

ADIÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEO E FENO DE ALFAFA À DIETA DE LEITÕES DESMAMADOS SOBRE A MICROBIOTA E A MORFOLOGIA DO INTESTINO DELGADO¹

FABIO ENRIQUE LEMOS BUDIÑO², JOEL ALBERTO PREZZI³, DANIELA JUNQUEIRA RODRIGUES³, RENATO PACHECO MONFERDINI³, SIMONE MIYASHIRO⁴, IVANI POZAR OTSUK²

¹Parte de dissertação de Mestrado do segundo autor. FAPESP (09/06281-6). Recebido para publicação em 02/08/12. Aceito para publicação em 20/12/12.

²Instituto de Zootecnia (IZ), Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA), Rua Heitor Pentead, 56, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil. E-mail: fbudino@iz.sp.gov.br

³Programa de Pós-graduação em Produção Animal Sustentável, IZ, APTA, SAA, Rua Heitor Pentead, 56, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil.

⁴Instituto Biológico (IB), APTA, SAA, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição do prebiótico frutoligossacarídeo (FOS) em rações contendo diferentes níveis de feno de alfafa sobre a microbiologia e morfologia intestinal de leitões desmamados. Foram utilizados 72 leitões, cruzados, de ambos os sexos, com peso inicial de $5,95 \pm 0,73$ kg, com idade aproximada de 21 dias. Foram avaliados os tratamentos: T1 - Ração basal + 0% FOS; T2 - Ração basal + 0,3% FOS; T3 - Ração com 5% de Alfafa + 0% FOS; T4 - Ração com 5% de Alfafa + 0,3% FOS; T5 - Ração com 10% de Alfafa + 0% FOS; T6 - Ração com 10% de Alfafa + 0,3% FOS. Ao final do período experimental um leitão por repetição foi abatido para a coleta de amostras para as análises de microbiologia (*Salmonella* sp. e coliformes) e morfologia intestinal (altura de vilosidades e profundidade de criptas). A análise para coliformes não apresentou diferença estatística entre os níveis de FOS e os níveis de feno de alfafa. Não foram encontradas colônias de *Salmonella* sp. nas amostras. Para profundidade de cripta não ocorreu diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Já para altura de vilosidades e a relação altura de vilosidades/profundidade de criptas, o grupo sem a adição de FOS não mostrou diferença ($P > 0,05$), porém, o grupo suplementado com 0,3% de FOS mostrou uma melhora significativa $P < 0,05$ em relação aos níveis de 5% e 10% de alfafa. Não houve influência dos tratamentos sobre a contagem de *Salmonella* sp. e *E. Coli*. Em relação à morfologia intestinal os dados para altura das vilosidades e a relação altura de vilosidades/profundidade de criptas apresentaram os melhores resultados quando na presença de FOS.

Palavras-chave: criptas, *E. Coli*, microscopia, *Salmonella*, vilosidades.

ADDITION OF FRUCTOOLIGOSACCHARIDES AND ALFALFA HAY TO THE DIET OF WEANED PIGLETS ON THE MICROBIOTA AND THE SMALL INTESTINE MORPHOLOGY

ABSTRACT: The goal of this work was to verify the effect of the fructooligosaccharide prebiotic (FOS) addition in the diet containing varying levels of alfalfa hay, on the microbiology and intestinal morphology of weaned piglets. It was used 72 piglets, crossed, both sexes, with initial weight of 5.95 ± 0.73 Kg, with approximate age of 21 days. It was evaluated the treatment: T1 - Basal feed + 0% FOS; T2 - Basal feed + 0.3% FOS; T3 - Feed with 5% of alfalfa + 0% FOS; T4 - Feed

with 5% of alfalfa + 0.3% FOS; T5 – Feed with 10% of alfalfa + 0% FOS; Feed with 10% of alfalfa + 0.3% FOS. In the end of the experimental period one piglet of each replication was slaughtered for the collection of sample aiming to analyze *Salmonella* sp. and coliformes and intestinal morphology (height of villus and depth of crypt). The analysis for coliformes didn't show statistic difference among the levels of FOS and alfalfa hay. It wasn't find *Salmonella* sp. colonies in the samples. No difference was observe in the crypt depth ($P>0.05$) among the treatments. The height of villus and the relation of height of villus per depth of crypt, the group without the addition of FOS didn't show difference ($P>0.05$), however, the group supplemented with 0.3% of FOS showed a significant improvement ($P<0.05$) related to levels of 5% and 10% of alfalfa. There was no influence of treatment on the presence of *Salmonella* sp. and *E. Coli*. Regarding intestinal morphology data for villus height and villus height ratio/crypt depth showed the best results in the presence of FOS.

