEMA_n) de três híbridos de milho submetidos a diferentes temperaturas de secagem para frangos de corte. Os valores energéticos foram determinados pelo método tradicional de coleta total de excreta, utilizando frangos de corte de 11 a 21 dias de idade, alocados em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (três híbridos de milho e duas temperaturas de secagem - 80 e 110 ° C), totalizando seis tratamentos, com sete repetições e quatro aves por unidade experimental. Os resultados foram submetidos à análise de variância e os efeitos individuais e a interação entre os fatores (híbrido e temperatura) foram analisados; quando significativas, as interações foram desdobradas. Os valores médios encontrados para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, fibra bruta, amido e amilose para os grãos secos a 80°C foram de 870; 79,3; 40,1; 10,9; 20; 642; e 228 g⁻¹ e para 110°C de 884; 78, 5; 40,5; 10,7; 20,4; 643; e 233 g⁻¹, respectivamente. De maneira geral, os grãos secos a 110°C apresentaram maior conteúdo de amilose e amido resistente, maior teor de nitrogênio ligado à fibra, com redução no conteúdo de PNA's solúveis em relação

27 aos totais e redução no tamanho do grão de amido. Houve interação ($P < 0,05$) entre
 28 os fatores avaliados para os valores de AME e AME_n . De acordo com o
 29 desdobramento da interação, os valores de AME e AME_n foram superiores ($P > 0,05$)
 30 para o híbrido 1 na temperatura de secagem de 80°C. Para os fatores isolados,
 31 independentemente da temperatura de secagem, o híbrido 3 apresentou maiores
 32 CEMA e $CEMA_n$, valores de 83,10 e 81,98%, respectivamente. A temperatura de
 33 secagem proporcionou variação na composição química do grão de milho. O grão
 34 exposto à secagem a 110°C apresentou aumento nos teores de amilose e amido
 35 resistente, redução na relação de PNA's solúveis em relação ao total e aumento do
 36 nitrogênio ligado à fibra. No entanto, de maneira geral, essas modificações
 37 estruturais não foram capazes de proporcionar diferenças nos valores de energia,
 38 apresentando, em média, valores de 3351 e 3306 kcal.kg⁻¹ para EMA e EMA_n ,
 39 respectivamente, e de 81,62 e 80,53% para CEMA e $CEMA_n$, respectivamente.
 40 **Palavras-chave:** Amido, energia metabolizável aparente, polissacarídeos não
 41 amiláceos, pós-colheita, composição química.

42

43 **3. COMPOSITION AND AVAILABILITY OF MAIZE HYBRID NUTRIENTS** 44 **SUBMITTED TO DIFFERENT DRYING TEMPERATURES FOR** 45 **CHICKENS**

46 **ABSTRACT.** The variation in the nutritional components of corn can affect
 47 profitability in chicken production, since corn constitutes approximately 65% of the
 48 feed. The objective of this work was to determine the chemical composition, the
 49 content of non-starch polysaccharides (NSP's), retrograde starch, analysis of the
 50 starch morphology and the values of apparent metabolizable energy (AME), AME
 51 corrected for the nitrogen balance (AME_n) and the apparent and corrected
 52 metabolizable coefficients (CAME and $CAME_n$) of three corn hybrids submitted to

different drying temperatures for broilers. The energy values were determined by the traditional method of total excreta collection, using broilers from 11 to 21 days of age, allocated in a completely randomized design, in a factorial scheme (three corn hybrids and two drying temperatures - 80 and 110 ° C), totaling six treatments, with seven replications and four birds per experimental unit. The results were subjected to analysis of variance and the individual effects and the interaction between the factors (hybrid and temperature) were analyzed; when significant, the interactions were unfolded. The average values found for dry matter, crude protein, ether extract, mineral matter, crude fiber, starch and amylose for dry grains at 80 ° C were 870, 79, 40, 11, 20, 642, 228 grams and for 110 ° C of 884, 78, 40, 10, 14, 643, 233, respectively. In general, the dried grains at 110 ° C showed a higher content of amylose and resistant starch, a higher content of nitrogen bound to fiber, with a reduction in the content of soluble NSP's in relation to the totals and a reduction in the size of the starch grain. There was an interaction ($P < 0.05$) between the factors evaluated for the AME and AME_n values. The energy values within each drying temperature did not show interference from the hybrids ($P > 0.05$). However, when evaluating the drying temperatures within each hybrid, the values of AME and AME_n were higher ($P < 0.05$) for hybrid 1 at the drying temperature of 80 ° C. For the isolated factors, regardless of the drying temperature, hybrid 3 showed higher CAME and CAME_n, values of 83.10 and 81.98%, respectively. The drying temperature provided variation in the chemical composition of the corn grain. The grain exposed to drying at 110 ° C showed an increase in the levels of amylose and resistant starch, a reduction in the ratio of soluble NSP's in relation to the total and an increase in nitrogen bound to fiber. However, in general, these structural changes were not able to provide differences in energy values, presenting, on average, values of 3351 and

78 3306 kcal.kg⁻¹ for AME and AME_n, respectively, and 81.62 and 80.53 % for CAME
79 and CAME_n, respectively.

80 **Keywords:** Starch, apparent metabolizable energy, non-starch polysaccharides, post-
81 harvest, chemical composition.

82

83 3.1. INTRODUÇÃO

84

85 As rações para frangos de corte são formuladas a base de milho e farelo de
86 soja, compondo as fontes primárias de energia e proteína, respectivamente (Williams
87 et al., 2015). Segundo Lasek et al. (2012) o valor da energia metabolizável aparente
88 corrigida para o balanço de nitrogênio (EMA_n) do milho para frangos de corte é mais
89 alto que outros cereais, devido ao seu alto teor de amido (620 a 720 g.kg⁻¹) e gordura
90 bruta (34 a 52 g.kg⁻¹).

91 O amido é a maior fonte de energia da dieta (Liu e Salle, 2015) e juntamente
92 com a proteína constituem importantes macronutrientes na dieta de aves sendo sua
93 eficiência de utilização considerada crítica para a produção sustentável. Além destes
94 macronutrientes, é possível encontrar componentes considerados fatores
95 antinutricionais, como os polissacarídeos não amiláceos (PNA's). Estes compostos,
96 presentes no milho em um total de 6,83% (Rostagno et al., 2017), dificultam a
97 digestão e a absorção de nutrientes (Slominski, 2011). Neste contexto, o valor
98 energético do milho pode variar em função do nível de amilose no amido, da razão
99 amilose:amilopectina, do encapsulamento do amido e da presença de diferentes
100 antinutrientes, principalmente fitato, inibidores de tripsina e amido resistente
101 (Cowieson, 2005).

102

103 Além dos fatores inerentes à genética, adubação e condições climáticas os
104 processos realizados pós-colheita podem também afetar a composição química dos
105 grãos de milho com consequente influência sobre o aproveitamento dos nutrientes
106 pelos animais (Prasanthi et al., 2017). Dentre os processos de pós-colheita, a
107 secagem do grão do milho se faz necessária para garantir a qualidade nutricional do
108 ingrediente ao longo do armazenamento. No entanto, considerando que os grãos de
109 milho são produzidos em larga escala a indústria, visando agilidade no processo, por
110 muitas vezes utiliza temperaturas de secagem acima de 100°C.

111 Os efeitos adversos relacionados à utilização de altas temperaturas de secagem
112 do grão de milho podem estar associados a modificação estrutural dos componentes,
113 principalmente do amido, reduzindo a eficiência das enzimas digestivas, resultando
114 em taxas de liberação e perfis de sacarídeos diferenciados (Odjo et al., 2017). No
115 entanto, o impacto destas modificações sobre a disponibilização dos nutrientes para
116 os animais ainda não está completamente elucidado.

117 Em decorrência da importância que o milho ocupa em termos econômicos e
118 produtivos, nós hipotetizamos que a temperatura de secagem utilizada pode interferir
119 na qualidade dos grãos e na utilização dos nutrientes pelos frangos de corte.
120 Considerando os assuntos abordados, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da
121 temperatura de secagem sobre a composição química, energia metabolizável aparente
122 (EMA), aparente corrigida EMA_n e coeficientes metabolizáveis aparentes e
123 corrigidos (CEMA e $CEMA_n$) de diferentes híbridos de milho comumente utilizados
124 pela indústria para o processamento de ração para frangos de corte.

125

126

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio metabólico foi conduzido no centro de pesquisa em avicultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e teve seu protocolo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade, sob protocolo nº 06/19.

Os híbridos de milho utilizados para a condução do experimento, classificados como grão semiduro para o híbrido 1 (30A37 PW – Morgan) e 2 (30A77 PW – Morgan) e semi-dentado para o híbrido 3 (DKB 330 PRO – Dekalb), foram produzidos sob condições de cultivo similar, em uma propriedade localizada na região Oeste do Paraná. Os híbridos foram obtidos em uma única propriedade com o intuito de evitar interferência do solo e condições climáticas sobre as características químicas dos grãos.

Os grãos foram colhidos com teor de água pré-estabelecido de 23%, e em seguida, foram submetidos ao processamento de secagem artificial com as respectivas temperaturas (80 e 110 °C), em secador de fluxo misto. O processo de secagem artificial foi concluído quando o teor de água do grão atingiu 14%, sendo determinado o teor de água ao longo do processo, utilizando determinador de umidade (MOTOMCO 919FOB). O processo de secagem teve duração média de quatro horas para os grãos secos a 110°C e seis horas para os grãos secos a 80°C.

Após o processo de secagem, amostras dos milhos foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal da Cooperativa Agroindustrial Copagril, localizada na cidade de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil, para determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB),

152 fibra bruta (FB), teor de amido e amilose. As análises foram realizadas utilizando
153 técnica de espectrofotometria de refletância no infravermelho proximal (NIRS), em
154 um aparelho espectrômetro modelo FT-NIR TANGO, marca Brucker.

155 O teor de PNA's das amostras de milho foi determinado pelo método de
156 Englyst et al. (1994), em que o amido é completamente disperso e depois hidrolisado
157 enzimaticamente. O PNA é isolado por precipitação em etanol a 80% e depois
158 hidrolisado por ácido sulfúrico, e os açúcares liberados são medidos por
159 cromatografia em fase gasosa como seus derivados de acetato de alditol. A
160 quantidade de PNA solúvel foi obtida como uma diferença entre o PNA total e o
161 PNA insolúvel. Os resultados são expressos em gramas de açúcares constituintes por
162 100 g à base de alimentação. Cada amostra foi analisada em duplicada.

163 A digestibilidade in vitro do amido foi analisada pelo procedimento de
164 Englyst (Englyst et al., 1999). Resumidamente, 600 mg de cada amostra de milho, 5
165 mL de solução padrão interna (40 g de arabinose / L) e 10 mL de solução de pepsina-
166 guar preparada na hora (5 g de pepsina / L e 5 g de goma guar / L em 0,05 mol HCl /
167 L) foram adicionados a tubos de centrífuga de polipropileno de 50 mL. Os tubos
168 foram tapados e o conteúdo foi misturado no vórtice e colocado em banho-maria a 37
169 °C por 30 min para permitir a hidrólise das proteínas pela pepsina. Foram
170 adicionados cinco mL de solução tampão de acetato de sódio 0,5 M (a 37 °C, pH 5,2)
171 e cinco esferas de vidro (~ 15 mm de diâmetro) a cada tubo, que foram agitados
172 suavemente e mantidos no banho-maria a 37 °C por 3 min. Foram adicionados cinco
173 mL de mistura enzimática fresca de pancreatina-amiloglucosidase-invertase (18 g, 4
174 mL e 60 µg, respectivamente, por 100 mL de mistura enzimática) a cada tubo, os
175 quais foram tampados, misturados suavemente e colocados horizontalmente no
176 banho-maria. 37 °C, sob agitação. Aliquotas (0,2 mL) foram coletadas em intervalos

177 de 20 e 120 min e misturadas com 4 mL de etanol absoluto e misturado com vórtice
178 para interromper a hidrólise. A quantidade de glicose liberada foi determinada por
179 HPLC. Cada amostra foi analisada em duplicado.

180 Após a coleta da alíquota de 120 pontos no tempo, os tubos foram
181 vigorosamente misturados em vórtice por 1 min, colocados em água fervente por 30
182 min e resfriados em banho de água gelada por 15 min. Dez mL de uma solução de
183 hidróxido de potássio (7 mol / L) foram adicionados aos tubos e colocados
184 horizontalmente em um banho de água gelada e agitados por 30 min. Em seguida,
185 foram adicionados 0,2 mL do conteúdo a 1 mL de ácido acético (1 mol / L) e, por
186 último, foram adicionados 40 µL de solução de amiloglucosidase (diluição 1: 7). Os
187 tubos foram vigorosamente misturados no vórtice e mantidos a 70 °C em banho-
188 maria por 30 minutos, seguidos por 10 minutos em banho-maria em ebulição. Os
189 tubos foram resfriados à temperatura ambiente e, em seguida, foram adicionados 12
190 mL de etanol absoluto para obter a fração total de glicose (TG).

191 Os valores de amido digestível rápido (RDS), amido digestível lento (SDS) e
192 amido resistente (RS) foram obtidos combinando os valores de glicose liberada após
193 20 min (G20), glicose liberada após 120 min (G120), glicose livre (FG) e TG
194 (glicose total). O amido total (TS) foi calculado adicionando os valores de RDS, SDS
195 e RS. A relação SDS / TS e a relação AR / TS também foram obtidas. Os valores
196 para as frações de amido foram expressos como equivalentes de monossacarídeos (g
197 / 100 g de equivalente de monossacarídeo). As seguintes fórmulas foram usadas:

198
$$\text{RDS} = \text{G20} - \text{FG (incluindo glicose de sacarose)}$$

199
$$\text{SDS} = \text{G20} - \text{G120}$$

200
$$\text{RS} = \text{TG} - \text{G120}$$

201 Para avaliação visual do amido, incluindo tamanho e grau de encolhimento,
202 os grãos de milho foram avaliados por microscopia de varredura, onde foram
203 escaneados em um NeoScope, JCM-5000, SEM de mesa, (JEOL Ltd, Tóquio, Japão).
204 Os grãos inteiros foram cortados em seção e posteriormente alocados no microscópio
205 para avaliação com uma ampliação de x1000. As fotos foram utilizadas para
206 comparar a variação na morfologia dos grânulos de amido.

207 Para a determinação dos valores energéticos, 168 frangos de corte, machos,
208 da linhagem Cobb 500[®], com 11 dias de idade, foram distribuídos em um
209 delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 (duas temperaturas
210 de secagem – 80 e 110°C e três híbridos de milho), totalizando seis tratamentos, sete
211 repetições e quatro aves por unidade experimental. As rações testes foram compostas
212 somente com os milhos testados, vitaminas e minerais de forma a atender as
213 exigências desses nutrientes para aves de 11 a 21 dias de idade, considerando as
214 recomendações propostas por Rostagno et al., (2011) (Tabela 1).

215 As aves foram criadas em galpão de alvenaria recebendo ração única a base
216 de milho e farelo de soja até os 10 dias, sendo posteriormente, transferidas para
217 gaiolas metabólicas (50 x 50 cm) providas com bandejas móveis para a coleta das
218 excretas, comedouro individual tipo calha e bebedouro tipo copo. As gaiolas foram
219 alocadas em sala com controle de temperatura realizado por ar condicionado,
220 proporcionando aos animais conforto térmico de acordo com as recomendações para
221 a linhagem.

222 Após cinco dias destinados à adaptação das aves às gaiolas e às dietas, foi
223 realizada a coleta total de excretas por cinco dias consecutivos. As excretas foram
224 coletadas duas vezes ao dia, às 8 e às 17 horas, utilizando bandejas revestidas com
225 material plástico. As excretas coletadas foram pesadas e armazenadas em

embalagens plásticas e mantidas em freezer (-20°C) durante todo o período experimental. Ao término do período experimental foram determinados o consumo de ração e a quantidade total de excretas produzidas em cada unidade experimental.

Posteriormente, as amostras foram descongeladas, pesadas, homogeneizadas e uma amostra representativa de cada repetição foi retirada para as análises laboratoriais. Estas alíquotas passaram por pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Após a pré-secagem, as amostras foram moídas e as análises de matéria seca (MS), energia bruta (EB) e nitrogênio (N) foram realizadas nas excretas e amostras de rações, de acordo com Silva e Queiroz (2009).

A partir dos resultados laboratoriais obtidos, foram determinados, por meio de cálculo (Matterson et al., 1965), os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMA_n), conforme as equações a seguir:

$$\text{EMA da ração teste} \left(\frac{\text{kcal}}{\text{kg}} \text{ MS} \right) = \frac{(\text{EB ing} - \text{EB exc})}{\text{MS ing}}$$

$$\text{EMA da ração teste} \left(\frac{\text{kcal}}{\text{kg}} \text{ MS} \right) = \frac{((\text{EB ing} - \text{EB exc}) - ((8,22 \times \text{BN})))}{\text{MS ing}}$$

Em que:

EB ing = Energia Bruta ingerida

EB exc = Energia Bruta excretada

MS ing = Matéria Seca ingerida

BN = balanço de nitrogênio (N ingerido – N excretado)

Após a determinação dos valores energéticos foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade da energia bruta (CEMA e CEMA_n).

Os resultados obtidos para EMA, EMA_n, CEMA e CEMA_n foram submetidos à análise de variância. Os efeitos individuais e a interação entre os fatores (híbrido e

temperatura) foram analisados e quando significativo às interações foram desdobradas utilizando o procedimento PROC GLM do sistema estatístico SAS®.

252

3.3. RESULTADOS

254

Os valores de composição química analisados para os componentes MS, PB, EE e MM variaram de 867 a 895, 75,3, a 82,0, 39,1 a 41,7 e 10,0 a 11,5, g kg⁻¹, respectivamente (Tabela 2). Avaliando separadamente os híbridos que foram secos à temperatura de 80 e 110°C, observou-se que para todos os componentes a variação entre os híbridos dentro da mesma temperatura aumentou quando utilizado a temperatura mais alta. Os híbridos secos a 110°C apresentaram MS superior aos grãos secos a 80°C. Maiores valores de PB e MM foram observados para o híbrido 3 seco a 80°C e para o componente EE o híbrido 1 seco a 110°C apresentou maior valor. A porcentagem média de amido entre os híbridos secos a 80°C e 110°C foram iguais (64,3%) (Tabela 2).