Key words: crypts, *E.coli*, microscopy, *Salmonella*, villus.

INTRODUÇÃO

No período pós-desmame os leitões são submetidos a diversos fatores estressantes, que causam uma redução no crescimento. Verificam-se alterações histológicas e bioquímicas no intestino delgado, como atrofia dos vilos e hiperplasia das células das criptas e, conseqüentemente, redução na capacidade de digerir alimentos e absorver nutrientes da dieta (MACARI, 1998).

Um aditivo que pode influenciar positivamente a mucosa intestinal, por meio da alteração da microbiota, é o prebiótico frutooligossacarídeo, que pode agir estimulando o desenvolvimento das *Bifidobacterium* e dos *Lactobacillus*, as quais são conhecidas pela grande capacidade de produzirem ácido láctico e acético (BUDIÑO *et al.*, 2010). A maior produção destes ácidos promove a diminuição do pH no sistema digestório, o que provoca inibição no desenvolvimento das populações de bactérias nocivas, como *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella* sp., as quais apresentam alta sensibilidade a ambientes ácidos (MATHEW *et al.*, 1993). Além disso, a adição deste prebiótico à dieta de leitões desmamados mostrou resultados positivos sobre a estrutura do intestino delgado, aumentando a altura dos vilos e a relação vilo/crypta (SANTOS *et al.*, 2002).

Os componentes da fração fibrosa dos alimentos não digeridos pelas enzimas tissulares do organismo animal, quando presentes no trato intestinal, podem afetar diretamente as características físicas do conteúdo intestinal e, conseqüentemente, a própria morfologia e histologia dos órgãos envolvidos no processo digestivo (SHAKOURI *et al.*, 2006). Desta forma, estudos podem fornecer dados relevantes para uma estratégia alimentar e direcionar adequadamente a produção suinícola, que além de se confrontar com a crescente competição com a alimentação humana por grãos, também esbarra na limitada capacidade do trato digestivo desta espécie animal em processar material fibroso (GOMES *et al.*, 2006). Além disso, os pequenos

produtores têm, à disposição, ingredientes com maiores teores de fibra para serem utilizados na alimentação dos suínos.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a adição do prebiótico frutooligossacarídeo (FOS), quanto da utilização de dietas ricas em fibra dietética sobre a microbiologia e a morfologia do intestino delgado (duodeno) de leitões desmamados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura do Instituto de Zootecnia em Nova Odessa/SP. Foram utilizados 36 leitões, fêmeas, cruzados (LW x LD), com peso inicial de $5,95 \pm 0,73$ kg, com idade aproximada de 21 dias. Os animais ficaram alojados em baias construídas em estrutura metálica, com piso plástico vazado, instalado a 80 cm do piso do galpão. As baias tinham a dimensão de 1,00 x 2,00 m, possuíam comedouros metálicos semi-automáticos e bebedouros do tipo chupeta.

Os tratamentos utilizados foram os seguintes: T1-Ração Basal+0% de FOS, T2-Ração Basal+0,3% de FOS, T3-Ração com 5% de Alfafa+0% de FOS, T4-Ração com 5% de Alfafa+0,3% de FOS, T5-Ração com 10% de Alfafa+0% de FOS e T6-Ração com 10% de Alfafa+0,3% de FOS. O frutooligossacarídeo (FOS) utilizado continha 95% de pureza (FORTFEED® P95).

As dietas experimentais (Tabelas 1, 2 e 3) foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais propostas pelo NRC (1998) e a composição nutricional dos alimentos foi obtida de ROSTAGNO *et al.* (2000). A composição nutricional do feno de alfafa foi obtida em parte junto à empresa fornecedora (Moinho Tapajós Ltda.) e também através de um ensaio de digestibilidade conduzido previamente, a composição do núcleo foi fornecida pela empresa fabricante (Base Química Ltda.)

Tabela 1. Composição percentual e níveis nutricionais das dietas: basal, alfafa (5%) e alfafa (10%). Fase pré-inicial (21 a 28 dias de idade)

Ingredientes (%)	Basal	Alfafa 5	Alfafa 10
Alfafa (Feno)	0,000	5,000	10,000
Farelo de soja 46%	20,000	17,000	16,600
Milho grão	37,800	33,800	24,570
Açúcar	2,000	2,000	2,000
Óleo de Soja	0,200	2,000	6,500
Núcleo**	40,000	40,000	40,000
L-lisina (HCl, 78%)	-	0,120	0,166
L-treonina (98%)	-	0,040	0,080
DL-metionina (99%)	-	0,040	0,085
TOTAL	100,000	100,000	100,000

Nutrientes calculados			
Energia digestível (kcal/kg)	3.267	3.180	3.225
Proteína bruta (%)	20,822	20,095	20,148
Lisina digestível (%)	1,709	1,700	1,700
Metionina digestível (%)	0,634	0,644	0,663
Met + Cis digestível (%)	0,983	0,965	0,965
Treonina digestível (%)	1,091	1,063	1,063
Triptofano digestível (%)	0,263	0,240	0,230
Cálcio (%)	0,621	0,684	0,754
Fósforo total (%)	0,619	0,603	0,590
Sódio (%)	0,310	0,307	0,304
FDN total (%)	6,280	7,590	8,820
Incremento FDN fornecido pela alfafa (%)	0,000	1,940	3,880

*O frutoligossacarídeo foi incluído em substituição ao milho, nos tratamentos que foi testado.

**Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 3.0000 U.I.; Vit. D3 – 5500 U.I.; Vit. E – 187.5 mg; Vit. K3 – 12,5 mg; Vit. B1 – 5,0 mg; Vit. B2 – 12,50 mg; Vit. B6 7,50 mg; Vit. B12 – 100 mcg; Ac. Fólico - 1 mg; Ác. Pantotênico - 75 mg; Niacina – 125 mg; Biotina – 0,75 mg; Colina – 3000 mg; Cálcio(max) – 21 g; Fósforo(min) – 12,20 g; Flúor (max) – 122 mg; Sódio– 5,5g; Ferro – 250 mg; Cobre – 30 mg; Zinco – 250 mg; Manganês – 100 mg; Iodo – 2,48 mg; Selênio – 1mg; Cobalto – 1,88 mg; PB (min) – 18%; Lisina – 16000 mg; Metionina – 7200 mg; Treonina – 106036 mg; Lactose (min) – 20%; Palatabilizante – 500 mg; Flavorizante – 0,05%; EM – 3000 Kcal/kg; Antioxidante – 0,025%; Solubilidade do fósforo em ác cítrico a 2%(min) – 90%.

Tabela 2. Composição percentual e níveis nutricionais das dietas: basal, alfafa (5%) e alfafa (10%). Fase inicial 1 (29 a 42 dias de idade)

Ingredientes (%)	Basal	Alfafa 5	Alfafa 10
Alfafa (Feno)	0,000	5,000	10,000
Farelo de soja 46%	29,000	25,600	25,400
Milho grão	47,900	42,910	34,710
Açúcar	2,000	2,000	2,000
Óleo de Soja	1,100	4,300	7,600
Núcleo**	20,000	20,000	20,000
L-lisina (HCl, 78%)	-	0,011	0,015
L-treonina (98%)	-	0,040	0,070
DL-metionina (99%)	-	0,040	0,070
TOTAL	100,000	100,000	100,000

Nutrientes calculados			
Energia digestível (kcal/kg)	3.337	3.318	3.304
Proteína bruta (%)	21,341	20,364	20,532
Lisina digestível (%)	1,529	1,500	1,500
Metionina digestível (%)	0,561	0,565	0,581
Met + Cis digestível (%)	0,898	0,870	0,870
Treonina digestível (%)	1,020	0,980	0,980
Triptofano digestível (%)	0,280	0,254	0,245
Cálcio (%)	0,728	0,790	0,860
Fósforo total (%)	0,610	0,590	0,580
Sódio (%)	0,190	0,186	0,183
FDN total (%)	8,440	11,270	12,860
Incremento FDN fornecido pela alfafa (%)	0,000	1,940	3,880

* O frutoligossacarídeo foi incluído em substituição ao milho, nos tratamentos em que foi testado

** Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 60.000 U.I.; Vit. D3 – 11000 U.I.; Vit. E – 375 mg; Vit. K3 – 25 mg; Vit. B1– 10,0 mg; Vit. B2 – 25,0 mg; Vit. B6 15,00 mg; Vit. B12 – 200 mcg; Ac.Fólico - 2 mg; Ác.Pantotênico - 150 mg; Niacina– 250 mg; Biotina – 1,50 mg; Colina – 4000 mg; Cálcio(max) – 43,75 g; Fósforo(min) – 21,25 g; Sódio – 10,0 g; Ferro – 500 mg; Cobre – 57,50 mg; Zinco – 500 mg; Manganês – 300 mg; Iodo – 3,875 mg; Selênio – 1 mg; Cobalto – 3,75 mg; PB (min) – 21%; Lisina – 16250 mg; Metionina – 11250 mg; Treonina – 13500 mg; Lactose (min) – 20%; Sacarina sódica (min) – 0,04%; Palatabilizante – 500 mg; Ác.Fórmico (min) – 0,0085%; Ác.Fosfórico (min) – 0,0145%; Zinco – 500 mg; Ác.Pantotênico – 150mg; Solubilidade do fósforo em ác cítrico a 2%(min) – 90%.

Tabela 3. Composição percentual e níveis nutricionais das dietas: basal, alfafa (5%) e alfafa (10%). Fase inicial 2 (43-59 dias de idade)

Ingredientes (%)	Basal	Alfafa 5	Alfafa 10
Alfafa (Feno)	0,000	5,000	10,000
Farelo de soja 46%	29,600	30,000	30,200
Milho grão	63,195	56,390	48,188
Açúcar	2,000	2,000	2,000
Óleo de Soja	1,000	2,400	5,300
Núcleo**	4,000	4,000	4,000
L-lisina (HCl, 78%)	0,020	0,010	0,047
L-treonina (98%)	0,015	0,020	0,055
DL-metionina (99%)	0,170	0,180	0,210
TOTAL	100,000	100,000	100,000

Nutrientes calculados			
Energia digestível (kcal/kg)	3.419	3.315	3.282
Proteína bruta (%)	19,500	20,218	20,360
Lisina digestível (%)	1,280	1,280	1,280
Metionina digestível (%)	0,547	0,547	0,562
Met + Cis digestível (%)	0,877	0,871	0,870
Treonina digestível (%)	0,800	0,800	0,800
Triptofano digestível (%)	0,254	0,254	0,245
Cálcio (%)	0,820	0,893	0,962
Fósforo total (%)	0,593	0,592	0,583
Sódio (%)	0,185	0,184	0,181
FDN total (%)	9,900	11,340	12,530
Incremento FDN fornecido pela alfafa (%)	0,000	1,940	3,880

*O frutoligossacarídeo foi incluído em substituição ao milho, nos tratamentos em que foi testado.

** Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A – 262500 U.I.; Vit. D3 – 55000 U.I.; Vit. E – 1,875 mg; Vit. K3 – 100 mg; Vit. B1 – 50,0 mg; Vit. B2 – 125,0 mg; Vit. B6 – 75,00 mg; Vit. B12 – 1 mcg; Ac. Fólico – 10 mg; Ác. Pantoténico – 500 mg; Niacina – 1000 mg; Biotina – 5,0 mg; Colina – 10000 mg; Cálcio(max) – 183 g; Fósforo(min) – 67 g; Sódio – 36 g; Ferro – 2000 mg; Cobre – 000 mg; Zinco – 2250 mg; Manganês – 875 mg; Iodo – 17,5 mg; Selênio – 8,75 mg; Cobalto – 16,25 mg; Lisina – 7000 mg; Metionina – 5000 mg; Palatabilizante; 0,063%; Anti-oxidante – 0,125%; Solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%(min) – 90%..

Aos 59 dias de idade foi abatido um leitão de cada unidade experimental, respeitando as normas descritas no regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate (Ministério da Agricultura e Abastecimento, 2000), para a realização das análises de microbiologia e morfologia do intestino delgado (duodeno).

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto Biológico/APTA/SAA. As amostras do conteúdo do duodeno de cada leitão foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos etiquetados e conservados em gelo.