No entanto, considerando a amilose, componente estrutural do amido, observou-se aumento no teor desta molécula nos grãos submetidos ao processo de secagem com temperatura mais elevada. Assim como para os demais nutrientes, os teores dos componentes fibrosos (FB e FDN) aumentaram nos grãos secos a temperatura de 110°C, sendo que dentre os nutrientes avaliados, a FDN apresentou o maior incremento (14,0%) comparando os valores obtidos para os três híbridos para cada temperatura de secagem. Em adição, o processamento térmico a 110°C proporcionou aumento do teor de nitrogênio complexado a molécula de FDN (N-FDN) (Tabela 2).

De acordo com a análise detalhada dos açúcares constituintes dos híbridos de milho o conteúdo médio de PNA's solúveis e insolúveis foi de 0,72 g/100g e 6,27

276 g/100g para os grãos secos a 80°C e de 0,30 g/100g e 6,05 g/100g para os grãos
277 secos a 110°C, respectivamente. De maneira geral, o conteúdo total de PNA's
278 solúveis e insolúveis reduziu ao utilizar a temperatura de secagem mais elevada,
279 sendo observada influência mais pronunciada para os PNA's solúveis, reduzindo seu
280 conteúdo total em 58,3%. A distribuição dos açúcares constituintes,
281 independentemente do híbrido e temperatura de secagem, foi na ordem de xilose >
282 arabinose > glicose > galactose > manose (Tabela 3).

283 Os valores médios obtidos para o milho em grão para o amido rapidamente
284 digestível, lentamente digestível e o total de amido disponível foram de 13,3 g/100g,
285 39,2 g/100g e 52,4 g/100g, respectivamente. O processo de moagem disponibilizou
286 maior quantidade de amido total (66,6 g/100g) e amido rapidamente digestível (26,1
287 g/100g), apresentando valor semelhante (40,5 g/100g) ao milho grão para o amido
288 lentamente digestível. Avaliando os grãos inteiros e moídos separadamente
289 observou-se que a temperatura de secagem não proporcionou alteração para os
290 componentes acima citados. A temperatura de secagem aumentou em 8,4% o teor de
291 amido resistente para os grãos inteiros apresentando valor médio de 20,6 g/100g. No
292 entanto, esta interferência não foi observada quando analisado o grão moído, sendo
293 que a relação entre o amido resistente e o amido total reduziu em 69,2% quando
294 realizado o processo de moagem (28,2 g/100g vs 8,7 g/100g) (Tabela 4).

295 De acordo com a microscopia eletrônica de varredura dos grãos observou-se
296 variação na morfologia dos grânulos de amido. Os grânulos reduziram visualmente
297 de tamanho como resultado da secagem artificial dos grãos, principalmente para o
298 híbrido 1 e 2. Desta forma, o grau de encolhimento dos grânulos foi aumentado
299 quando da utilização da temperatura de secagem mais elevada (110°C) (Figura 1).

300 A análise de variância mostrou interação ($P < 0,05$) entre os fatores híbrido de
301 milho e temperatura de secagem para os valores de EMA e EMA_n. De acordo com o
302 desdobramento dos dados, avaliando os valores de energia dentro de cada
303 temperatura de secagem, não foi observada influência ($P > 0,05$) dos híbridos nos
304 valores energéticos. Entretanto, quando avaliado as diferentes temperaturas de
305 secagem dentro de cada híbrido, os valores de EMA e EMA_n foram superiores
306 ($P < 0,05$) para o híbrido 1 na temperatura de secagem de 80°C, disponibilizando em
307 média 2% a mais de energia. Considerando os fatores isolados, as aves que
308 receberam rações contendo o híbrido do milho 3, independentemente da temperatura
309 de secagem, apresentaram maiores ($P < 0,05$) coeficientes de metabolizabilidade
310 (CEMA e CEMA_n), valores estes de 83,10% e 81,98%, respectivamente (Tabela 5).

311

312 3.4. DISCUSSÃO

313

314 Apesar dos híbridos terem sido cultivados em condições semelhantes de clima,
315 adubação e espaçamento, foram encontradas diferenças quanto a composição
316 química, comparada aos dados encontrados na Tabela Brasileira de Composição de
317 Alimentos (Rostagno et al., 2017). Os valores encontrados para extrato etéreo e fibra
318 bruta foram superiores aos tabelados, podendo estar relacionado à própria variação
319 genética e a condição de secagem (Masey et al., 2012). Em contraste, Mazzuco et al.
320 (2002) e Carvalho et al. (2004) avaliando grãos de milho de um único híbrido
321 submetidos à temperatura de secagem variando de 30°C a 100°C, com diferentes
322 umidades dos grãos (14,3% até 35%), encontraram valores de composição química
323 dentro dos padrões tabelados.

324 As diferenças encontradas na composição química dos grãos podem influenciar
325 diretamente nos valores de energia metabolizável. Malumba et al. (2014) e Gehring

et al. (2012; 2013) observaram que grãos de milho submetidos a diferentes tratamentos térmicos apresentaram composição proximal semelhante, no entanto, o aproveitamento dos nutrientes pelos animais foi alterado.

De fato, a estrutura química do grão do milho pode ser alterada após a secagem artificial o que pode afetar seu valor nutritivo (Bhuiyan et al., 2010). Neste trabalho, há evidências de que a temperatura de 110°C influenciou a composição do amido, aumentando o conteúdo de amilose bem como o teor de amido resistente, e promoveu variação na morfologia dos grânulos de amido, os grânulos reduziram visualmente de tamanho.

O amido é composto por dois componentes principais, a amilose e a amilopectina, que podem ser dispersos em água por aquecimento acima da temperatura de gelatinização. Após o resfriamento, as moléculas dispersas de amilose e amilopectina se reassociam espontaneamente e podem formar cristais que resistem à hidrólise enzimática, dando origem ao amido resistente (Rincón-Londoño et al., 2016). Os amidos com maior teor de amilose apresentam maiores taxas de retrogradação (Singh et al., 2006).

O conteúdo encontrado de amilose neste trabalho, variou de 21,6 a 24,34%, com maior porcentagem nos grãos que foram secos na temperatura mais elevada (110°C) para os híbridos 1 e 2. Rincón-Londoño et al. (2016) observaram que o aumento na porcentagem de amilose culminou com um aumento do amido resistente. Efeito semelhante foi observado tanto para o híbrido 1 como para o híbrido 2, com aumento de 11 e 32% para o amido resistente, respectivamente. Para o híbrido 3 não foi observado o mesmo comportamento, havendo redução em 10% no conteúdo de amido resistente no grão de milho quando seco a 110°C. De maneira geral, a temperatura de secagem não influenciou os valores de amido lentamente ou

351 rapidamente digestível. No entanto, foi responsável por um aumento no teor de
352 amido resistente.

353 Uma temperatura de secagem mais elevada (105°C) ao longo de um período
354 prolongado favorece o aumento do teor de amido resistente e o conteúdo de amilose
355 (Bhuyan et al., 2012). Segundo estes autores, o conteúdo de amilose aumentou
356 enquanto o teor de amilopectina diminuiu com o aumento da temperatura e do
357 período de aquecimento. Iji et al. (2003) observaram um aumento do teor de amido
358 resistente devido ao tratamento térmico de grãos de milho a 100°C .

359 A retrogradação pode ocorrer com grânulos de amido do milho seco a altas
360 temperaturas, onde a temperatura de gelatinização é excedida, pois ocorre uma
361 reorganização física dos grânulos de amido. O amido retrogradado, como resultado, é
362 menos digestível (Gehring et al., 2013). Alterações na estrutura dos grânulos de
363 amido representam desafios adicionais em termos de digestão de nutrientes em aves,
364 podendo levar a um desempenho zootécnico inferior.

365 Embora o milho seja um ingrediente de alta digestibilidade para aves, a
366 presença de amido resistente pode limitar o seu valor energético. Um dos fatores
367 predisponentes a isso seria a temperatura de secagem superior a 80°C, podendo haver
368 uma mudança nas propriedades físico-químicas dos grãos de milho acima desta
369 temperatura, causando distúrbios relacionados à desnaturação térmica de proteínas
370 (Malumba et al., 2008).

371 Para o híbrido 2 e 3, o teor de N ligado a FDN aumentou com o aumento da
372 temperatura de secagem. Ao multiplicarmos o N por 6,25 para chegarmos ao valor
373 equivalente de proteína, encontramos um aumento de 35% da proteína associada a
374 FDN quando estes híbridos foram expostos a alta temperatura de secagem. O
375 aumento da proteína complexada à parede celular na forma de nitrogênio insolúvel

376 em detergente neutro (N-FDN) pode afetar sua digestibilidade, devido a maior
377 dificuldade de dissociação, solubilização e consequentemente absorção destes
378 carboidratos associados (Bringel et al., 2011).

379 Segundo Scott et al. (2016) o teor de fibra da dieta bem como sua composição
380 possuem grande influência na energia metabolizável. Os PNA's presentes na fibra de
381 alguns grãos têm, no trato gastrointestinal, três efeitos negativos sobre o valor
382 energético da dieta: encapsulam os nutrientes que se encontram no interior das
383 células e impedem o acesso das enzimas endógenas; provocam gelatinização que
384 dificulta a digestão, reduzindo a absorção dos nutrientes; e causam aumento da
385 viscosidade do bolo alimentar o que diminui o trânsito da digesta exercendo
386 impactos negativos no consumo de ração (Cowieson, 2010).

387 A solubilidade dos PNA's é uma medida importante das características físico-
388 químicas e das propriedades nutricionais dos ingredientes. Refere-se à solubilidade
389 em água e é determinada pelas propriedades físicas do polissacarídeo, como peso
390 molecular, distribuição e estrutura. A maioria dos PNA's presentes nos ingredientes
391 da ração é insolúvel e, portanto, não apresentam um alto grau de viscosidade. Os
392 PNA's solúveis possuem grande capacidade de absorver água e formar um gel
393 viscoso no trato intestinal, dificultando a absorção de nutrientes pela mucosa
394 intestinal (Choct, 2015). A exposição dos grãos de milho a temperatura de secagem
395 de 110°C neste trabalho alterou a quantidade de PNA's solúveis e insolúveis em
396 relação aos totais, com redução na concentração de PNA's solúveis.

397 Comparado com outros cereais, o grão de milho contém menos fibra bruta e
398 PNA's. Os arabinoxilanos e os β -glucanos encontrados na fibra alimentar de alguns
399 cereais absorvem a água para formar hidrogéis, o que aumenta a viscosidade da

400 digesta do intestino delgado. Isso pode reduzir a atividade das enzimas digestivas e
401 consequentemente da absorção de nutrientes (Lasek et al., 2012).

402 Apesar das modificações químicas observadas entre os diferentes híbridos e da
403 influência da temperatura de secagem sobre a composição química somente foi
404 observado interferência pontual para o híbrido 1. Para este híbrido foi observado
405 valores menores de energia quando o grão foi seco em alta temperatura, redução de
406 73 kcal / kg, ou seja, 2,21% a menos no valor de EMA.

407 Hathaway et al. (1952) relataram que o valor nutritivo do milho já é reduzido
408 com temperaturas acima de 60°C. Carvalho et al. (2009) determinaram que a EMA_n
409 do milho seco à temperatura ambiente, bem como a 80, 100 e 120°C em frangos de
410 corte de 21 a 30 dias de idade diminuiu com o aumento da temperatura. Segundo os
411 autores, é possível que a gelatinização do amido tenha iniciado e, simultaneamente,
412 pode ter ocorrido interação entre um aldeído (açúcar redutor) e aminoácidos livres da
413 proteína, como lisina (possui grupo amino épsilon livre) ou arginina (possui átomo
414 de nitrogênio básico na cadeia lateral) principalmente, caracterizando a reação de
415 Maillard e, consequentemente, com redução dos valores de energia metabolizável.

416 Kaczmarek et al. (2007) e Carvalho et al. (2009) encontraram interferência
417 sobre os resultados de desempenho, quando da utilização de grãos de milho secos em
418 temperaturas elevadas, indicando que as modificações estruturais podem ocasionar
419 queda de desempenho, o que segundo os autores pode ser resultado da redução na
420 utilização dos nutrientes. Neste trabalho, tanto o híbrido 2 como o 3 apesar de
421 apresentarem modificações estruturais, podem não proporcionar interferência no
422 desempenho de frangos de corte, considerando que não apresentaram diferença na
423 digestibilidade. Os valores de EMA em todos os tratamentos obtidos neste trabalho,
424 foram superiores aos valores de EMA_n, com média de 3351 e 3306 kcal/kg,

respectivamente, independentemente do híbrido e temperatura utilizada na secagem. Isto ocorreu porque houve balanço positivo de nitrogênio nas aves, caracterizado pela retenção de nitrogênio do alimento. Segundo Nery et al. (2007) quando os valores de energia metabolizável são determinados com aves em crescimento, ocorre maior retenção de nitrogênio em função da deposição de tecido proteico no organismo da ave. Quando o balanço de nitrogênio é positivo os valores de EMA são superiores aos valores de EMA_n, indicando a retenção de nitrogênio, quando o balanço de nitrogênio é negativo, os valores de EMA são inferiores aos valores de EMA_n, indicando degradação do tecido muscular.

434

3.5. CONCLUSÃO

436

A temperatura de secagem proporcionou variação na composição química do grão de milho. O grão exposto à secagem a 110°C apresentou aumento nos teores de amilose e amido resistente, redução na relação de PNA's solúveis em relação ao total e aumento do nitrogênio ligado à fibra. No entanto, de maneira geral, essas modificações estruturais não proporcionaram diferenças nos valores de energia, apresentando, em média, valores de 3351 e 3306 kcal.kg⁻¹ para EMA e EMA_n, respectivamente, e de 81,62 e 80,53% para CEMA e CEMA_n, respectivamente.

444

3.6. REFERÊNCIAS

446

Bhuiyan, M., Islam, A., Iji, P. 2010. Variation in nutrient composition and structure of high-moisture maize dried at different temperatures. Afr J Anim Sci, 40:3.

- 450 Bhuiyan, M., Islam, A., Cowieson, A.J., Iji, P. 2012. Effect of source and processing
451 on maize grain quality and nutritional value for broiler chickens1. Heat
452 treatment and physicochemical properties. Asian J. Poult. Sci. 6:101-116.
- 453 Bringel, L.M.L.; Neiva, J.N.M.; Araújo, V.L. 2011. Consumo, digestibilidade e
454 balanço de nitrogênio em borregos alimentados com torta de dendê em
455 substituição à silagem de capim-elefante. R. Bras. Zootec. 40:1975-1983.
- 456 Carvalho, D.C.O; Albino, L.F.T.; Rostagno, H.S. 2004. Composição química e
457 energética de amostras de milho submetidas a diferentes temperaturas de
458 secagem e períodos de armazenamento. R. Bras. Zootec. 33:358-364.
- 459 Carvalho, D. C. O.; Albino, L. F. T.; Vargas, J. G. J.; Toledo, R. S.; Oliveira, J. E.;
460 Souza, R. M. 2009. Coeficiente de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos
461 e valores de aminoácidos digestíveis do milho submetido a diferentes
462 temperaturas de secagem e períodos de armazenamento. R. Bras.
463 Zootec.38:850-856.
- 464 Choct, M. 2015. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals:
465 classification and function. Anim. Prod. Sci., 55:1360.
- 466 Cowieson, A.J.; Adeola, O. Carbohydrases. 2005. Protease and phytase have an
467 additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks.
468 Poult. Sci. 84:1860-1867.
- 469 Cowieson, A J. 2010. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/ soy-based
470 poultry diets. Jap. Poult Sci. 47:1–7.
- 471 Englyst, H.N., Quigley, E., Hudson, J. 1994. Determination of dietary fiber as non-
472 starch polysaccharides with gas-liquid chromatographic, high performance
473 liquid chromatographic or spectrophotometric measurement of constituent
474 sugars. Analyst 119: 1497–1509.
- 475 Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., & Cummings, J. H. (1999).
476 Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the
477 glycemic response. The American journal of clinical nutrition, 69(3), 448-454.
- 478 Gehring C.K., Bedford M. R., Cowieson A. J., and Dozier W. A. 2012. Effects of
479 corn source on the relationship between in vitro assays and ileal nutrient
480 digestibility. Poult. Sci. 91:1908–1914.
- 481 Gehring C.K., Bedford M. R., Cowieson A. J., and Dozier W. A. 2013. Identifying
482 variation in the nutritional value of corn based on chemical kernel
483 characteristics. World's Poult. Sci. 69.