Para a análise de *Salmonella* spp., o conteúdo in-

testinal (1g) foi inoculado em tubo contendo 10 mL de água peptonada estéril e incubado em aerobiose a 37 °C/24 horas. Partes desse cultivo foram inoculadas em dois caldos seletivos enriquecedores para *Salmonella* spp. (1 ml em 10 ml de Tetrationato e 0,1 ml em 10 ml de Rappaport), que foram mantidos a 37 °C/24 horas em aerobiose. O volume de 10 µl de cada caldo seletivo foi semeado em placas contendo Agar McConkey e Agar *Salmonella-Shigella* (SS) que permitiram a identificação de colônias suspeitas de *Salmonella* spp.

A contagem de coliformes fecais foi determinada a partir da aplicação da técnica de tubos múltiplos. Suspendem-se as amostras de fezes na proporção 1:10 em água peptonada 0,1% e homogeneizadas. Foram

inoculados três tubos para cada amostra, em diluições 10-1, 10-2, 10-3, todas em triplicata, totalizando nove tubos/amostra em 9mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan. Os tubos foram incubados a 35 °C durante 24 horas, observando-se turvação e produção de gás. Dos tubos em que houve produção de gás, foi transferida alíquota da amostra com uma alça bacteriológica para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile, sendo incubada a 35 °C por 24 horas, e para o meio EC a 44,5 °C em banho-maria com agitação, durante 24 h.

Após os períodos determinados de incubação, foram efetuadas as leituras, considerando resultado positivo para coliformes totais a produção de gás a partir da fermentação da lactose no meio caldo lactosado com verde brilhante e bile. Os resultados foram anotados e posteriormente calculou-se o NMP a partir dos dados obtidos, de acordo com a tabela de cálculo de NMP com limite de confiança de 95%.

Para a análise da morfologia do intestino delgado, foram colhidas amostras com aproximadamente 1,0 cm de comprimento da porção proximal do duodeno de cada animal. Estas amostras foram abertas em sua borda mesentérica, lavadas, estendidas pela túnica serosa e fixadas em solução de formol 10% tamponado.

Depois de 24 horas na solução fixadora, as amostras foram lavadas em álcool etílico a 70 °GL e a seguir desidratadas em séries crescentes de alcoóis. Após a desidratação, foram recortadas, diafanizadas em benzol e incluídas em parafina, de modo que se obtivessem cortes longitudinais da mucosa intestinal.

Em cada lâmina histológica foram colocados seis cortes semi-seriados com aproximadamente 5 µm de espessura e corados segundo a técnica da hematoxilina de Harris-eosina.

Com as lâminas prontas, foram efetuadas 30 medidas de altura das vilosidades (ALTVILOS) e 30 de profundidade das criptas (PROFCRIP) para cada segmento do duodeno coletado, o que possibilitou a obtenção da relação ALTVILOS/PROFCRIP do duodeno de cada animal.

As medidas de ALTVILOS foram tomadas a partir da região basal, que coincide com a porção superior das criptas, percorrendo-a longitudinalmente até seu ápice e as criptas, da sua base até a região de transição cripta-vilosidade.

As lâminas foram confeccionadas no laboratório de histologia da FZEA/USP, em Pirassununga e as leituras foram feitas no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, com a utilização do Software Axio Vision 4.8.1 da ZEISS®.

O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso com seis repetições em esquema fatorial onde foram estudados três níveis de alfafa (0,0%; 5,0% e 10,0%) e duas concentrações de FOS (0,0% e 0,3%). Os graus de liberdade referentes aos níveis de alfafa foram desdobrados nos seguintes contrastes: (1) = controle X demais e (2) = Alfafa 5% X Alfafa 10%. Para a análise de variância foi utilizada o procedimento GLM do Sistema SAS (Statistical Analysis System), SAS Institute (2001), sendo o nível de significância adotado para a análise de variância de 5%. Para as variáveis Prof. Crip. e Alt. Vilo as estatísticas foram referentes a dados transformados para log de X e para a variável Alt. Vilo/Prof. Crip. as estatísticas foram referentes a dados transformados para raiz de X.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A *Salmonella* spp. não foi detectada nas culturas microbiológicas, portanto não foram realizadas análises estatísticas.