- 484 Hathaway I.L., Yung F.D., Kiesselbach T.A., 1952. The effect of drying temperature
485 upon the nutritive value and commercial grade of corn. *J. Anim. Sci.*, 11:430-
486 440.
- 487 Iji PA, Khumalo K, Slippers S, Gous RM. 2003. Intestinal function and body growth
488 of broiler chickens on diets based on maize dried at different temperatures and
489 supplemented with a microbial enzyme. *Repr Nutr Develp* 43:77–90.
- 490 Kaczmarek S., Józefiak D., Bochenek M., Rutkowski A. 2007. The effect of drying
491 temperature of maize grain on nutrient digestibility and nitrogen retention by
492 growing broiler chickens. In: *Proceedings of XIX International Poultry*
493 *Symposium PB WPSA, Olsztyn (Poland)*. 93.
- 494 Knudsen. K. E. B. 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation
495 in common crops used in broiler diets. *Poult. Sci.* 93 :2380–2393.
- 496 Lasek, O, Barteczko, J., Borowiec, F., Smulikowska, S., Augustyn, R. 2012. The
497 nutritive value of maize cultivars for broiler chickens. *J. Anim. Feed Sci.* 21:
498 345–360.
- 499 Liu, S. Y., Selle, P. H. A consideration of starch and protein digestive dynamics in
500 chicken-meat productio. 2015. *World's Poult. Sci.J.* Vol. 71.
- 501 Malumba, P, B., Vanderghema, C., Deroannea, C., Béraa. F., Gembloux, A. 2008.
502 Influence of drying temperature on the solubility, the purity of isolates and the
503 electrophoretic patterns of corn proteins. *Food Chem.* 111:564–572.
- 504 Malumba, P., Odjo, S., Boudry, C., Danthine, S., Bindelle, J., Beckers, Y., & Béra,
505 F. 2014. Physicochemical characterization and in vitro assessment of the
506 nutritive value of starch yield from corn dried at different temperatures. *Starch*
507 *- Stärke*, 66:7-8.
- 508 Matterson, L.S.; Potter, L.M.; Stutz, M.W. et al. 1965. The metabolizable energy of
509 feed ingredients for chickens. Storrs: University of Connecticut, Agricultural
510 Experiment Station Research Report, 11:11.
- 511 Masey O'Neill HV, Lui N, Wang JP, Diallo A, Hill S. 2012. Effect of xylanase on
512 performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets
513 containing one maize variety harvested in different regions of China. *Asian-*
514 *Aust J Anim Sci.* 25:515–523.
- 515 Mazzuco, H. et al. 2002. Composição química e energética do milho com diversos
516 níveis de umidade na colheita e diferentes temperaturas de secagem para
517 frangos de corte. *Rev Bras de Zootec.* 31:2216-2220.

518

519 Nery LR, Albino LFT, Rostagno HS, Campos AMA, Silva CR. 2007. Valores de
520 energia metabolizável de alimentos determinados com frangos de corte. Rev
521 Bras. Zootec. 35:1354-1358.

522 Odjo S. et al. 2012. Influence of drying and hydrothermal treatment of corn on the
523 denaturation of salt-soluble proteins and color parameters. J. Food Eng.
524 109:561-570.

525 Odjo, S., Huart, F., Béra, F., Jacquet, N., Richel, A., Blecker, C., Malumba, P. 2017.
526 Influence of corn variety, drying temperature, and moisture content at harvest
527 on the saccharides released during an in vitro pepsin-pancreatin digestion.
528 Starch/Stärke. 69:1-5.

529 Prasanthi, P. S., Naveena, N., Vishnuvardhana, R., Bhaskarachary, K. 2017.
530 Compositional variability of nutrientes and phytochemicals in corn after
531 processing. J Food Sci Technol. 54(5):1080-1090.

532 Rincón-Londoño, N., Millan-Malo, B., & Rodríguez-García, M. E. 2016. Analysis of
533 thermal pasting profile in corn starch rich in amylose and amylopectin:
534 Physicochemical transformations, part II. International Journal of Biological
535 Macromolecules, 89, 43–53.

536 Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hanas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura. N. K.,
537 Perazzo, F. G., Sairaiva, A., Abreu, M. L. T., Rodrigues, P.B., Oliveira, R.,
538 Barreto, S. L. T., Brito, C. O. 2017. Composição de alimentos e exigências
539 nutricionais (4 ed.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

540 Silva, D. J., Queiroz, A. C. 2009. Análise de Alimentos. Métodos químicos e
541 biológicos. 3: 235.

542 Singh, J., McCarthy, O. J., & Singh, H. 2006. Morphological characteristics of New
543 Zealand Taewa (Maori potato) starches. Carbohydr Poly, 64:569–581.

544 Singh, N., Singh, S., Shevkani, k. 2011. Maize: Composition, Bioactive Constituents,
545 and Unleavened Bread. Copyright (Elsevier Inc. All rights reserved. DOI:
546 10.1016/B978-0-12-380886-8.10009-1

547 Slominski, B. 2011. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. Poult.
548 Sci. 90:2013-2023.

549 Williams, M. P. et al. 2014. Evaluation of xylanase in low-energy broiler diets.
550 J.Appl.Poult.Res. 23:188–195.

551

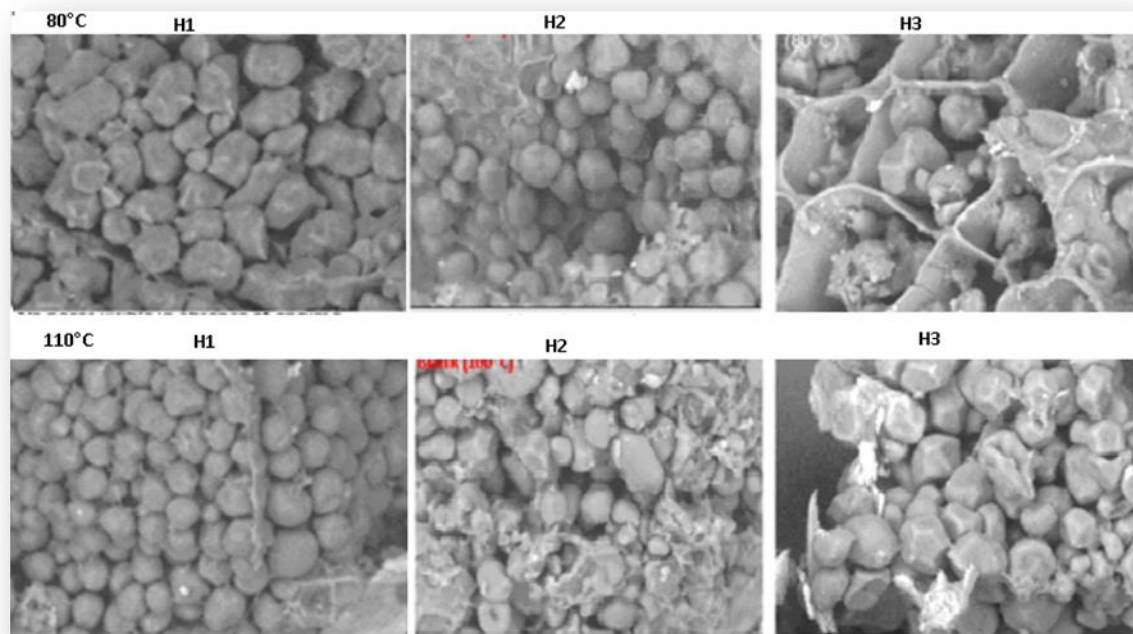


Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura (x1000) de grãos de milho secos a 80°C (superior) e a 110°C (inferior), ordenados por híbridos (H1, H2 e H3).

557 Tabela 1. Composição da ração utilizada no ensaio de digestibilidade (11 a 21 dias de
558 idade) (g.kg⁻¹).

Ingredientes (%)	
Milho	955
Calcário	11,8
Fosfato monobásico	17,0
NaCl	2,09
Cloreto de potássio	7,73
Bicarbonato de sódio	4,00
Suplemento vitamínico ¹	1,50
Suplemento mineral ²	0,50
Total	
Cálcio (%)	0,819
Fósforo disponível (%)	0,391
Cloro (%)	0,321
Sódio (%)	0,210
Potássio (%)	0,580

559 ¹Suplemento Vitamínico para aves, Níveis de Garantia por Quilograma ração: Vit. A (min)
560 9000000,00 UI, Vit. D3 (min) 2500000,00 UI, Vit. E (min) 20000,00 UI, Vit. K3 (min) 2500,00 mg,
561 Vit. B1 (min) 1500,00 mg, Vit. B2(min) 6000,00 mg, Vit. B6(min) 3000,00 mg, Vit. B12 (min)
562 12000,000 mg. Ácido Pantotênico (min) 12 g, Niacina (min) 25g, Ácido Fólico(min) 800,00 mg,
563 Biotina (min) 60,0 mg, Selênio(min) 250,0 mg. 2Suplemento Mineral para aves (Lote BR00013863),
564 Níveis de Garantia por Quilograma do ração: Cobre (min) 20g, Ferro (min) 100g, Manganês (min)
565 160g, Cobalto (min) 2000,0 mg, Iodo (min) 2000,0 mg, Zinco (min) 100g.

566 Tabela 2. Composição química dos diferentes híbridos de milho secados em duas diferentes temperaturas (gramas.kg⁻¹)

	MS	PB	EE	Cinzas	FB	Amido	Amilose	FDN	N-FDN
Híbrido 1 / 80°C	867	77,7	39,8	11,2	19,8	63,9	237	114	1,30
Híbrido 2 / 80°C	873	78,3	40,6	10,0	20,7	64,8	228	117	1,00
Híbrido 3 / 80°C	870	82,0	40,0	11,5	19,5	64,0	220	113	1,30
Híbrido 1 / 110°C	882	75,3	41,7	11,1	20,3	64,0	240	115	1,20
Híbrido 2 / 110°C	895	80,3	40,8	10,4	20,4	65,7	243	120	1,60
Híbrido 3 / 110°C	875	80,0	39,1	10,5	20,5	63,3	216	102	1,50

567 MS, Matéria seca; PB, Proteína bruta; EE, Extrato etéreo; FDN, Fibra em detergente neutro; N-FDN, Nitrogênio complexado a FDN.

568 Tabela 3. Açúcares constituintes dos diferentes híbridos de milho secados em duas diferentes temperaturas.

		Açúcares Constituintes (g/100 g)									Total	
		RHA	FUC	ARA	XYL	MAN	GAL	GLU	GLcA	GalA	g/100g	SD
Híbrido 1 / 80°C	NSP Solúvel	0,10	0,00	0,20	0,25	0,10	0,10	0,15	0,10	0,00	0,90	0,60
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,60	2,30	0,10	0,35	1,25	1,00	0,00	6,50	0,60
	NSP Total	0,10	0,00	1,75	2,55	0,20	0,40	1,45	1,10	0,00	7,40	0,15
Híbrido 2 / 80°C	NSP Solúvel	0,00	0,00	0,10	0,10	0,10	0,05	0,25	0,00	0,05	0,60	0,20
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,60	2,25	0,05	0,60	1,95	0,00	0,00	6,40	0,20
	NSP Total	0,00	0,00	1,70	2,35	0,15	0,60	2,15	0,00	0,05	7,00	0,15
Híbrido 3 / 80°C	NSP Solúvel	0,00	0,00	0,15	0,15	0,00	0,10	0,25	0,00	0,00	0,65	0,55
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,45	2,00	0,10	0,50	1,85	0,00	0,00	5,90	0,55
	NSP Total	0,00	0,00	1,60	2,20	0,10	0,60	2,10	0,00	0,00	6,55	0,25
Híbrido 1 / 110°C	NSP Solúvel	0,00	0,00	0,05	0,10	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,35	0,15
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,65	2,35	0,10	0,50	1,90	0,00	0,00	6,50	0,15
	NSP Total	0,00	0,00	1,75	2,45	0,15	0,55	2,00	0,00	0,00	6,85	0,35
Híbrido 2 / 110°C	NSP Solúvel	0,00	0,00	0,05	0,05	0,05	0,05	0,10	0,00	0,05	0,35	0,15
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,45	2,00	0,05	0,50	1,70	0,00	0,00	5,75	0,15
	NSP Total	0,00	0,00	1,50	2,00	0,10	0,60	1,75	0,00	0,05	6,10	0,10
Híbrido 3 / 110°C	NSP Solúvel	0,00	0,00	0,05	0,05	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,20	0,05
	NSP Insolúvel	0,00	0,00	1,50	1,90	0,15	0,55	1,75	0,00	0,00	5,90	0,05
	NSP Total	0,00	0,00	1,55	2,05	0,10	0,60	1,90	0,00	0,00	6,15	0,25

569 NSP, Polissacarídeos não amiláceos; rha, rhamnose; fuc, fucose; ara, arabinose; xyl, xylose; man, mannose; gal, galactose; glu, glucose; GlcA, glucuronic acid; GalA,
570 galacturonic acid

571 Tabela 4. Fração do amido no milho grão e no milho moído dos diferentes híbridos secados
 572 em duas diferentes temperaturas.

Fração do amido (g/100 g monossacarídeos equivalentes) grão							
	ARD	ALD	AD	AR	AT	ALD/AT	AR/AT
Híbrido 1/ 80°C	11,95	38,75	50,70	22,05	72,75	76,50	30,35
Híbrido 2 / 80°C	14,85	41,60	56,40	15,50	71,95	73,75	21,55
Híbrido 3 / 80°C	12,95	39,00	51,45	21,55	73,00	75,80	29,50
Híbrido 1 / 110°C	10,90	37,10	48,00	24,55	72,55	77,40	33,85
Híbrido 2 / 110°C	13,80	40,95	54,75	20,55	75,30	74,90	27,30
Híbrido 3 / 110°C	15,15	37,75	52,95	19,30	72,25	71,45	26,75
Fração do amido (g/100 g monossacarídeos equivalentes) moído							
Híbrido 1/ 80°C	24,20	41,35	65,55	7,25	72,75	63,10	9,95
Híbrido 2 / 80°C	25,15	40,35	65,5	6,45	71,95	61,65	8,95
Híbrido 3 / 80°C	27,00	40,65	67,65	5,35	73,00	60,10	7,30
Híbrido 1 / 110°C	25,05	39,45	64,55	8,05	72,55	61,20	11,10
Híbrido 2 / 110°C	24,80	43,1	67,90	7,35	75,3	63,40	9,85
Híbrido 3 / 110°C	30,35	38,2	68,55	3,70	72,25	55,70	5,10

573 ARD; Amido rapidamente digerido; ALD; Amido lentamente digerido; AD (ARD + ALD); AR; Amido
 574 resistente; AT; Amido total.

575

Tabela 5. Valores de energia metabolizável aparente (EMA, kcal.kg⁻¹), aparente corrigida (EMA_n, kcal.kg⁻¹) e os coeficientes de metabolizabilidade aparente (CEMA%) e aparente corrigida (CEMA_n) de três híbridos de milho secos em duas diferentes temperaturas para frangos de corte na fase inicial.

	EB	MS	EMA	EMA _n	CEMA	CEMA _n
Híbridos						
1	4133	88,86	3336	3291	80,71b	79,63b
2	4131	89,64	3349	3304	81,06b	79,97b
3	4054	88,65	3369	3323	83,10a	81,98a
Temperatura (°C)						
80	4119	88,54	3360	3314	81,58	80,46
110	4093	89,56	3342	3298	81,67	80,58
EPM	1,113	0,150	9,835	9,511	2,170	2,140
p ANOVA						
Híbrido			0,344	0,335	0,001	< 0,001
Temperatura			0,335	0,367	0,841	0,775
Híbrido x Temperatura			0,011	0,010	0,103	0,100

EPM; erro padrão da média; *valores expressos na matéria seca.

Tabela 6. Desdobramento das interações dos valores de energia metabolizável aparente (EMA, kcal.kg⁻¹) e aparente corrigida (EMA_n, kcal.kg⁻¹) considerando três híbridos de milho secos em duas diferentes temperaturas para frangos de corte na fase inicial.

Híbrido	EMA		EMA _n	
	80 °C	110 °C	80 °C	110 °C
1	3373Aa	3300Ab	3326Aa	3257Ab
2	3318Aa	3380Aa	3273Aa	3335Aa
3	3389Aa	3348Aa	3343Aa	3303Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas e minúsculas distintas, na coluna e na linha, respectivamente, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

(Artigo nas normas da Revista Poultry Science)

4. IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ENZIMÁTICA E TEMPERATURA DE SECAGEM DE HÍBRIDOS DE MILHO NO DESEMPENHO, MORFOMETRIA E MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO. Este trabalho teve por objetivo determinar a influência de diferentes híbridos de milho e temperatura de secagem, bem como o efeito da inclusão de enzimas exógenas sobre a digestibilidade ileal dos nutrientes, sobre o desempenho, rendimento de carcaça, morfometria intestinal e microbiota cecal de frangos de corte. Para tanto, foram utilizados 2.160 pintos de corte, machos, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (três híbridos de milho, duas temperaturas de secagem - 80 e 110°C, com e sem adição *on top* de blend enzimático (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FYU/kg de xilanase), totalizando 12 tratamentos, com nove repetições e 20 aves por unidade experimental. Todas as dietas experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase. Para os parâmetros de desempenho e digestibilidade, observou-se que, em geral, houve interferência pontual dos fatores híbrido e temperatura de secagem do milho. As aves que receberam dietas contendo o blend enzimático apresentaram melhores coeficientes de digestibilidade de proteína bruta, matéria mineral e energia bruta aos 42 dias de idade, melhor desempenho na fase inicial (1-21 dias) e conversão alimentar aos 42 dias, em dietas compostas por grãos que foram secos a 80°C. Aos 21 dias, foi observado aumento ($p=0,001$) na altura de vilo e na área de absorção para o segmento jejuno com o uso de enzima. Houve alteração na microbiota intestinal, com aumento do filo Tenericutes, da classe Bacilli e Mollicutes, redução de Clostridia e aumento de frequência para família Lactobacillaceae, Anaeroplasmataceae e O_RF39;F_, e assim sucessivamente para seus gêneros e espécies. A adição *on top* de blend enzimático composto por xilanase, amilase, protease e fitase, proporcionou melhor digestibilidade de nutrientes, melhor desempenho, parâmetros morfométricos intestinais, maior presença do gênero de bactérias *Lactobacillus*, *Ruminococcus* e *Anaeroplasma*, na fase inicial de vida (um a 21 dias) em frangos de corte. No entanto, a adição do blend enzimático a dieta composta com grãos expostos a

temperatura de secagem de 110°C não foi capaz de expressar diferenças nos parâmetros de desempenho e digestibilidade.

Palavras-chave: enzima, microbiota cecal, secagem, morfometria intestinal.