Não foram observadas diferenças estatísticas ($P < 0,05$) entre os níveis de FOS e os níveis de alfafa para o número de coliformes totais e fecais (Tabela 4). Por outro lado, BUDIÑO *et al.* (2006) observaram que a inclusão de prebiótico (FOS) e simbiótico, em dietas de leitões desmamados, dos 21 aos 35 dias de idade, preveniu a colonização de coliformes no jejuno. Segundo os autores, estes aditivos inibiram o crescimento destas bactérias patogênicas e estimularam a absorção de nutrientes, o que não foi observado no presente estudo, uma vez que a contagem de coliformes totais e fecais não foi alterada ($P < 0,05$).

As contagens de coliformes, aos 59 dias de idade, estão de acordo com os achados de UTIYAMA *et al.* (2006), que não observaram influência na contagem de coliformes com o uso de probióticos e prebióticos em dietas de leitões. Resultados semelhantes também foram verificados por WHITE *et al.* (2002) onde relataram que o uso de prebióticos em dietas de leitões não melhorou a microbiota intestinal quanto aos coliformes totais, *Escherichia coli*, lactobacilos, *Bifidobacterium* spp. e *Clostridium perfringens*. Da mesma forma POSSAMAI (2010) não observou diferenças significativas ($P > 0,05$) na contagem de bactérias

Tabela 4. Médias e erros padrão das médias para número de coliformes totais e fecais no duodeno de leitões alimentados com três níveis de inclusão de feno de alfafa (0,0%, 5,0% e 10,0%) e dois níveis de FOS (0,0% e 0,3%)

FOS	Alfafa			Média	Contraste	
	0,0%	5,0%	10,0%		(1)	(2)
	Coliformes Totais*					
0,0%	213,57±206,16	591,00±206,16	412,40±206,16	405,65±119,02		
0,3%	264,00±206,16	241,23±206,16	564,10±206,16	356,44±119,02		
Média	238,78±145,77	416,12±145,77	488,25±145,77		ns	ns
	Coliformes Fecais					
0,0%	213,57±197,75	591,00±197,75	277,23±197,75	360,60±114,17		
0,3%	235,67±197,75	241,23±197,75	564,10±197,75	347,00±114,17		
Média	224,62±139,83	416,12±139,83	420,67±139,83		ns	ns

* Dados transformados para Log X.

ns – não significativo; (1) Controle X Demais; (2) Alfafa 5% X Alfafa 10%.

acidoláticas, coliformes e clostrídios na fezes de leitões desmamados alimentados com dietas contendo dois níveis de probiótico (0,30% e 0,60%) e três níveis de inulina (0,00%, 0,25% e 0,50%).

Apesar de não ter havido diferenças ($P>0,05$) em relação à quantidade de coliformes totais e fecais, em relação ao uso do feno de alfafa, alguns autores observaram efeitos do uso de fibras alimentares em outras espécies de animais não-ruminantes (WALLACE *et al.*, 1989; DE BLAS, 1992; SHAKOURI *et al.* 2006).

SHAKOURI *et al.* (2006), avaliaram o efeito de polissacarídeo não amiláceo (PNA) sobre a microflora intestinal de frangos de corte e concluíram que a mudança na composição da dieta, por incluir diferentes PNA, modificou a população microbiana de todo intestino, em que a pectina aumentou o número total de microrganismos anaeróbicos no duodeno, enquan-

to que a corboximetil celulose resultou em um aumento de número de Enterobacteriaceae no ceco. Além disso, os autores verificaram que, em relação a dieta controle (sem PNA), o uso de PNA diminuiu o número de bactérias lácticas em todo segmento do intestino.

Estudos com nutrição de coelhos demonstraram que dietas altamente fibrosas (21%FB), com alta proporção de amido de trigo (30%), aumentam significativamente o pH no ceco, provocando decréscimo significativo das concentrações de AGV, propiciando as condições para promover proliferação de *E. coli* (WALLACE *et al.*, 1989 e DE BLAS, 1992).

Na Tabela 5 são apresentadas as médias corrigidas e os erros padrão das médias para profundidade de criptas, altura de vilosidades e a relação entre altura e profundidade.