**IMPACT OF ENZYMATIC SUPPLEMENTATION AND TEMPERATURE OF
DRYING CORN HYBRIDS ON PERFORMANCE, MORPHOMETRY AND
INTESTINAL MICROBIOTES OF CHICKENS**

ABSTRACT. This work aimed to determine the influence of different corn hybrids and drying temperature, as well as the effect of the inclusion of exogenous enzymes on the ileal digestibility of nutrients, on performance, carcass yield, intestinal morphometry and cecal microbiota of broilers. For this purpose, 2,160 male day-old broiler chicks were used, distributed in a completely randomized design, in a 3 x 2 x 2 factorial scheme (three corn hybrids, two drying temperatures - 80 and 110 ° C, with and without addition on top of enzymatic blend (15000 PROT / kg protease, 80 KNU / kg amylase and 100 FXU / kg xylanase), totaling 12 treatments, with nine replicates and 20 birds per experimental unit. contained 1000 FYU / kg of phytase. For the performance and digestibility parameters, it was observed that, in general, there was punctual interference from the hybrid factors and drying temperature of the corn. The birds that received diets containing the enzymatic blend showed better coefficients of digestibility of crude protein, mineral matter and crude energy at 42 days of age, better performance in the initial phase (1-21 days) and feed conversion at 42 days, in diets composed of grains that were dried at 80 ° C At 21 days, an increase ($p = 0.001$) in villus height and absorption area for the jejunum segment was observed with the use of enzyme. There was a change in the intestinal microbiota, with an increase in the phylum Tenericutes, of the Bacilli and Mollicutes class, a reduction in

Clostridia and an increase in frequency for the family Lactobacillaceae, Anaeroplasmataceae and O_RF39; F₊ and so on for their genera and species. The addition on top of an enzymatic blend composed of xylanase, amylase, protease and phytase, provided better nutrient digestibility, better performance, intestinal morphometric parameters, greater presence of the *Lactobacillus*, *Ruminococcus* and *Anaeroplasma* bacteria genus, in the initial phase of life (one to one) 21 days) in broilers. However, the addition of the enzymatic blend to the compound diet with grains exposed to a drying temperature of 110°C has not been able to express differences in the parameters of performance and digestibility.

Keywords: enzyme, cecal microbiota, drying, intestinal morphometry.

4.1. INTRODUÇÃO

O milho tem sido utilizado como principal ingrediente em dietas avícolas devido ao seu alto conteúdo de energia. De acordo com as Tabelas Brasileiras de Alimentos para Aves e Suínos (Rostagno et al., 2017), os grãos de milho possuem, em média, 63,4% de amido, 7,86% de proteína, 3,81% de lipídeos e 1,1% de minerais. No entanto, as condições climáticas, genética, processamento e armazenamento pós-colheita podem alterar a composição química dos grãos e consequentemente sua qualidade nutricional, visto que tais fatores podem afetar a estrutura do amido, lipídios e proteínas (Martínez et al., 2017; Huart et al. 2018).

Dentre os processos pós-colheita, a temperatura utilizada pelas indústrias para redução do teor de água dos grãos para posterior armazenamento é muitas vezes determinada pelo fluxo de produção, podendo este processo ser realizado com temperaturas acima de 100°C. Os efeitos adversos relacionados à utilização de altas

temperaturas durante o processo de secagem artificial incluem a desnaturação de substâncias lábeis ao calor, como vitaminas, a desnaturação da proteína, redução na digestibilidade proteica devido à ocorrência da reação de Maillard e formação de amido retrógrado (Odjo et al., 2012).

A reação de Maillard pode ser afetada por diversos fatores, entre eles pH, temperatura, umidade, açúcares redutores e aminoácidos, levando a uma interação entre um aldeído (açúcar redutor) e aminoácidos livres da proteína, como lisina (possui grupo amino épsilon livre) ou arginina (possui átomo de nitrogênio básico na cadeia lateral) principalmente (Francisquini, et al., 2017).

Kaczmarek et al. (2008) e Bhuiyan et al. (2010) observaram alterações na digestibilidade do amido e proteína quando o milho foi seco em temperaturas acima de 100°C, alterando a natureza e a solubilidade da proteína, que podem afetar a utilização de nutrientes, diminuindo a disponibilidade de aminoácidos e prejudicando o acesso da α -amilase aos grânulos de amido (Altay e Gunasekaran, 2006). Neste contexto, Kaczmarek et al. (2014) observaram redução no ganho de peso e piora na conversão alimentar para frangos de corte alimentados com dietas formuladas com milho seco em alta temperatura (140°C).

Além das modificações nos nutrientes mencionados, o processo de secagem pode alterar a quantidade e a relação dos polissacarídeos não amiláceos (PNA's), levando a redução da digestão e absorção de nutrientes (Slominski, 2011). A parede celular da planta contém quantidades significativas de PNA's, compostos por monossacarídeos que incluem manose, glicose, arabinose, galactose e xilose (Knudsen, 2014). Estima-se que 400 a 450 kcal de energia por kg de alimento permanece não digerido pelos frangos de corte devido ao teor de PNA presente nas dietas compostas por milho e farelo de soja (Cowieson, 2010).

Dentre as estratégias disponíveis para aumentar o aproveitamento dos nutrientes, a inclusão dietética de enzimas exógenas vem apresentando destaque na avicultura. De fato, os ingredientes podem apresentar diversos fatores antinutricionais que podem prejudicar o aproveitamento dos nutrientes. A parede celular da planta contém quantidades significativas de polissacarídeos não amiláceos (PNA's) que os frangos de corte não têm capacidade de hidrolisar devido a não produção de enzimas específicas a este substrato (Knudsen, 2014). Estima-se que 400 a 450 kcal de energia por kg de alimento permanece não digerido pelos frangos de corte devido ao teor de PNA's presente nas dietas compostas por milho e farelo de soja (Cowieson, 2010). A degradação desta parede celular pode além de disponibilizar mais energia aumentar o acesso das demais enzimas ao conteúdo celular anteriormente encapsulado, aumentando a digestibilidade dos ingredientes (Amerah et al., 2017).

Um mecanismo adicional de ação das enzimas parece envolver modificações na microbiota do trato gastrointestinal dos animais (Kaczmarek et al., 2014). As enzimas ao favorecem a hidrólise dos componentes dietéticos garantindo substrato para o desenvolvimento de bactérias benéficas ao organismo (Bedford and Cowieson, 2012) proporcionam um mecanismo adicional pela ação desta microbiota sobre o metabolismo de nutrientes bem como do sistema imune destes animais (Mu et al., 2016).

Entretanto, ainda não está claro o potencial das enzimas exógenas em disponibilizar maior quantidade de nutrientes em dietas formuladas com diferentes híbridos de milho submetidos a alta temperatura de secagem. Além disso, ainda são escassos trabalhos que correlacionem os mecanismos de ação das enzimas sobre o estabelecimento da microbiota e sua influência sobre os processos digestivos.

Considerando os pontos abordados, nós hipotetizamos que o processo de secagem e os diferentes híbridos de milho podem ser responsáveis por modificações na composição

química e aproveitamento dos nutrientes contidos nos grãos pelos frangos de corte e que a inclusão dietética de enzimas pode amenizar os efeitos deletérios ocasionados pelo processo de secagem artificial. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a influência de diferentes híbridos de milho e temperatura de secagem, bem como o efeito da inclusão de enzimas exógenas sobre o desempenho, morfometria intestinal, digestibilidade ileal dos nutrientes, rendimento de carcaça e cortes e microbiota cecal de frangos de corte.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no centro de pesquisa em avicultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste. Aves experimentais foram manuseadas com cuidado para evitar desconforto desnecessário e todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade (protocolo nº 06/19).

O aviário experimental utilizado foi construído em alvenaria com 35 metros de comprimento e 13 metros de largura, dividido em boxes de 1,95 m². Cada unidade experimental (UE) dispunha de um comedouro tubular, bebedouro tipo nipple, fonte para aquecimento (resistência 250 watts) e piso de concreto, o qual foi recoberto com maravalha de pinus de primeira utilização.

Ao todo, foram utilizados 2.160 pintos de corte, machos, de um dia de idade, da linhagem Cobb 500®, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (três híbridos de milho; duas temperaturas de secagem - 80 e 110°C; com e sem adição *on top* de blend enzimático), totalizando 12 tratamentos, com nove repetições e 20 aves por UE. O blend enzimático era composto por 15000 PROT.kg⁻¹ de protease (RONOZYME® ProAct), 80 KNU/kg de amilase (RONOZYME® HiStarch) e

100 FXU/kg de xilanase (RONOZYME® WX) e todas as dietas experimentais foram formuladas contendo 1000 FYU/kg de fitase (RONOZYME® HiPhos), considerando uma valorização de 0,15 % para Calcio e Fósforo.

O RONOZYME® ProAct é fabricado a partir da fermentação de *Bacillus licheniformis* contendo *Nocardioopsis prasina* com gene transcrito, sendo considerado como uma protease monocomponente e contém 75.000 unidades de protease. ⁻¹ de enzima. A atividade de protease para esta enzima (PROT) é definida como a quantidade de enzima necessária para degradar 1 µmol de p-nitroanilina do substrato 1 µmol (Suc-Ala-Ala-Pro-Fen-N-succinil Ala-Ala-Pro-Fen- p-nitroanilida) por minuto a pH 9,0 e 37°C.

O RONOZYME® WX é uma preparação de endo - 1,4 - beta - xilanase produzida com uma cepa geneticamente modificada de *Aspergillus oryzae*. A atividade enzimática da xilanase em unidades de xilanase (FXU), definida como “a quantidade de enzima que libera 7,8 µmol de açúcares redutores (equivalentes xilose) do arabinoxilano azo-trigo por minuto a pH 6,0 e 50 ° C'.

O RONOZYME® HiStarch é uma preparação enzimática granulada produzida por fermentação submersa de *Bacillus licheniformis* e continha 600 KNU. ⁻¹. Um KNU é a quantidade de enzima que libera em uma reação em duas etapas, 6 mol de p-nitrofenol por minuto a partir de 1,86 mM de etileneno-G7-p-nitrofenil-maltoheptaosídeo a pH 7,0 e 37 °C.

O RONOZYME® HiPhos é uma fitase 6-microbiana expressa por genes sintéticos de *Aspergillus oryzae*, que possui atividade de fitase (AFY) de 10.000 unidades FYT.g⁻¹. Uma unidade de fitase é a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de fosfato inorgânico sob condições regulares (tampão acetato 0,25 M, pH 5,5, temperatura de 37 ° C e cinco µmol de fitato de sódio).

Os três híbridos de milho avaliados foram classificados como grão semiduro para o híbrido 1 (30A37 PW – Morgan) e 2 (30A77 PW – Morgan) e semi-dentado para o híbrido 3 (DKB 330 PRO – Dekalb). Os milhos foram produzidos sob condições de cultivo semelhante, em uma propriedade localizada na região Oeste do Paraná, com o intuito de evitar interferência do solo e condições climáticas sobre as características químicas dos grãos.

Os grãos foram colhidos com teor de água pré-estabelecido de 23%, e em seguida, foram submetidos ao processamento de secagem artificial com as respectivas temperaturas (80 e 110 °C), em secador de fluxo misto. O processo de secagem artificial foi concluído quando o teor de água do grão atingiu 14%, sendo determinado o teor de água ao longo do processo, por meio do determinador de umidade MOTOMCO 919FOB. O processo de secagem teve duração média de quatro horas para os grãos secos a 110°C e seis horas para os grãos secos a 80°C.

As dietas experimentais, isoproteicas e isocalóricas, foram fornecidas aos animais na forma farelada e foram formuladas de acordo com a composição dos alimentos e recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011), para as fases de 1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias de idade para frangos de corte de desempenho médio (Tabela 1). Os animais receberam ração e água *ad libitum* e o programa de iluminação utilizado foi o recomendado pela linhagem. O controle da temperatura interna do galpão foi realizado por exaustores, placas evaporativas e aquecedores (resistência 250 watts), registrando temperatura máxima e mínima de 33,4°C e 20,7°C, respectivamente. As aves foram alojadas em cama composta de maravalha de pinus de primeiro uso.

O peso das aves e o consumo de ração foram registrados aos sete, 21 e 42 dias de idade, para avaliação do desempenho (ganho de peso, consumo médio de ração e conversão alimentar) para cada tratamento. A mortalidade foi observada diariamente para a

realização das correções no consumo de ração e conversão alimentar, segundo Sakomura e Rostagno (2016).

Aos 21 e 42 dias de idade, uma ave por unidade experimental, com peso médio ($\pm$ 5%), foi abatida para colheita de fragmento do jejuno para análise da morfometria intestinal por microscopia de luz. O conteúdo cecal foi colhido aos 21 dias de idade e armazenado a -20°C até a análise para determinação da microbiota.

Para a análise da morfometria intestinal, considerou-se o jejuno desde a porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel. Fragmentos de dois cm do segmento foram coletados, abertos longitudinalmente, lavados com solução salina e fixados em solução de formalina tamponada 10%. Em seguida, foram desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em parafina (Luna, 1968). Após a microtomia semi-seriada, a uma espessura de 5 μ m, os cortes histológicos foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina.

As análises morfométricas foram realizadas utilizando o sistema de imagens PROPLUS IMAGE 4.1. Para cada lâmina, foram mensurados o comprimento e a largura de 30 vilos e profundidade e largura de 30 criptas. Estas medidas morfométricas foram utilizadas para o cálculo da área da superfície de absorção da mucosa intestinal, através da fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002). Em adição, foi calculado a relação altura de vilo:profundidade de cripta, dividindo-se o valor da altura do vilo pelo valor de profundidade de cripta.

Para determinação da microbiota agrupou-se os tratamentos iniciais em dois grupos (com e sem inclusão dietética de blend enzimático), totalizando para cada repetição do grupo (n=9) amostras do conteúdo cecal de seis aves. O conteúdo cecal foi encaminhado para o laboratório Neopropecta Microbiome Technologies sendo a

microbiota analisada pela extração do material do DNA das amostras, seguido por amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA pela técnica de PCR.

As sequências foram processadas e analisadas utilizando *Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2* (QIIME 2) (Bolyen et al., 2019) v 2018.6 pipeline. As sequências brutas foram carregadas no NCBI *Sequence Read Archive*. As sequências foram desmultiplexadas e a tabela OTU foi criada usando DADA2 (Callahan, B.J., et al., 2016). As unidades taxonômicas operacionais (OTUs) foram definidas como seqüências com pelo menos 97% de similaridade com o banco de dados Greengenes v 13.8 (DeSantis, T.Z., et al., 2016). Antes da análise a jusante, as seqüências atribuídas como cloroplasto, mitocôndrias e OTUs de baixa abundância, contendo menos de 0,01% do total de leituras no conjunto de dados, foram removidas. Todas as amostras foram rarefeitas até a profundidade de sequenciamento, com base na profundidade de leitura mais baixa, para 20.568 seqüências por amostra. Para estimar as vias metabólicas afetadas pela suplementação enzimática, a Investigação Filogenética de Comunidades por Reconstrução de Estados Não Observados (PICRUST) (Douglas et al., 2019) foi calculada usando o padrão PICRUST2 pipeline.

A diversidade alfa foi medida com Chao1 (riqueza), diversidade Shannon e observadas as métricas OTU. A diversidade beta foi avaliada com a métrica de distância UniFrac (Lozupone, C. e Knight, R., 2005) baseada em filogenia e visualizada usando gráficos de Análise de Coordenadas Principais (PCoA).

A digestibilidade dos nutrientes foi determinada pelo método da digestibilidade ileal ao final do período experimental (42 dias de idade). Foi utilizada uma fonte de sílica, Celite, adicionada a todas as dietas experimentais, à proporção de 1% como indicador indigestível, sendo que as aves foram submetidas a sete dias de adaptação com o indicador. Aos 42 dias de idade, duas aves de cada unidade experimental foram abatidas por

deslocamento cervical. Imediatamente após o abate, o íleo foi exposto por incisão abdominal, e um segmento de 20 cm, localizado a 4 cm da junção íleo-cecal, foi removido, e o seu conteúdo foi recolhido em recipiente de plástico identificado por tratamento e repetição.

Os frangos foram estimulados a consumir ração, duas horas antes do abate, para evitar que o segmento do íleo coletado apresentasse pouco conteúdo intestinal. Após a coleta, as digestas foram congeladas para posterior análise. O descongelamento foi realizado à temperatura ambiente, e as digestas foram homogeneizadas, pesadas, novamente congeladas, e submetidas à secagem por liofilização a vácuo, à temperatura de -40°C por 72 horas.

Em seguida, as amostras foram moídas e com as amostras das rações experimentais foram encaminhadas ao laboratório de nutrição animal. Nas amostras de digesta e de rações, foram determinados os teores de matéria seca (MS), energia bruta (EB), nitrogênio (N), matéria mineral (MM) e cinza ácida insolúvel (CAI). A proteína, analisada pelo método Kjeldahl, e a matéria seca (secagem definitiva) foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). Para a determinação da energia bruta, as amostras foram peletizadas e submetidas à combustão em bomba calorimétrica. A cinza ácida insolúvel (CAI), fração indigerível, presente nas dietas e digestas, foram determinadas pela metodologia de Van Keulen & Young (1997).

Com os resultados laboratoriais, foram determinados os coeficientes de digestibilidade (CD), matéria seca, proteína bruta, matéria mineral e os valores de energia digestível (ED), calculados com base na análise das dietas e digesta ileal (Sakomura e Rostagno, 2016).

Ao final do período experimental (42 dias), 18 aves por tratamento, representando a média de peso da UE (média $\pm 5\%$), foram selecionadas, pesadas individualmente,

abatidas, sangradas, depenadas e evisceradas. Para o rendimento de carcaça considerou-se o peso da carcaça eviscerada (sem cabeça, pés, pescoço e gordura abdominal) em relação ao peso da ave viva antes do abate e para o rendimento de cortes (peito, asa e perna) considerou-se o peso da carcaça eviscerada. Para a determinação da porcentagem de gordura abdominal, foi pesado o tecido adiposo presente ao redor da cloaca, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes e foi determinada a porcentagem em relação ao peso da ave viva.

Como procedimento estatístico, a normalidade dos dados experimentais foi determinada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. Os efeitos individuais e a interação entre os fatores (híbrido, temperatura e inclusão ou não de enzima) foram analisados e quando significativo, as interações foram desdobradas utilizando o procedimento PROC GLM do sistema estatístico SAS®.

O teste ANOSIM (Analysis of Similarity) no pacote de software PRIMER 7 (PRIMER-E Ltd., Luton, Reino Unido) foi utilizado para analisar diferenças significativas nas comunidades microbianas entre grupos / pontos no tempo. Todos os conjuntos de dados foram testados quanto à normalidade usando o teste Shapiro-Wilk (JMP Pro 11, SAS software Inc.). O teste de Mann-Whitney foi realizado (JMP Pro 11, SAS software Inc. ou Prism v.8.2.1, Graphpad Software Inc.) e ajustado para comparação múltipla usando a Taxa de descoberta falsa de Benjamini e Hochberg em cada nível taxonômico (Benjamini, Y. e Hochberg, Y., 1995) e um P valor <0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

4.3. RESULTADOS

De acordo com os dados obtidos para desempenho, não houve interação ($P>0,05$) entre os fatores híbrido de milho, temperatura de secagem e inclusão *on top* de blend enzimático (Tabela 2). Houve interação ($P=0,0001$) entre os fatores híbrido e temperatura demonstrando que as aves alimentadas com rações formuladas com o híbrido 2 seco a 110°C apresentaram melhor conversão alimentar (CA) (1,342), para o período de 1 a 21 dias, com relação a temperatura de 80°C (1,380). Avaliando os híbridos secos a temperatura de 110°C observou-se menor CA para as aves alimentadas com rações formuladas com o híbrido 2 em comparação ao híbrido 3 (1,342 vs 1,377) (dados não demonstrados). Houve interação entre os fatores enzima e temperatura demonstrando que as aves alimentadas com rações formuladas com milho seco a 80°C contendo enzimas apresentaram melhor CA para o período de 1 a 7 dias ($P=0,024$) (1,254 vs 1,356) e 1 a 42 dias ($P=0,040$) (1,612 vs 1,633) (dados não mostrados). Considerando os fatores isolados, as aves que receberam rações formuladas com o híbrido 3 apresentaram maior ($P=0,036$) consumo médio de ração (CMR) comparado as que receberam dieta contendo o híbrido 2. A utilização de milho seco a 110°C nas rações experimentais, independentemente do híbrido e da inclusão do blend enzimático, proporcionou um menor ($P=0,002$) CMR com consequente melhor ($P=0,045$) CA para o período de 1 a 21 dias. Em adição, a inclusão do blend enzimático, independentemente da temperatura de secagem e do híbrido do milho, proporcionou ($P<0,05$) maior GP e melhor CA para os períodos de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade (Tabela 2).

Com relação à morfometria do segmento jejuno, não houve interação ($P>0,05$) entre os fatores híbrido de milho, temperatura de secagem e inclusão *on top* de blend enzimático (Tabela 2). Houve interação ($P=0,048$) entre os fatores híbrido e enzima demonstrando que

as aves alimentadas com rações formuladas com híbrido 1 contendo enzimas apresentaram maior altura de vilo (AV) para o período de 1 a 21 dias quando comparadas as aves que não receberam enzimas (753,68 vs 642,15). Avaliando dentro dos grupos com e sem suplementação de enzima, as aves que receberam dietas contendo o híbrido 1 e 3, respectivamente, apresentaram maior AV para este período (dados não mostrados). Houve interação entre os fatores híbrido e temperatura demonstrando que as aves alimentadas com rações formuladas com híbrido 3 seco a 110⁰C apresentaram maior (P=0,006) relação de vilo:profundidade de cripta (V:C) (12,27), para o período de 1 a 21 dias, com relação aos demais híbridos secos a mesma temperatura (10,81; 11,08) e com relação ao mesmo híbrido seco a 80⁰C (10,82) (dados não mostrados). Aos 42 dias as aves alimentadas com ração contendo os híbridos 1 e 2 secos a 80⁰C apresentaram maior (P=0,031) relação V:C e maior (P=0,023) área de absorção (AA) com relação ao híbrido 3. Além disso, observou-se que para o híbrido 1 a menor temperatura de secagem proporcionou maior relação V:C e maior AA para as aves (dados não mostrados). Houve interação (P=0,025) entre os fatores enzima e temperatura demonstrando que as aves alimentadas com rações formuladas com milho seco a 80⁰C contendo enzimas apresentaram maior profundidade de cripta (PC) (74,83 vs 67,44) e quando formuladas com milhos secos a 110⁰C contendo enzima apresentaram menor relação V:P (10,29 vs 12,16). A presença da enzima proporcionou menor PC para o milho seco a 110⁰C comparado a 80⁰C (67,74 vs 74,83) sendo observado efeito oposto na ausência da enzima (72,92 vs 67,44) (dados não mostrados). Considerando os fatores isolados, houve diferença para o fator temperatura com relação a PC (P=0,017) e a relação V:C (P=0,04), aos 21 dias, proporcionando melhores resultados com o milho seco a 110⁰C. No entanto, ao considerar o período total (1 a 42 dias) as rações formuladas com milhos secos a 80⁰C proporcionaram maior (P=0,048) AA. A adição de enzima, independentemente dos outros fatores, proporcionou maior (P=0,001) AV, menor

($P=0,001$) PC, maior ($P=0,000$) relação V:C e maior ($P=0,001$) AA, aos 21 dias de idade. No entanto, aos 42 dias as aves que não receberam adição dietética de enzima apresentaram maior ($P=0,015$) AA (Tabela 2).

Não foi observada influência da inclusão do *blend* enzimático sobre o número de espécies observadas ($P=0,112$) e o Índice de Shannon ($P=0,401$) (diversidade alpha), com média observada entre os grupos com e sem suplementação de 144,56 e 132,89 e 6,17 e 6,07, respectivamente. No entanto, observando a diversidade beta, de maneira geral, houve uma tendência ($P=0,069$) para a diversidade entre as amostras quando da inclusão do *blend* enzimático (Figura 1).

Os filos Firmicutes, Bacteroidetes e Tenericutes compuseram aproximadamente 99% da comunidade cecal. O filo predominante foi o Firmicutes (95,66%) seguido por Bacteroidetes (1,80%) e Tenericutes (1,52%). Os filos Proteobacteria, Actinobacteria e Verrucomicrobia apresentaram frequência abaixo de 1,0%. Houve aumento ($P=0,014$) na frequência (2,06% x 0,98%) para o filo Tenericutes em aves que receberam dietas com *blend* enzimático (Tabela 4).

A microbiota das aves que receberam dietas com *blend* enzimático apresentaram aumento a nível de classe para Bacilli (14,33% x 7,17%) ($P=0,032$) e Mollicutes (2,06% x 0,98%) ($P=0,014$) e redução para a classe Clostridia (80,66% x 88,22%) ($P=0,093$) (Tabela 4). Houve aumento na frequência (14,26% x 7,08%) da ordem Lactobacillales ($P=0,040$); Anaeroplasmatales (0,19% x 0%) ($P=0,025$) e RF39 (1,82% x 0,8%) ($P=0,014$), assim como para família, gênero e espécie pertencentes a estas ordens. A família Lactobacillaceae, gênero *Lactobacillus* e espécie *Lactobacillus* aumentaram em, aproximadamente, 50% suas frequências para as aves que foram alimentadas com dietas contendo o *blend* enzimático quando comparada ao grupo que recebeu ração isenta de enzimas exógenas (Tabelas 5, 6 e 7). Assim como para a família Anaeroplasmataceae, o gênero

Anaeroplasma e espécie *g_Anaeroplasma*; *s_* apresentaram aumento de frequência de (0,19% x 0%) (P= 0,025) e família *o_RF39*; *F_*, gênero *o_RF39*; *F_*; *G_*, espécie *o_RF39*; *f_*; *g_*, *s_* (P= 0,014). O gênero [*Ruminococcus*] apresentou um aumento expressivo (12,85 x 5,24) (P= 0,0002) para as aves que foram alimentadas com dietas contendo o blend enzimático (Tabela 6).

Houve interação (P<0,05) entre os fatores híbrido de milho, temperatura de secagem e inclusão *on top* de blend enzimático para o valor de energia digestível (ED) e para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e matéria mineral (CDMM) (Tabela 8). De acordo com o desdobramento da interação (enzima/híbrido e temperatura) observou-se que, de maneira geral, as aves que receberam as dietas contendo o blend enzimático apresentaram maior valor de ED em 11,98% e 7,47% para o híbrido 2 e em 5,54% e 23,52% para o híbrido 3 para as temperaturas de 80°C e 110°C, respectivamente. Além disso, a inclusão enzimática proporcionou aumento nos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes quando comparadas as aves que receberam dietas isentas de enzimas, incremento estes, médios, de 12,20%, 12,75% e de 26,38% para MS, PB e MM, respectivamente (dados não mostrados). Para o híbrido 1, foi observado aumento de 4,23%, 6,21% e 46,89% para CDMS, CDPB e CDMM, respectivamente, quando da inclusão do blend enzimático para o milho seco a 110°C (dados não mostrados). Considerando o desdobramento da interação (temperatura/enzima e híbrido) observou-se que para as aves que receberam dietas isentas de enzima e contendo o híbrido 1 houve maiores valores para CDPB e CDMM quando utilizada a menor temperatura de secagem (71,67% vs 68,08%; 38,10% vs 22,65%, respectivamente). Da mesma forma, para o híbrido 3, maior valor de ED (2915 kcal.kg⁻¹ vs 2465 kcal.kg⁻¹) e maior CDMS (64,85% vs 54,34%) foram observados com a temperatura de secagem de 80°C. Avaliando as dietas contendo enzimas, observou-se que os efeitos das temperaturas

foram diferentes entre os híbridos. Para o híbrido 1, maior valor de ED (3084 kcal.kg⁻¹ vs 2838 kcal.kg⁻¹) e maior CDMS (67,58% vs 62,50%) foi observado na temperatura mais alta de secagem. Em contraste, para o híbrido 2, maior valor de ED (3255 kcal.kg⁻¹ vs 3025 kcal.kg⁻¹) e maior valor para CDMS (71,97% vs 66,18%), CDPB (76,42% vs 72,54%) e CDMM (52,27% vs 38,60%), foram observados quando da utilização do milho seco a 80°C (dados não mostrados).

Para os dados obtidos para rendimento de carcaça e rendimento de cortes, não houve interação ($P>0,05$) entre os fatores híbrido de milho, temperatura de secagem e inclusão on top de blend enzimático. Considerando os fatores isolados, as aves que receberam rações contendo o blend enzimático, independentemente da temperatura de secagem e do híbrido do milho, apresentaram maior ($P=0,022$) rendimento de perna (27,42% vs 26,97%) e menor porcentagem de gordura abdominal ($P=0,025$) (4,20% vs 4,36%), aos 42 dias de idade (dados não mostrados).

4.4. DISCUSSÃO

O milho é o ingrediente em maior proporção nas rações para aves, possuindo diversos híbridos disponíveis no mercado o que remete a diferentes características químicas e físicas destes grãos. Neste trabalho, foi possível observar comportamento diferenciado dos híbridos na presença do *blend* enzimático bem como da temperatura de secagem utilizada, sendo atribuídas estas diferenças à variação genética, visto que todos os híbridos foram cultivados em condições semelhantes. Diferenças quanto as características químicas dos grãos de milho podem ter correlação significativa com a performance de frangos de corte (Moore et al, 2008).

A ação da alta temperatura de secagem (110°C) sobre os resultados de desempenho e coeficientes de digestibilidade dos nutrientes foram pontuais. A dureza do milho, ou seja, a quantidade de endosperma vítreo influencia a extensão dos danos ao endosperma durante a secagem, o que é menos pronunciado no endosperma duro (Kaczmarek et al., 2013). Neste contexto, os três híbridos avaliados possuíam endosperma podendo variar de 50 a 80% tanto para farináceo como para vítreo, ou seja, semelhantes.

Segundo Jimenez-Moreno et al. (2009) as diferenças encontradas em diversos estudos relacionados a condições de secagem acaba dificultando a comparação dos resultados. A secagem é um processo complexo e seu efeito depende de muitos parâmetros, incluindo o teor inicial de umidade do grão, o tipo de secador utilizado, a utilização de diferentes temperaturas e o tempo de secagem (Odjo et al., 2015). De acordo com Malumba et al. (2015), milho com alto teor de umidade é mais suscetível a danos às proteínas como resultado do tratamento térmico.

Iji et al. (2003) e Bhuiyan et al. (2010) não encontraram efeito da temperatura de secagem do milho de 100 e 105°C, respectivamente, sobre a digestibilidade ileal da energia bruta. Por outro lado, Carvalho et al. (2004), Metayer et al. (2009) e Kaczmarek et al. (2013) encontraram redução de até 100 kcal.kg⁻¹ de energia metabolizável aparente devido à menor digestibilidade do amido ileal e da proteína como consequência da secagem em altas temperaturas (140°C).

Embora dietas a base de milho e farelo de soja não sejam consideradas de alta viscosidade, os dois ingredientes possuem PNA's em suas estruturas. O milho contém de 6 a 9,7% de PNA's (Choct, 2015; Knudsen, 2014), enquanto que o farelo de soja contém aproximadamente 25% (Kocher et al., 2003). Os milhos avaliados neste trabalho apresentaram em média 6,65% de PNA's totais. Os PNA's além de apresentarem baixa digestibilidade causam transtornos no trânsito intestinal dos animais não ruminantes. Estes

componentes dificultam a ação das enzimas endógenas, pois atuam como barreira física, reduzindo o aproveitamento dos nutrientes dos grãos (Delmaschio, 2018).

Neste sentido, a utilização de enzimas exógenas, como xilanase, pode aumentar o acesso de enzimas endógenas e exógenas a proteínas e amido na célula do endosperma (Cowieson, 2005). Romero et al. (2013) relataram que a associação de enzimas como amilase, xilanase, protease e fitase aumentou a digestibilidade de aminoácidos e amido, com maior valor observado de energia metabolizável aparente corrigida em frangos na fase inicial.

De uma forma geral neste trabalho, a adição do blend enzimático nas dietas preparadas com o híbrido 2 e 3 secos a 80°C, proporcionou maior ED e maiores coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em relação às dietas não suplementadas. De acordo com os dados de desempenho observados, a adição do *blend* enzimático proporcionou melhora de 5% no GP e 8% em CA aos sete dias de idade, em relação a aves não suplementadas. Considerando o período de 1 a 21 dias de idade, a adição do blend se mostrou eficiente, sendo observado aumento de 3,8% no GP das aves, representando em média 30 gramas a mais de peso corporal, com redução de 3,2% na CA. Foram encontradas também alterações na microbiota intestinal dos frangos suplementados. Segundo Munyaka et al. (2015) alterações na microbiota podem alterar a estrutura da mucosa e, assim, influenciar a capacidade de absorção de nutrientes, o que pode explicar parcialmente as diferenças no ganho de peso corporal observadas nas aves que receberam dietas com suplementação enzimática. Clarke et al. (2012) também relacionaram a microbiota intestinal com alterações no ganho de peso.

Considerando o período total de criação (1-42 dias), a suplementação de enzimas exógenas proporcionou melhora de 1,3% na CA. Não possível visualizar a eficiência das enzimas nas aves que receberam dietas com grãos de milho secos a 110°C, a não ser para o

híbrido 3 a suplementação do blend enzimático somente possibilitou melhora na digestibilidade dos nutrientes quando as aves receberam o grão seco em alta temperatura.

A ave no período inicial de vida, especialmente durante os primeiros sete a 10 dias, durante o desenvolvimento e maturação do trato gastrointestinal pode apresentar baixa digestibilidade dos nutrientes da dieta devido a menor atividade das enzimas endógenas, como protease (Batal e Parsons, 2002). Segundo Lee et al. (2017) em aves jovens, a digestão e absorção ainda não estão adaptadas ao desenvolvimento no trato gastrointestinal. Portanto, aprimorando a acessibilidade dos nutrientes da dieta às aves mais jovens através da utilização de enzimas exógenas, pode promover uma utilização superior dos nutrientes e benefícios subsequentes em desempenho. Aves mais jovens são consideradas mais suscetíveis a fatores antinutricionais (Masey et al., 2012).

Em adição, enzimas exógenas, como xilanase, amilase, protease e fitase, nas dietas podem aumentar a digestibilidade dos nutrientes visto que melhoram o acesso de enzimas endógenas ao conteúdo celular devido à hidrólise de arabinoxilanos da parede celular dos ingredientes (Cowieson, 2005). Zhang et al. (2014) demonstraram que a adição de enzimas exógenas as dietas aumenta a digestibilidade ileal e total da proteína bruta e amido, proporcionando melhoria direta no desempenho de frangos de corte. De fato, os blends enzimáticos mostram-se eficazes em dietas para aves à base de milho e farelo de soja, melhorando os parâmetros de desempenho e digestibilidade dos nutrientes (Cowieson e Ravindran, 2008; Masey et al., 2012).

As xilanases também são comumente utilizadas nas formulações para frangos de corte com o intuito de reduzir os efeitos antinutricionais dos PNA's por meio da diminuição da viscosidade da dieta. Além disso, estas enzimas também podem atuar na despolimerização dos arabinoxilanos em compostos de menor peso molecular. O excesso de fibras no trato gastrointestinal pode agredir a mucosa intestinal, resultando na

diminuição da altura dos vilos, que pode levar a redução da absorção dos nutrientes. Neste contexto, a suplementação da xilanase pode amenizar este efeito (Adeola et al., 2010).

Os melhores resultados de GP encontrados neste trabalho na fase inicial (1-21 dias) também estão associados a adição de enzimas exógenas na dieta, onde a adição destas proporcionou maior área de absorção intestinal. Segundo Gilbert et al. (2001) ao utilizarem enzimas em dietas animais com suplementação de protease, xilanase e amilase, encontraram aumento da área de superfície de vilos e da área de absorção no jejuno aos 42 dias de idade.