Tabela 5. Médias corrigidas e erro padrão da média de profundidade de cripta (Prof. Crip.), altura de vilosidade (Alt. Vilo.) e a relação altura e profundidade (Alt. Vilo./Prof. Crip.) no duodeno de leitões alimentados com três níveis de inclusão de feno de alfafa (0,0%, 5,0% e 10,0%) e dois níveis de FOS (0,0% e 0,3%)

FOS	Alfafa			Média	Contraste	
	0,0%	5,0%	10,0%		(1)	(2)
	Prof. Crip., μm					
0,0%	233,55±24,07	233,55±24,07	206,61±24,07	224,69±13,90		
0,3%	222,09±24,07	251,89±24,07	235,24±24,07	236,40±13,90		
Média	227,98±17,02	242,72±17,02	220,92±17,02		ns	ns
	Alt. Vilo., μm					
0,0%	225,08±30,49	206,59±30,49 B	218,62±30,49	216,76±17,61		
0,3%	168,95±30,49	331,78±30,49 A	228,63±30,49	243,12±17,61	**	*
Média	197,01±21,56	269,18±21,56	223,62±21,56			
	Alt. Vilo./Prof. Crip					
0,0%	0,98±0,11	0,90±0,11 B	1,07±0,11	0,98±0,07		
0,3%	0,80±0,11	1,37±0,11 A	0,99±0,11	1,05±0,07	**	*
Média	0,89±0,08	1,13±0,08	1,03±0,08			

ns – não significativo; ** - significativo a 1%; * - significativo a 5%;

(1) Controle X Demais; (2) Alfafa 5% X Alfafa 10%.

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para profundidade de cripta entre os tratamentos. Já para altura de vilosidade e a relação altura de vilosidades/profundidade de criptas, o grupo sem a adição de FOS não mostrou diferença ($P > 0,05$), porém, o grupo suplementado com 0,3% de FOS mostrou uma melhora ($P < 0,05$) nos níveis de 5% e 10% de alfafa. O contraste mostra diferença ($P < 0,01$) para o Controle X Demais tratamentos e diferença ($P < 0,05$) para alfafa 5% X alfafa 10%, ambos nos tratamentos com inclusão de FOS. A ração com 5% de alfafa e 0,3% de FOS mostrou o melhor resultado dentre os tratamentos.

A atividade funcional do intestino parece estar diretamente relacionada com a presença do alimento no trato (KELLY *et al.*, 1991, MAKING *et al.*, 1994). Segundo CERA *et al.* (1988), a ingestão de ração tem influência maior na maturação do epitélio do intestino que a própria idade do animal.

SANCHES (2004) testando probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões, não observou efeito dos tratamentos e da idade após o desmame sobre altura de vilosidades, profundidade de criptas e relação vilosidade/cripta do duodeno e jejuno dos leitões.

EBERT *et al.* (2005), utilizaram a inclusão de diferentes grãos na dieta (grãos de arroz, milho ou farinha de trigo escura), não observaram efeito dos tratamentos sobre altura das vilosidades e profundidade das criptas, medidas nas porções de 25, 50 e 75% do intestino.

FERREIRA *et al.* (2005) observaram maior altura de vilosidades intestinais, em suínos no período total de criação alimentados com ração contendo cana-de-açúcar (15% de inclusão), em relação aos animais alimentados com ração sem cana-de-açúcar.

Observou-se no presente estudo que a presença do FOS em rações com níveis elevados de fibra dietética causou uma melhora nos parâmetros histológicos (altura das vilosidades e a relação altura de vilosidades/profundidade de criptas). GOMES *et al.* (2006) verificou que esta melhora é menos aparente na presença de ração contendo 10% de feno de tifton. Isto ocorre devido a inclusão de fibra na dieta ocasionar maior abrasividade nas paredes do intestino, fazendo com que haja aumento na descamação da mucosa.

Ainda segundo GOMES *et al.* (2006), quanto à altura das vilosidades e à profundidade das criptas do duodeno e jejuno médios, avaliadas aos 22 dias de idade em suínos na fase de creche, os resultados não registraram diferença entre os tratamentos. As fontes fibrosas que não são digeridas pelas enzimas do intestino delgado, quando presentes no trato intestinal, podem afetar diretamente as características físicas do conteúdo intestinal, e consequentemente a própria morfo-histologia dos órgãos envolvidos no processo digestivo.

Avaliando a inclusão de prebiótico (mananoligossacarídeo) na ração, KAMIMURA *et al.* (2006) observaram que o comprimento dos vilos do duodeno não apresentaram alterações, ao passo que a profundidade das criptas foi influenciada por este aditivo.