Neste trabalho, foram observadas alterações na composição da microbiota cecal das aves que receberam dietas suplementadas com enzimas exógenas, independentemente do híbrido de milho e da temperatura de secagem. Apesar de não significativo, o maior número de espécies observadas e uma maior diversidade de espécies dentro de cada observação (Índice de Shannon) para o grupo de aves que receberam dieta com suplementação de enzimas corroboram com as modificações quanto a frequência dos grupos bacterianos. De acordo com Pedroso e Lee (2015) a diversidade da microbiota e a provável diversidade de mecanismos de ação dos microrganismos resultam em melhoria da saúde e desempenho dos animais. De fato, o desempenho animal e a eficiência alimentar estão intimamente relacionados ao *status* da microbiota intestinal (Huyghebaert et al., 2011). Um alto nível de desempenho de aves pode ser apoiado por uma variedade de composições microbianas. A natureza e extensão de qualquer mudança microbiana, incluindo os gêneros e espécies envolvidas, pode determinar se haverá efeito no desempenho em aves (Borda-Molina et al., 2018). Neste contexto, possivelmente o aumento da frequência e da diversidade de grupos bacterianos quando da inclusão dietética do blend enzimático resultou em um melhor desempenho animal.

Modificações na microbiota intestinal podem ser causadas pela inclusão dietética de antibióticos, probióticos e enzimas, além dos processamentos da dieta, práticas de manejo e situações de estresse (Singh et al., 2014; Modh e Shaufi et al., 2015; Lee et al., 2016). A relação entre a quantidade de bactérias pertencentes aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* pode ser um indicativo da eficiência do animal em extrair nutrientes da dieta (Pedroso e Lunedo, 2017). O filo *Firmicutes* está associado ao melhor desempenho animal e uma maior predominância do filo *Bacteroidetes* está relacionada à menor capacidade digestiva e absorviva de nutrientes da dieta pelos animais (Singh et al., 2012; Stanley et al., 2012).

Variações quanto à predominância dos filos podem estar associadas aos tipos de dietas (Pourabedin e Zhao, 2015). Dietas com alto nível de fibra e baixo nível de gordura aumentam a predominância do filo *Bacteroidetes*, enquanto dietas com pouca fibra e com alto teor de gordura aumentam o número de bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* (Lee et al., 2017). Estas evidências corroboram com os achados neste trabalho onde a dieta experimental pode ser considerada de baixa fibra, pois era à base de milho e farelo de soja.

Abudabos et al. (2017) avaliando a microbiota de aves suplementadas com enzimas exógenas, também encontraram que o perfil geral da microbiota cecal de frangos de corte foi composto principalmente por *Firmicutes* seguido por *Tenericutes*. Neste trabalho, o filo *Tenericutes* teve sua quantidade dobrada nos frangos que receberam dietas com suplementação de enzimas, assim como para a classe *Mollicutes* e ordem RF39 pertencentes a este filo. Segundo Razin (1985), a classe *Mollicutes* é um grupo taxonômico possivelmente parasitário conhecido pela ausência de parede celular. No entanto, esta classe foi quase exclusivamente constituída pela ordem RF39 o que segundo Abudabos et al. (2017) é considerada não-patogênica.

Para o filo *Tenericutes* foi possível visualizar um aumento de 19% da ordem *Anaplasmatales*, assim como um aumento na família, gênero e espécies pertencentes a esta

ordem em aves que receberam a suplementação enzimática, sendo que as aves que não receberam a suplementação não apresentaram a presença destes. Beller et al. (2018) verificaram que bactérias pertencentes ao gênero *Anaeroplasm*, possuem propriedades anti-inflamatórias, com capacidade de induzir a citocina anti-inflamatória TGF- β , levando ao fortalecimento da barreira intestinal, aumentando a IgA da mucosa. De acordo com os autores estas evidências qualificam bactérias do gênero *Anaeroplasm* como potente probiótico para a prevenção e tratamento de inflamação crônica.

O ceco contém a maioria das bactérias residentes no trato intestinal de aves domésticas (Jozefiak et al., 2004; Rehman et al., 2007), sendo que as espécies pertencentes a classe Clostridia encontram-se em abundância neste segmento (Pedroso e Lee, 2015). Assim como neste trabalho onde a classe predominante foi a Clostridia (84,44%).

O gênero *Lactobacillus* é considerado um dos principais grupos de espécies probióticas (Dongarra et al., 2013). Neste trabalho, observou-se aumento em aproximadamente 93% na frequência deste gênero nas aves que foram alimentadas com dietas contendo o blend enzimático. Segundo Lu et al. (2003) os *Lactobacillus* são geralmente considerados benéficos para as aves, tanto por sua produção de ácidos como lácticos e acéticos, levando à redução do pH do trato gastrointestinal, bem como pela produção de certas bacteriocinas.

Os melhores resultados em desempenho aos 21 dias devido à suplementação *on top* de enzimas neste trabalho podem também estar relacionados ao aumento no gênero *Lactobacillus*. Segundo Ikari et al. (2002) os *Lactobacillus* regulam a captação da glicose nos enterócitos, ação esta atribuída ao deslocamento de transportadores existentes do citosol para a membrana da borda em escova ou a ativação de transportadores já presentes na borda em escova. A microbiota não apenas provoca um aumento na atividade dos transportadores deste monossacarídeo como também modula o trocador de membrana Na⁺/

H⁺ da borda em escova (NHE3) levando a um aumento no ganho de peso do animal (Musch et al., 2001).

De acordo com Pedroso e Lunedo (2017), a redução de *Lactobacillus* também acarreta em aumento da permeabilidade da membrana intestinal, que possibilita a passagem de moléculas microbianas para a circulação, induzindo o *status* de inflamação sistêmica, que leva ao acúmulo de gordura. Corroborando com os achados neste trabalho, onde as aves que apresentaram menor porcentagem de gordura abdominal apresentaram aumento na frequência do gênero bacteriano *Lactobacillus*. Tehrani et al. (2012) também correlacionaram influência no ganho de peso e porcentagem de gordura abdominal a composição da microbiota intestinal.

Diferentes espécies de Clostrídeos são os principais habitantes do ceco, incluindo os gêneros *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* e *Eubacterium* (Gong et al., 2002; Gong et al., 2007). A suplementação de enzima na dieta proporcionou redução de 50% no gênero *Ruminococcus*. Os *Ruminococcus* são degradadores de carboidratos estruturais não hidrolisados pelas enzimas endógenas do animal, ou seja, são eficientes degradadores de celulose e amido resistente (Macari et al., 2014). A redução na frequência deste gênero pode ser correlacionada a ação de solubilização dos carboidratos não digeríveis pelas enzimas reduzindo o substrato disponível no ceco e consequentemente para as bactérias. Segundo Jozefiak et al. (2004) diferenças na composição da dieta, utilização ou não de enzimas, sendo estas adicionadas de forma isolada ou em associação, e o modo de ação enzimático por apresentarem especificidade com os substratos, podem favorecer mudanças na composição dos substratos, e consequentemente no produto final de digestão que entra no ceco. O ceco é o principal local de fermentação microbiana no intestino dos frangos e, por isso, o único local onde é possível aproveitar parte dos carboidratos estruturais dietéticos não degradáveis pelas enzimas do animal (Stanley et al., 2013).

Nos parâmetros de rendimento, houve redução na gordura abdominal e aumento de rendimento de perna, possivelmente devido ao equilíbrio que as enzimas dietéticas proporcionam na disponibilidade e melhor aproveitamento dos ingredientes tanto energéticos como proteicos (Kumar et al., 2014). Trabalhos publicados por Amerah et al. (2016) e Kaczmarek et al. (2013) demonstraram que a suplementação de enzimas exógenas melhora a digestibilidade das dietas e está associada a melhores resultados em desempenho animal.

4.5. CONCLUSÃO

A temperatura de secagem e os híbridos de milho avaliados expressaram diferenças pontuais nos parâmetros avaliados. A combinação enzimática composta por xilanase, amilase, protease e fitase, de forma *on top*, proporcionou melhor desempenho, parâmetros morfométricos intestinais e aumento da frequência de bactérias do gênero *Lactobacillus*, *Ruminococcus* e *Anaeroplasma*, na fase inicial de vida (um a 21 dias) em frangos de corte. No entanto, a adição do blend enzimático a dieta composta com grãos expostos a temperatura de secagem de 110°C não foi capaz de expressar diferenças em desempenho e digestibilidade aos 21 dias de idade.

4.6. REFERÊNCIAS

- Abudabos, A. M., Al-Atiyat, R. M., Albatshan, H., Aljassim, R., Aljumaah, M. R., Alkhulaifi, M. M., Stanley, D. M. 2017. Effects of concentration of corn distillers dried grains with solubles and enzyme supplementation on cecal microbiota and performance in broiler chicken. *Appl Microbiol Biotechnol* 101:7017–7026.
- Adeola, O., A. J. Cowieson. 2011. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. *J. Anim. Sci.* 89:3189–3218.

- Altay, F. and Gunasekaran, S. 2006. Influence of drying temperature, water content, and heating rate on gelatinisation of corn starches. *J. of Agric. Food Chemistry* 54: 4235-4245.
- Amerah, A. M., Romero, L. F., Awati, A., Ravindra, V. 2016. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diet. 0:1–10.
- Batal, A. B. e Parsons, C. M. 2002. Effects of Age on Nutrient Digestibility in Chicks fed Different Diets. *Poult. Sci.* 81:400–407.
- Bedford, M. R., Cowieson, A. J. 2012. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Anim Feed Sci Tech.* 173:76-85.
- Beller, A., Kruglov, A., Durek, P., Goetze, V., Hoffmann, U., Maier, R., Heiking, K., Siegmund, B., Heinz, G. A., Mashreghi, M. F., Radbruch, A., Chang. H. D. German Rheumatism Research Center (DRFZ); 2Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany
- Benjamini, Y. and Y. Hochberg, Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)*, 1995: p. 289-300.
- Bhuiyan, M., Islam, A., Iji, P. 2010. Variation in nutrient composition and structure of high-moisture maize dried at different temperatures. *Afr J Anim Sci*, 40:3.
- Bolyen, E., et al., Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*, 2019. 37(8): p. 852-857.
- Borda-Molina, D., Zuber, T., Siegert, W., Camarinha-Silva, A., Feuerstein, D., Rodehutsord, M. 2018. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. *Poult. Sci* 98:2906–2918.
- Callahan, B.J., et al., DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*, 2016. 13(7): p. 581-3.
- Carvalho, D.C.O; Albino, L.F.T.; Rostagno, H.S. 2004. Composição química e energética de amostras de milho submetidas a diferentes temperaturas de secagem e períodos de armazenamento. *R. Bras. Zootec.* 33:358-364.
- Caporaso, J. G., C. L. Lauber, W. A. Walters, D. Berg-Lyons, J. Huntley, N. Fierer, S. M. Owens, J. Betley, L. Fraser, M. Bauer, N. Gormley, J. A. Gilbert, G. Smith, and

- 1247 R. Knight. 2012. Ultra high-throughput microbial community analysis on the
1248 Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J.* 6:1621–4.
- 1249 Choi, J.H., Kim, G.B., and Cha, C.J. 2014. Spatial heterogeneity and stability of bacterial
1250 community in the gastrointestinal tracts of broiler chickens. *Poult. Sci.* 93, 1942–
1251 1950.
- 1252 Choct. M. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: classification and
1253 function. 2015. *Anim. Prod. Sci.* 55:1360–1366.
- 1254 Clarke, S.F., Murphy, E.F., Nilaweera, K., Ross, P.R., Shanahan, F., O’Toole, P.W., and
1255 Cotter, P.D. 2012. The gut microbiota and its relationship to diet and obesity: new
1256 insights. *Gut Microbes* 3, 186–202.
- 1257 Collins, N.E., Moran Jr, E.T. and Stilborn, H.L. 2001. Influence of yellow dent corn
1258 hybrids having different kernel characteristics yet similar nutrient composition on
1259 broiler production. *J. of Ap. Poult. Res.* 10: 228-235.
- 1260 Cowieson A. J, Adeola O. 2005. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive
1261 beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poult. Sci.*
1262 84:1860–1867.
- 1263 Cowieson AJ. 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Anim.*
1264 *Feed Sci.Tech.* 119:293-305.
- 1265 Cowieson, A. J. & Ravindran, V. 2008. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets
1266 varying in nutrient density for young broilers: growth performance and
1267 digestibility of energy, minerals and amino acids. *Br. Poult. Sci.* 49:37-44.
- 1268 Cowieson A J . 2010. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/ soy-based
1269 poultry diets. *Jap Poult. Sci.* 47:1–7.
- 1270 Delmachio, I. B. 2018. Enzimas na alimentação de animais monogástricos – revisão de
1271 literatura. *Rev. Cient. Med. Vet.* 2:06-20.
- 1272 DeSantis, T.Z., et al., Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and
1273 workbench compatible with ARB. *Applied and environmental microbiology*,
1274 2006. 72(7): p. 5069-5072.
- 1275 Dongarra ML, Rizzello V, Muccio L, Fries W, Cascio A, Bonaccorsi I, Ferlazzo G. 2013.
1276 Mucosal immunology and probiotics. *Curr Allergy Asthma Rep* 13:19–26
- 1277 Douglas, G.M., et al., PICRUSt2: An improved and extensible approach for metagenome
1278 inference. 2019.

- Francisquini, J. D. A., Martins, E., Silva, P. H. F., Schuck, P., Perrone, Í. T., & Carvalho, A. F. (2017). Reação de maillard: uma revisão. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 72(1), 48-57.
- Forsyte, P., Bienenstock, j. 2010. Immunomodulation by comensal and probiotic bacteria. *Immunology investigation* 39:429-48.
- Gong, J., R. J. Forster, H. Yu, J. R. Chambers, P. M. Sabour, R. Wheatcroft, and S. Chen. 2002. 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. et al. 2007. 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. *FEMS Microbiological Ecology*, 59:147–157,
- Gilbert, C.; Acamovic, T.; Bedford, M. R. 2001. The effects of lupin inclusion with or without enzyme supplementation on the morphology of the posterior gastrointestinal tract. *Br. Poult. Sci.* 42 :1.
- Huart, F.; Malumba, P.; Odjo, S.; Al-Izzi, W.; Béra, F.; Beckers, Y. 2018. *In vitro* and *in vivo* assessment of the effect of initial moisture content and drying temperature on the feeding value of maize grain. *Br Poult Sci.* 59(4): 452-462.
- Huyghebaert, G., Ducatelle, R. Van, I. F. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Veterinary J.* 187: 182-188.
- Iji PA, Khumalo K, Slippers S, Gous RM .2003. Intestinal function and body growth of broiler chickens on diets based on maize dried at different temperatures and supplemented with a microbial enzyme. *Rep. Nut. Dev.* 43:77–90.
- Ikari, A., Nakano, M., Kawano, K. Suketa, Y. 2002. Up-regulation of sodium-dependent glucose transporter by interaction with heat shock protein 70. *J. Biolog. Chemistry* 277: 33338-33343.
- Jimenez-Moreno E., Gonzalez-Alvarado J.M., Lazaro R. Mateos G.G., 2009. Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and fiber inclusion in the diet on gizzard pH and nutrient utilization in broilers at different ages. *Poult. Sci.*, 88:1925-1933.
- Jozefiak, D., Rutkowski, A. & Martin, S.A. 2004. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113:1–15.

- 1311 Józefiak, D., Rutkowski, A., Kaczmarek, S., Jensen, B. B., Engberg, R. M., & Højberg, O.
 1312 2010. Effect of β -glucanase and xylanase supplementation of barley- and rye-
 1313 based diets on caecal microbiota of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 51:546–557
- 1314 Kaczmarek S., Józefiak D., Bochenek M., Rutkowski A., 2007. The effect of drying
 1315 temperature of maize grain on nutrient digestibility and nitrogen retention by
 1316 growing broiler chickens. In: *Proceedings of XIX International Poultry*
 1317 *Symposium PB WPSA*, Olsztyn (Poland), p. 93
- 1318 Kaczmarek, S. A., Cowieson, J., Józefiak, D., Rutkowski, A. 2013. Effect of maize
 1319 endosperm hardness, drying temperature and microbial enzyme supplementation
 1320 on the performance of broiler chickens. *Anim. Prod. Sci.* 54:956–965.
- 1321 Kaczmarek, S. A., A. Rogiewicz, M. Mogielnicka, A. Rutkowski, R. O. Jones, and B. A.
 1322 Slominski. 2014. The effect of protease, amylase, and non-starch polysaccharide-
 1323 degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth
 1324 performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *Poult. Sci.*
 1325 93:1745–1753.
- 1326 Kawano, K. Suketa, Y. 2002. Up-regulation of sodium-dependent glucose transporter by
 1327 interaction with heat shock protein 70. *J. Biol. Chem.* 277: 33338–33343.
- 1328 Knudsen. K. E. B. 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in
 1329 common crops used in broiler diets. *Poult. Sci.* 93 :2380–2393.
- 1330 Kocher, A., M. Choct, Ross, G., Broz, J., Chung, A., T. K. Effects of enzyme combinations
 1331 on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal based diets in broilers. *J.*
 1332 *Appl. Poult. Res.* 12:275–283, 2003.
- 1333 Kumar, R., Ari, T.R.K., Kumari, A., Shahi, B., Singh, K.M., Saha, S.K. 2019. Effect of
 1334 Supplementation of Non-Starch Polysaccharide Cocktail Enzyme on Performance
 1335 in Broiler. *J. AgriS.* 6:95-100.
- 1336 Lee SI et al. 2016. Assessment of cecal microbiota, integron occurrence, fermentation
 1337 responses, and *Salmonella* frequency in conventionally raised broilers fed a
 1338 commercial yeast-based prebiotic compound. *Poult. Sci.* 95:144-53.
- 1339 Lee, S.A., Apajalahti, J., Vienola, K., González-Ortiz, G., Fontes, C.M.G.A., Bedford,
 1340 M.R., 2017. Age and dietary xylanase supplementation affects ileal sugar residues
 1341 and short chain fatty acid concentration in the ileum and caecum of broiler
 1342 chickens. *Animal. Feed Sci. Tech.*

- Lozupone, C. and R. Knight, UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 2005. 71(12): p. 8228-8235.
- Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ, Lee MG. 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl Environ Microbiol* 69:6816–6824.
- Macari, M.; Maiorka, A. 2017. Fisiologia das aves comerciais. Lunedo, R., Pedroso, A. A. In: *Microbiota Intestinal. A microbiota intestinal e seus efeitos sobre a fisiologia das aves*. Jaboticabal: Funep, 806p.
- Malumba, P. K. 2015. Beckers, Y., Béra, F. Impact of drying and heat treatment on the feeding value of corn. A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 19:301-312.
- Martínez, R. D.; Cirilo, A. G.; Cerrudo, A.; Andrade, F. H.; Reinoso, L.; Valentinuz, O. R.; Balbi, C. N.; Izquierdo, N. G. 2017. Changes of starch composition by postflowering environmental conditions in kernels of maize hybrids with diferente edosperm hardness. *Europ J Agron.* 86:71-77.
- Masey O'Neill HV, Lui N, Wang JP, Diallo A, Hill S. 2012. Effect of xylanase on performance and apparent metabolisable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. *Asian-Aust J Anim Sci.* 25:515–523.
- Mathlouthi, N., Mallet, S., Saulnier, L., Quemener, B., Larbier, M., 2002. Effects of xylanase and beta-glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. *Anim. Res.* 51:395-406.
- Messaoudi M et al. 2011. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *British Journal Nutrition* 105:755-64.
- Métayer J.P., Debicki-Garnier A.-M. & Skiba F., 2009. Le Promatest: un bon indicateur de la qualité du séchage et de la valeur alimentaire du maïs grain chez les volailles. In: *Huitièmes Journées de la Recherche Avicole*, 25-26 mars, St Malo, France.
- Mohd, S. M. 2015. Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16 s rRNA metagenomics analyses. *Gut Pathogens.* 7:4.
- Mu, C., Yang, Y., Zhu, W. 2016. Gut microbiota: the brain peacekeeper. *Front Microbiol.* 7(22):345.

- 1376 Musch, M. W., Bookstein, C., Xie, Y., Sellin, J. H., Chang, F. B. 2001. SCFA increase
1377 intestinal Na absorption by induction of NHE3 in rat colon and human intestinal
1378 C2/ bbe cells. American J. Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology 280:
1379 G687-G693.
- 1380 Munyaka, P.M., Nandha, N. K., Kiarie, E., Nyachoti, C. M., Khafipou, E. 2015. Impact of
1381 combined β -glucanase and xylanase enzymes on growth performance, nutrients
1382 utilization and gut microbiota in broiler chickens fed corn or wheat-based diets.
1383 Poult. Sci. 00:1–13
- 1384 Odjo S. et al., 2012. Influence of drying and hydrothermal treatment of corn on the
1385 denaturation of salt-soluble proteins and color parameters. J. Food Eng., 109:561-
1386 570.
- 1387 Odjo S.D.P., Malumba, P. K., Beckers, Y., Béra, F. 2015. Impact of drying and heat
1388 treatment on the feeding value of corn. A review. Biotechnol. Agron.
1389 Soc. Environ. 19:301-312.
- 1390 Pedroso A.A., Lee, M.D. 2015. Intestinal health: The composition and role of the
1391 microbiota in chickens. Wageningen Academic Publishers, 21 T.A. Niewold (ed.).
- 1392 Pedroso AA et al. 2016. Effects of in ovo administration of adult derived microbiota on
1393 establishment of a beneficial microbiome in chickens American Journal of
1394 Veterinary Research 77:514-526.
- 1395 Razin S (1985) Molecular biology and genetics of mycoplasmas (Mollicutes). Microbiol
1396 Rev 49(4):419–455
- 1397 Rehman, H. U., Vahjen, W., Awad, W. A., & Zentek, J. 2007. Indigenous bacteria and
1398 bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens.
1399 Archives of Animal Nutrition, 61:319–335.
- 1400 Romero, L. F., C. M. Parsons, P. L. Utterback, P. W. Plumstead, and V. Ravindran. 2013.
1401 Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal
1402 digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers. Anim. Feed
1403 Sci. Technol. 181:35–44.
- 1404 Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hanas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura. N. K., Perazzo,
1405 F. G., Sairaiva, A., Abreu, M. L. T., Rodrigues, P.B., Oliveira, R., Barreto, S. L.
1406 T., Brito, C. O. 2017. Composição de alimentos e exigências nutricionais (4 ed.).
1407 Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- 1408 SAS Institute Inc. 2013. Using JMP 11. SAS Institute Inc., Cary, NC.

- 1409 Sakomura, N.K.; Rostagno, H.S. 2007. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos.
1410 Jaboticabal: Funep, 283p.
- 1411 Sakomura, N. K., & Rostagno, H. S. 2016. Métodos de pesquisa em nutrição de
1412 monogástricos, 2nd ed. (p. 262). Jaboticabal, Brasil: Funep Ikari, A., Nakano, M.,
1413 Sergeant MJ, Constantinidou C, Cogan TA, Bedford MR, Penn CW & Pallen MJ. 2014.
1414 Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome.
1415 PLoS One 9: e91941.
- 1416 Shuang Xing, Xuejie Wang, Huajie Diao, Minhong Zhang, Ying Zhou, e Jinghai Feng.
1417 2019. Changes in the cecal microbiota of laying hens during heat stress is mainly
1418 associated with reduced feed intake. Poultry Science 98:5257–5264.
- 1419 Singh K et al. 2012. High through put 16S rRNA gene-based pyrosequencing analysis of
1420 the fecal microbiota of high FCR and low FCR broiler growers. Molecular
1421 Biology Reports 39:10595-10602.
- 1422 Singh, Y., V. Ravindran, T. Wester, A. Molan, and G. Ravindran. 2014. Influence of
1423 feeding coarse corn on performance, nutrient utilization, digestive tract
1424 measurements, carcass characteristics, and cecal microflora counts of broilers.
1425 Poult. Sci. 93:607–616.
- 1426 Slominski, B. 2011. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. Poult. Sci.
1427 90:2013-2023.
- 1428 Stanely D. et al. 2012. Intestinal microbiota associated with differential feed conversion
1429 efficiency in chickens. Applied Microbiology and Biotechnology 96:1361-1369.
- 1430 Stanley, D., Geier, M.S., Denman, S.E., Haring, V.R., Crowley, T.M., Hughes, R.J., and
1431 Moore, R.J. 2013. Identification of chicken intestinal microbiota correlated with
1432 the efficiency of energy extraction from feed. Veterinary Microbiology 164: 85-
1433 92.
- 1434 Tehrani AB et al. 2012. Obesity and its associated disease: a role for microbiota?
1435 Neurogastroenterology Motility 24:305-11.
- 1436 Torok, V. A., R. J. Hughes, L. L. Mikkelsen, R. Perez-Maldonado, K. Balding, R.
1437 Macalpine, N. J. Percy, A. N., K. Ophel-Keller. 2011. Identification and
1438 characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler
1439 chickens across various feeding trials. Appl. Environ. Microbiol. 77:5868–5878.

- 1440 Van Keulen, J. Y. B. A., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a
1441 natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2),
1442 282-287.
- 1443 Warwick, R., and K. Clarke. 2006. PRIMER 6. PRIMER-E Ltd, Plymouth.
- 1444 Yin, D., X. Yin, X. Wang, Z. Lei, M. Wang, Y. Guo, S. E. Aggrey, W. Nie, and
1445 J. Yuan. 2018. Supplementation of amylase combined with glucoamylase or protease
1446 changes intestinal microbiota diversity and benefits for broilers fed a diet of newly
1447 harvested corn. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 9:24.
- 1448 Zhang, L., Xu, J., Lei, L., Jiang, Y., Gao, F., Zhou, G.H., 2014. Effects of xylanase
1449 supplementation on growth performance, nutrient digestibility and non-starch
1450 polysaccharide degradation in different sections of the gastrointestinal tract of
1451 broilers fed wheat-based diets. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27:855-861.
- 1452



1460

1461

1462 Tabela 1. Composição das rações experimentais (1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias de idade)

Ingredientes (g/kg)	1 a 7 dias	8 a 21 dias	22 a 42 dias
Milho	585	623	668
Farelo de soja (46%)	348	317	268
Óleo de soja	15,2	15,8	25,8
Calcário	11,4	10,9	9,54
Fosfato monobásico	17,9	14,1	10,99
NaCl	5,07	4,81	4,49
Sulfato de Lisina (50,7%)	5,43	4,26	4,04
DL-Metionina (99%)	4,03	3,26	2,81
L-Treonina (99%)	1,80	1,22	0,97
L-Valina	1,42	0,81	0,71
Cloreto de colina (60%)	0,60	0,60	0,60
Suplemento Vitamínico ¹	1,50	1,50	1,50
Suplemento Mineral ²	0,50	0,50	0,50
Antioxidante ³	0,20	0,20	0,20
Promotor de crescimento ⁴	0,05	0,05	0,05
Anticoccidiano ⁵	0,60	0,60	0,60
Inerte ⁶	0,40	0,40	0,40
Total	100,000	100,000	100,000
Valores Calculados			
EM (kcal kg ⁻¹)	2950	3000	3125
Proteína Bruta (%)	22,20	20,80	18,75
Cálcio (%)	0,920	0,819	0,685
Fósforo disponível (%)	0,470	0,391	0,320
Lisina digestível (%)	1,310	1,174	1,044
Met + Cis digestível (%)	0,944	0,843	0,762
Treonina digestível (%)	0,852	0,763	0,678
Triptofano digestível (%)	0,223	0,214	0,188
Cloro (%)	0,354	0,340	0,321
Sódio (%)	0,220	0,210	0,197
Potássio (%)	0,903	0,849	0,760

1463 ¹Suplemento vitamínico para aves, níveis de garantia por quilograma da dieta: vitamina A (min) 900000,00
1464 UI, vitamina D3 (min) 2500000,00 UI, vitamina E (min) 20000,00 UI, vitamina K3 (min) 2500,00 mg,
1465 vitamina B1 (min) 1500,00 mg, vitamina B2 (min) 6000,00 mg, vitamina B6 (min) 3000,00 mg, vitamina
1466 B12 (min) 12000,000 mg, ácido pantotênico (min) 12 g, niacina (min) 25g, ácido fólico(min) 800,00 mg,
1467 biotina (min) 60,0 mg, selênio(min) 250,0 mg. ²Suplemento mineral para aves, níveis de garantia por
1468 quilograma do produto: cobre (min) 20g, ferro (min) 100g, manganês (min) 160g, cobalto (min) 2000,0 mg,
1469 iodo (min) 2000,0 mg, zinco (min) 100g. ³BHT; ⁴Avilamicina; ⁵Salinomicina Sódica; ⁶O blend enzimático
1470 (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em
1471 substituição ao inerte (Caulim®). Todas as dietas experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase.
1472

1473 Tabela 2. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas e com
 1474 ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	1 a 7 dias			1 a 21 dias			1 a 42 dias		
	GP (g)	CMR (g)	CA	GP (g)	CMR (g)	CA	GP (g)	CMR (g)	CA
Híbridos									
1	117,495	153,166	1,306	797,354	1087,403	1,364	2832,968	4575,400AB	1,615
2	117,662	152,186	1,295	793,441	1079,740	1,362	2806,430	4552,362B	1,623
3	117,165	151,788	1,297	801,371	1095,175	1,367	2862,573	4640,442A	1,622
Temperatura (°C)									
80	117,609	153,046	1,305	800,892	1096,149 A	1,370b	2838,502	4603,914	1,622
110	117,264	151,705	1,294	793,894	1078,710b	1,359a	2829,913	4575,314	1,617
Enzima									
Sem	115,425B	153,554	1,332 A	782,290 B	1083,827	1,386 A	2824,673	4587,858	1,625
Com	119,415A	151,231	1,267 B	812,281A	1091,128	1,343 B	2843,645	4591,602	1,615
EPM	0,460	0,842	0,009	2,653	2,968	0,004	9,749	14,541	0,003
p ANOVA									
Híbrido	0,888	0,786	0,835	0,323	0,081	0,713	0,070	0,036	0,568
Temperatura	0,684	0,422	0,529	0,107	0,002	0,045	0,637	0,298	0,380
Enzima	< 0,0001	0,183	0,0002	< 0,0001	0,181	< 0,0001	0,323	0,848	0,115
Híbrido X Enzima	0,588	0,709	0,986	0,776	0,935	0,382	0,925	0,772	0,825
Híbrido X Temperatura	0,307	0,086	0,073	0,292	0,093	0,0001	0,678	0,138	0,223
Enzima X Temperatura	0,303	0,229	0,024	0,123	0,702	0,072	0,547	0,656	0,040
Híbrido X Enzima X Temperatura	0,342	0,878	0,399	0,748	0,909	0,843	0,816	0,871	0,625

1475 GP = ganho de peso; CMR = consumo médio de ração; CA = conversão alimentar; EPM = erro padrão da média; Blend enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de
 1476 protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim®). Todas as dietas experimentais continham 1000
 1477 FTU/kg de fitase
 1478

Tabela 3. Desdobramento da interação enzima x temperatura para a variável conversão alimentar de 1 a 7 dias e para conversão alimentar de 1 a 42 dias.

Enzima	Conversão alimentar (1 a 7 dias)		Conversão alimentar (1 a 42 dias)	
	80 °C	110 °C	80 °C	110 °C
Sem	1,356Aa	1,308Aa	1,633Aa	1,616Ab
Com	1,254Ba	1,281Aa	1,612Ba	1,619Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas e minúsculas distintas, na coluna e na linha, respectivamente, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); Blend enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim®). Todas as dietas experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase.

Tabela 4. Desdobramento da interação híbrido x temperatura para a variável conversão alimentar de 1 a 21 dias.

Híbrido	Temperatura (°C)	
	80	110
1	1,371Aa	1,357ABa
2	1,380Aa	1,342Bb
3	1,358Aa	1,377Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas e minúsculas distintas, na coluna e na linha, respectivamente, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

1491 Tabela 5 - Altura de vilo (μm), profundidade de cripta (μm), relação altura de
 1492 vilo:profundidade de cripta e área de absorção (μm^2) do jejuno de frangos de corte
 1493 alimentados com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas
 1494 e com ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	21 dias				42 dias			
	AV	PC	V:C	AA	AV	PC	V:C	AA
Híbridos								
1	712,37	66,98	10,88	13,89	744,48	68,64	11,31	13,06
2	704,75	65,63	11,03	14,48	788,23	72,32	11,49	13,20
3	725,00	65,53	11,43	14,91	721,76	70,34	10,82	12,80
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)								
80	712,01	66,97a	10,90b	14,12	764,24	70,96	11,27	13,34a
110	716,16	65,06b	11,35 ^a	14,79	736,17	70,06	11,10	12,63b
Enzima								
Sem	686,83b	69,37a	10,07b	13,57b	768,59	69,77	11,49	13,64a
Com	738,79a	63,05b	12,11 ^a	15,32a	734,03	71,28	10,90	12,40b
EPM	9,107	0,830	0,183	0,216	15,901	1,169	0,271	0,240
p ANOVA								
Híbrido	0,652	0,735	0,451	0,165	0,243	0,661	0,417	0,901
Temperatura	0,685	0,017	0,040	0,072	0,250	0,460	0,818	0,048
Enzima	0,001	0,001	0,000	0,001	0,354	0,346	0,584	0,015
Híbrido X Enzima	0,048	0,254	0,852	0,066	0,767	0,448	0,118	0,920
Híbrido X Temperatura	0,155	0,172	0,006	0,308	0,340	0,092	0,031	0,023
Enzima X Temperatura	0,173	0,733	0,201	0,544	0,748	0,025	0,008	0,334
Híbrido X Enzima X Temperatura	0,091	0,352	0,724	0,633	0,718	0,287	0,398	0,135

1495 AV – Altura de vilo; PC – Profundidade de Cripta; V:C – Relação altura de vilo:profundidade de cripta; AA
 1496 – Área de absorção; Blend enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e
 1497 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim[®]). Todas as dietas
 1498 experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase.
 1499

1500 Tabela 6 - Desdobramento da interação híbrido x enzima para a variável altura de vilo aos
 1501 21 dias.

Enzima	Híbrido 1	Híbrido 2	Híbrido 3
Com	753,68aA	725,05B	737,17B
Sem	642,15bB	680,09AB	716,89A

1502 Letras minúsculas diferem entre si na coluna e letras maiúsculas diferem entre si nas linhas. Blend
 1503 enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi
 1504 adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim[®]). Todas as dietas experimentais continham 1000
 1505 FTU/kg de fitase.
 1506

Tabela 7 - Desdobramento da interação híbrido x temperatura para a variável relação altura de vilo:profundidade de cripta aos 21 dias.

Temperatura (°C)	Híbrido 1	Híbrido 2	Híbrido 3
80	10,94	10,97	10,82b
110	10,81B	11,08B	12,27aA

Letras minúsculas diferem entre si na coluna e letras maiúsculas diferem entre si nas linhas.

Tabela 8 - Desdobramento da interação híbrido x temperatura para as variáveis relação altura de vilo:profundidade de cripta e área de absorção (μm^2) aos 42 dias.

Híbrido	80°C		110°C	
	V:C	V:C	AA	AA
1	12.27aA	10.26B	13.92aA	12.12B
2	11.58ab	11.40	14.00aA	12.40B
3	10.32b	11.53	12.38b	13.42

V:C – Relação altura de vilo:profundidade de cripta; AA – Área de absorção; Letras minúsculas diferem entre si na coluna e letras maiúsculas diferem entre si nas linhas.

Tabela 9 - Desdobramento da interação enzima x temperatura para as variáveis profundidade de cripta (μm) e relação altura de vilo:profundidade de cripta aos 42 dias.

Enzima	80°C		110°C	
	PC	PC	V:C	V:C
Com	74.83aA	67.74B	10.29b	11.51
Sem	67.44bB	72.92A	12.16a	10.63

PC – Profundidade de Cripta; V:C – Relação altura de vilo:profundidade de cripta; Letras minúsculas diferem entre si na coluna e letras maiúsculas diferem entre si nas linhas. Blend enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim®). Todas as dietas experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase.