CONCLUSÃO

Não houve influência dos tratamentos sobre a contagem de *Salmonella* sp. e *E. Coli*. Em relação à morfologia intestinal os dados para altura das vilosidades e a relação altura de vilosidades/profundidade de criptas apresentaram os melhores resultados quando na presença de FOS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUDIÑO, F. E. L.; CASTRO JR, F. G.; OTSUK, I. P. Adição de frutoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados: desempenho, incidência de diarreia e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2187-2193, 2010.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R.; NADAI, A.; CORREIA, R. C. Efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarreia e contagem de coliformes totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43 sup., p. 59-67, 2006.

CERA, K.R.; MAHAM, D. C.; CROSS, R. F., REINHART, G. A., WHITMOYER, R.E. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 574-584, 1988.

De BLAS, J.C. The roles of fibre in rabbit nutrition. **Journal Applied of Rabbit Research**, v.15, p.1329-1343, 1992.

EBERT, A.R.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M. Desempenho e digestibilidade de leitões recém desmamados recebendo grãos de arroz, milho ou farinha de trigo escura.

- Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v. 13, p. 43-50, 2005.
- FERREIRA, R.A. et al. Desempenho de suínos alimentados com rações contendo cana-de-açúcar integral picada nas fases de crescimento e terminação. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ/UFG, 2005.
- GOMES, J. D. F.; HERNANDEZ BLAZQUEZ, F. J., FUKUSHIMA, R. S., UTIYAMA, C. E., OETTING, L. L., LIMA, G. J. M. M. de. Efeitos do incremento da fibra em detergente neutro na ração de suínos sobre a histologia de segmentos do trato intestinal. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, p. 210-219, 2006.
- KAMIMURA, R.; ARANTES, V. M.; BELETTI, M. E.; RIBEIRO, D. P.; SILVA, D. A. de O.; SILVA, N. M. da; CARVALHO JUNIOR, E. C. Efeitos de mananoligossacarídeo e colistina sobre a histomorfometria intestinal e níveis de IgA e IgG séricas em leitões. **Veterinária Notícias**, v. 12, p. 153-160, 2006.
- KELLY, D.; SMITH, J. A.; MACRAKEN, K. J. Digestive development of the early weaned pig. 2. Effect of level of food intake on digestive enzyme activity during the immediate post weaning period. **British Journal of Nutrition**, v. 65, p.181-188. 1991.
- MACARI, M. Aspectos fisiológicos do sistema digestivo das aves. SEMANA ACADÊMICA VETERINÁRIA ,8.,1998. São Paulo, 1998, **Anais...** São Paulo: [s. n.] 1998, p.4-18.
- MAKING, C.A. et al. Effect of dietary protein source on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly weaned piglets. **British Journal of Nutrition**, v.72, p.353-368, 1994.
- MATHEW, A.G.; SUTTON, A.L.; SCHEIDT, A.B. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science**, v.71, p. 1503-1509, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº. 3, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.14-16, 24 de janeiro de 2000, Seção I.
- Disponível em: <www.agricultura.gov.br/das/dipoa/Anexo%20Abate.htm>. Acesso em: 04 abr. 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirement of Swine**. 10th Ed. Washington: National Academic Science, 1998. 189 p.
- POSSAMAI, M. **Desempenho, metabolismo e microbiota intestinal de leitões alimentados com rações contendo probióticos e simbióticos**. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2000. 141p.
- SANCHES, A. L. **Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame**. 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2004.
- SANTOS, W. G. et al. Efeito da manose como prebiótico sobre a morfologia intestinal de leitões na fase de creche. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife, PE, 2002. **Anais...** Recife, PE: SBZ, 2002.
- SHAKOURI, M. D.; KERMANSHAHI, H.; MOHSENZADEH, M. Effect of different non starch polysaccharides in semi purified diets on performance and intestinal microflora of young broilers chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 6, p. 557 - 561, 2006.
- UTIYAMA, C.E. et al. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2359-2367, 2006.
- WALLACE, R.J., FALCONER, M.L., BHARGAVA, P.K. Toxicity of volatile fatty acids at rumen pH prevents enrichment of Escherichia coli by sorbitol in rumen contents. **Current Microbiology**, v.19, p.277-281, 1989.
- WHITE, L.A.; NEWMAN, M .C.; CROMWELL, G.L.; LINDEMANN, M.D. Brewers dried yeast as a source for manann oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.80, p. 2619-628, 2002.