Tabela 10. Predominância de filos, classes e ordens bacterianas encontradas no ceco de frangos de corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	Com enzima		Sem enzima		P valor
	Média	Intervalo	Média	Intervalo	
Filo					
Actinobacteria	0,38	0,24-0,92	0,64	0,29-1,40	0,161
Bacteroidetes	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
Firmicutes	94,83	92,26-97,98	96,49	91,77-97,35	0,863
Proteobacteria	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,89	0,262
Tenericutes	2,06	0,23-3,95	0,98	0,13-2,20	0,014
Verrucomicrobia	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813
Classe					
Coriobacteriia	0,38	0,24-0,92	0,61	0,29-1,40	0,162
Bacteroidia	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
Bacilli	14,33	7,07-25,63	7,17	2,55-14,87	0,032
Clostridia	80,66	69,62-85,41	88,22	75,33-90,56	0,094
Erysipelotrichi	0,98	0,41-3,30	1,85	0,62-3,30	0,489
Gammaproteobacteria	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,87	0,262
Mollicutes	2,06	0,23-3,95	0,98	0,13-2,20	0,014
Verrucomicrobiae	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813
Ordem					
Coriobacteriales	0,38	0,24-0,92	0,61	0,29-1,40	0,162
Bacteroidales	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
Bacillales	0,11	0,02-0,16	0,06	0,00-0,18	0,230
Lactobacillales	14,26	6,99-25,52	7,08	2,49-14,87	0,040
Clostridiales	80,66	69,62-85,41	88,22	75,33-90,56	0,094
Erysipelotrichales	0,98	0,41-3,30	1,85	0,62-3,30	0,489
Enterobacteriales	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,87	0,262
Anaeroplasmatales	0,19	0,03-0,64	0,00	0,00-0,84	0,025
RF39	1,82	0,20-3,76	0,80	0,13-2,20	0,014
Verrucomicrobiales	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813

1539 Tabela 11. Predominância de famílias bacterianas encontradas no ceco de frangos de
 1540 corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	Com enzima		Sem enzima		P valor
	Média	Intervalo	Média	Intervalo	
Coriobacteriaceae	0,38	0,24-0,92	0,61	0,29-1,4	0,162
Rikenellaceae	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
Bacillaceae	0,11	0,02-0,16	0,06	0,00-0,18	0,230
Enterococcaceae	0,00	0,00-0,12	0,06	0,00-0,18	0,116
Lactobacillaceae	12,59	6,51-23,83	6,43	1,14-14,63	0,040
Streptococcaceae	0,94	0,00-2,61	0,94	0,00-2,52	0,913
o__Clostridiales;__	0,17	0,00-0,96	0,79	0,07-1,75	0,154
o__Clostridiales;f__	8,78	5,86-15,53	8,31	5,03-12,94	0,605
Christensenellaceae	0,00	0,00-0,12	0,00	0,00-0,06	0,294
Clostridiaceae	1,09	0,47-1,57	1,34	0,36-1,94	0,436
Dehalobacteriaceae	0,16	0,00-0,37	0,00	0,00-0,23	0,124
Eubacteriaceae	0,02	0,00-1,04	0,00	0,00-0,15	0,283
Lachnospiraceae	17,59	6,16-38,8	28,28	18,38-59,5	0,040
Ruminococcaceae	49,69	37,88-56,05	43,86	22,35-59,61	0,387
[Mogibacteriaceae]	0,05	0,00-0,15	0,00	0,00-0,12	0,071
Erysipelotrichaceae	0,98	0,41-3,30	1,85	0,62-3,30	0,489
Enterobacteriaceae	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,87	0,262
Anaeroplasmataceae	0,19	0,03-0,64	0,00	0,00-0,84	0,025
o__RF39;f__	1,82	0,20-3,76	0,80	0,13-2,20	0,014
Verrucomicrobiaceae	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813

1541
 1542

1543 Tabela 12. Predominância de gêneros bacterianos encontrados no ceco de frangos de
 1544 corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	Com enzima		Sem enzima		P valor
	Média	Intervalo	Média	Intervalo	
f__Coriobacteriaceae;__	0,33	0,18-0,92	0,56	0,29-1,33	0,094
f__Coriobacteriaceae;g__	0,05	0,00-0,13	0,00	0,00-0,17	0,855
f__Rikenellaceae;g__	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
f__Bacillaceae;__	0,11	0,02-0,16	0,04	0,00-0,18	0,098
<i>Enterococcus</i>	0,00	0,00-0,12	0,06	0,00-0,18	0,116
<i>Lactobacillus</i>	12,59	6,51-23,83	6,43	1,14-14,63	0,040
<i>Streptococcus</i>	0,94	0,00-2,61	0,94	0,00-2,52	0,913
o__Clostridiales;__;__	0,17	0,00-0,96	0,79	0,07-1,75	0,154
o__Clostridiales;f__;g__	8,78	5,86-15,53	8,31	5,03-12,94	0,605
f__Christensenellaceae;g__	0,00	0,00-0,12	0,00	0,00-0,06	0,294
f__Clostridiaceae;__	0,18	0,00-0,35	0,00	0,00-0,65	0,160
f__Clostridiaceae;g__	0,09	0,00-0,15	0,09	0,00-0,13	0,806
<i>Candidas Arthromitus</i>	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,17	0,082
<i>Clostrium</i>	0,78	0,00-1,35	1,24	0,15-1,77	0,340
f__Dehalobacteriaceae;g__	0,16	0,00-0,37	0,00	0,00-0,23	0,124
<i>Pseudoramibacter_Eubacterium</i>	0,00	0,00-1,04	0,00	0,00-0,15	0,188
f__Lachnospiraceae;__	0,68	0,00-2,8	2,03	0,40-5,68	0,108
f__Lachnospiraceae;g__	5,79	0,73-29,5	6,39	1,99-20,07	0,863
<i>Blautia</i>	3,07	1,78-6,06	4,53	3,26-8,08	0,094
<i>Coprococcus</i>	0,43	0,08-0,98	0,75	0,00-1,99	0,156
<i>Dorea</i>	0,54	0,24-1,19	0,83	0,42-1,22	0,063
[<i>Ruminococcus</i>]	5,24	2,09-9,15	12,85	6,57-24,19	0,0002
f__Ruminococcaceae;__	0,44	0,19-1,23	0,37	0,05-1,21	0,730
f__Ruminococcaceae;g__	26,59	19,8-38,31	20,73	10,33-50,09	0,308
<i>Faecalibacterium</i>	4,75	0,51-18,85	3,28	0,33-20,08	0,730
<i>Oscillospira</i>	3,69	2,78-6,30	3,48	2,34-5,32	0,605
<i>Ruminococcus</i>	9,48	4,98-15,63	6,80	3,37-16,07	0,077
f__[Mogibacteriaceae];g__	0,05	0,00-0,15	0,00	0,00-0,12	0,071
f__Erysipelotrichaceae;__	0,10	0,00-0,23	0,13	0,00-0,48	0,265
f__Erysipelotrichaceae;g__	0,64	0,20-2,46	1,33	0,34-2,4	0,863
<i>Coprobacillus</i>	0,24	0,05-0,65	0,35	0,2-0,79	0,231
f__Enterobacteriaceae;g__	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,87	0,262
<i>Anaeroplasma</i>	0,19	0,03-0,64	0,00	0,00-0,84	0,025
o__RF39;f__;g__	1,82	0,20-3,76	0,80	0,13-2,2	0,014
<i>Akkermansia</i>	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813

1545

1546

1547 Tabela 13. Predominância de espécies bacterianas encontradas no ceco de frangos de
 1548 corte, aos 21 dias de idade, alimentados com ou sem inclusão *on top* de blend enzimático.

	Com enzima		Sem enzima		P valor
	Média	Intervalo	Média	Intervalo	
f__Coriobacteriaceae;__;__	0,33	0,18-0,92	0,56	0,29-1,33	0,094
f__Coriobacteriaceae;g__;s__	0,05	0,00-0,13	0,00	0,00-0,17	0,855
f__Rikenellaceae;g__;s__	1,58	0,87-2,48	2,01	0,00-4,64	0,286
f__Bacillaceae;__;__	0,11	0,02-0,16	0,04	0,00-0,18	0,098
g__Enterococcus;s__	0,00	0,00-0,12	0,06	0,00-0,18	0,116
g__Lactobacillus;__	0,33	0,00-2,75	0,00	0,00-0,64	0,131
g__Lactobacillus;s__	11,40	6,51-23,24	6,43	1,14-13,99	0,040
g__Streptococcus;s__	0,89	0,00-2,61	0,94	0,00-2,52	0,876
o__Clostridiales;__;__;__	0,17	0,00-0,96	0,79	0,07-1,75	0,154
o__Clostridiales;f__;g__;s__	8,78	5,86-15,53	8,31	5,03-12,94	0,605
f__Christensenellaceae;g__;s__	0,00	0,00-0,12	0,00	0,00-0,06	0,294
f__Clostridiaceae;__;__	0,18	0,00-0,35	0,00	0,00-0,65	0,160
f__Clostridiaceae;g__;s__	0,09	0,00-0,15	0,09	0,00-0,13	0,806
g__Candidatus Arthromitus;s__	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,17	0,082
g__Clostridium;s__	0,78	0,00-1,35	1,24	0,15-1,77	0,340
f__Dehalobacteriaceae;g__;s__	0,16	0,00-0,37	0,00	0,00-0,23	0,124
g__Pseudoramibacter_Eubacterium;s__	0,00	0,00-1,04	0,00	0,00-0,15	0,188
f__Lachnospiraceae;__;__	0,68	0,00-2,8	2,03	0,40-5,68	0,108
f__Lachnospiraceae;g__;s__	5,79	0,73-29,5	6,39	1,99-20,07	0,863
g__Blautia;__	0,19	0,00-1,9	0,38	0,00-1,25	0,907
g__Blautia;s__	3,07	1,15-5,08	3,84	2,88-7,90	0,050
g__Coprococcus;s__	0,43	0,08-0,98	0,75	0,00-1,99	0,156
g__Dorea;s__	0,54	0,24-1,19	0,83	0,42-1,22	0,063
g__[Ruminococcus];s__	5,24	2,09-7,74	10,66	6,57-24,19	0,001
f__Ruminococcaceae;__;__	0,44	0,19-1,23	0,37	0,05-1,21	0,730
f__Ruminococcaceae;g__;s__	26,50	19,8-38,31	20,73	10,33-50,09	0,308
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	4,75	0,51-18,85	3,28	0,33-20,08	0,730
g__Oscillospira;s__	3,69	2,78-6,3	3,48	2,34-5,32	0,605
g__Ruminococcus;s__	9,48	4,98-15,63	6,80	3,37-16,07	0,077
f__[Mogibacteriaceae];g__;s__	0,05	0,00-0,15	0,00	0,00-0,12	0,071
f__Erysipelotrichaceae;__;__	0,10	0,00-0,23	0,13	0,00-0,48	0,265
f__Erysipelotrichaceae;g__;s__	0,64	0,20-2,46	1,33	0,34-2,40	0,863
g__Coprobacillus;s__	0,24	0,05-0,65	0,35	0,20-0,79	0,231
f__Enterobacteriaceae;g__;s__	0,07	0,00-0,31	0,12	0,00-2,87	0,262
g__Anaeroplasma;s__	0,19	0,03-0,64	0,00	0,00-0,84	0,025
o__RF39;f__;g__;s__	1,82	0,20-3,76	0,80	0,13-2,20	0,014
<i>Akkermansia muciniphila</i>	0,16	0,00-3,68	0,35	0,00-1,41	0,813

1549

1550

1551

1552 Tabela 14. Valores médios de energia digestível e dos coeficientes de digestibilidade da
 1553 matéria seca, proteína e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados
 1554 com dietas contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e
 1555 com inclusão ou sem de blend enzimático.

	Energia Digestível (kcal/kg)	CDMS (%)	CDPB (%)	CDMM(%)
Híbridos				
1	2970	65,02	70,18	34,9
2	2990	65,68	70,91	39,8
3	2918	64,63	65,98	37,2
Temperatura (°C)				
80	2992	66,00	69,71	37,6
110	2930	64,27	68,45	37,0
Enzima				
Sem	2832	62,18	65,86	31,7
Com	3085	67,99	72,20	42,8
EPM	24,393	0,548	0,614	1,154
p ANOVA				
Híbrido	0,195	0,5523	< 0,0001	0,1120
Temperatura	0,0453	0,0122	0,2058	0,8273
Enzima	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Híbrido X Enzima	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,6780
Híbrido X Temperatura	0,0001	0,0003	0,3854	0,0254
Enzima X Temperatura	0,0003	0,0002	0,3346	0,9708
Híbrido X Enzima X Temperatura	< 0,0001	< 0,0001	0,0424	< 0,0001

1556 CDMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB = coeficiente de
 1557 digestibilidade da proteína bruta; CDMN = coeficiente de digestibilidade da matéria
 1558 mineral; EPM = erro padrão da média

1559 Tabela 15. Desdobramento da interação (enzima/híbrido e temperatura) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg⁻¹) e os coeficientes de
 1560 digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo
 1561 diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.
 1562

Híbrido	Energia digestível				CDMS (%)				CDPB (%)				CDMM (%)			
	80°C		110°C		80°C		110°C		80°C		110°C		80°C		110°C	
	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM
1	2976a	2838a	2980a	3084a	65,28a	62,50a	64,72b	67,58a	71,67a	68,37a	68,08b	72,59a	38,10a	36,08a	22,65b	42,65a
2	2865b	3255a	2799b	3025a	63,02b	71,97a	61,26b	66,18a	67,85b	76,42a	66,48b	72,54a	30,41b	52,27a	37,01a	38,60a
3	2915b	3086a	2465b	3223a	64,85a	68,18a	54,34b	71,56a	60,84b	72,21b	59,92b	71,06a	26,69b	40,57a	34,54b	46,27a

1563 CDMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB = coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDMN = coeficiente de digestibilidade da matéria
 1564 mineral; Letras

1565 Tabela 16. Desdobramento da interação (temperatura/enzima e híbrido) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg⁻¹) e os coeficientes de
 1566 digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo
 1567 diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.
 1568

Híbrido	Energia digestível				CDMS (%)				CDPB (%)				CDMM (%)			
	SEM		COM		SEM		COM		SEM		COM		SEM		COM	
	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C	80°C	110°C
1	2976a	2980a	2838b	3084a	65,28a	64,72a	62,50b	67,58a	71,67a	68,08b	68,36a	72,59a	38,10a	22,65b	36,08a	42,65a
2	2865a	2799a	3255a	3025b	63,01a	61,26a	71,97a	66,18b	67,85a	66,48a	76,42a	72,54b	30,41a	37,01a	52,27a	38,60b
3	2915a	2465b	3086a	3223a	64,85a	54,34b	68,18a	71,56a	60,84a	59,92a	72,21a	71,06a	26,69a	34,54a	40,57a	46,27a

1569 CDMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB = coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDMN = coeficiente de digestibilidade da matéria
 1570 mineral

1571

1572

1573 Tabela 17. Desdobramento da interação (híbrido/temperatura e enzima) para as variáveis de energia digestível (kcal.kg^{-1}) e os coeficientes de
 1574 digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e matéria mineral determinados com frangos de corte alimentados com dietas contendo
 1575 diferentes híbridos de milho, secos em duas diferentes temperaturas e com inclusão ou sem de blend enzimático.
 1576

Híbrido	Energia digestível				CDMS (%)				CDPB (%)				CDMM (%)			
	80°C		110°C		80°C		110°C		80°C		110°C		80°C		110°C	
	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM
1	2976a	2838b	2980a	3084ab	65,28a	62,50b	64,72a	67,58b	71,67a	68,36b	68,08a	72,59a	38,10a	36,08b	22,65b	42,65a
2	2865a	3255a	2799a	3025b	63,02a	71,97a	61,26a	66,18b	67,85b	76,42a	66,48ab	72,54a	30,41ab	52,27a	37,01a	38,60a
3	2915a	3086a	2465b	3223a	64,85a	68,18a	54,34b	71,56a	60,84c	72,21ab	59,92b	71,06a	26,69b	40,56b	34,54a	46,27a

1577 CDMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB = coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDMN = coeficiente de digestibilidade da matéria
 1578 mineral

1579 Tabela 18 – Rendimento de carcaça (%), rendimento de cortes (%) e porcentagem de
 1580 gordura abdominal (%) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, alimentados com dietas
 1581 contendo diferentes híbridos de milho, secos em duas temperaturas e com ou sem inclusão
 1582 *on top* de blend enzimático.

	Carcaça	Peito	Perna	Asa	Gordura
Híbridos					
1	77,07	37,14	27,10	9,27	4,38
2	77,42	37,35	27,19	9,22	4,26
3	77,43	37,17	27,31	9,18	4,20
Temperatura (°C)					
80	77,42	37,45	27,10	9,27	4,30
110	77,19	36,98	27,30	9,17	4,25
Enzima					
Sem	77,26	37,38	26,97b	9,21	4,36a
Com	77,34	37,05	27,42a	9,24	4,20b
EPM	1,729	4,169	3,714	3,507	8,868
p ANOVA					
Híbrido	0,468	0,818	0,683	0,500	0,120
Temperatura	0,380	0,108	0,298	0,112	0,516
Enzima	0,763	0,263	0,022	0,665	0,025
Híbrido X Enzima	0,721	0,218	0,321	0,893	0,755
Híbrido X Temperatura	0,794	0,067	0,838	0,070	0,892
Enzima X Temperatura	0,675	0,448	0,069	0,207	0,931
Híbrido X Enzima X Temperatura	0,798	0,280	0,978	0,622	0,580

1583 EPM = erro padrão da média; Blend enzimático utilizado foi (15000 PROT/kg de protease, 80 KNU/kg de
 1584 amilase e 100 FXU/kg de xilanase) foi adicionado as rações em substituição ao inerte (Caulim®). Todas as
 1585 dietas experimentais continham 1000 FTU/kg de fitase.
 1586